

Project 505.4002

Ontwikkeling van chromatografische methoden van onderzoek voor de bepaling van koolhydraten in land- en tuinbouwprodukten.

Projectleider: R. Frankhuizen

Rapport 89.55

Oktober 1989

Literatuurstudie naar de bepaling van mono- en disacchariden en polyalcoholen met behulp van instrumentele analysemethoden.

J.J. van Oostrom

Afdeling Algemene Chemie

Goedgekeurd door: dr J. de Jong

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 08370 - 19110

Telex 75180 RIKIL

Telefax 08370 - 17717

Copyright 1989, Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten.

Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur
sectorhoofden
produktcoördinator dierlijke produkten
projectleider
afdeling Algemene Chemie (5x)
programmabeheer en informatieverzorging
circulatie
bibliotheek

EXTERN:

Dienst Landbouwkundig Onderzoek
Directie Wetenschap en Technologie
Directie Voedings- en Kwaliteitsaangelegenheden
Directie Akker- en Tuinbouw
Directie ATO-Agrotechnologie
Landbouwuniversiteit Wageningen, Vakgroep Tuinbouwplantenteelt,
mevr. A. van Gelderen
Consulentschap in Algemene Dienst voor de Kwaliteit en Bewaring in de
Akker- en Tuinbouw, ir M. Miedema
Agralin

ABSTRACT

Literatuurstudie naar de bepaling van mono- en disacchariden en polyalcoholen met behulp van instrumentele analysemethoden.

Determination of mono- and disaccharides and polyalcohols by means of instrumental methods, a literature survey (in Dutch).

Report 89.55 October 1989

J.J. van Oostrom

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT)
PO Box 230, 6700 AE Wageningen, The Netherlands.

1 table, 26 references

A literature survey has been made on the instrumental methods for the analysis of mono- and disaccharides and polyalcohols in agricultural products.

Nowadays HPLC is the most popular technique for this kind of investigations. Two different groups of columns are applied, viz. ion-exchange columns and amino modified columns.

The best way to detect the carbohydrates is refractive index detection, no derivatisation is necessary in contrast with UV, visible light or fluorescence detection.

Keywords: monosaccharides, disaccharides, polyalcohols, HPLC, GC.

()

()

INHOUD	<u>blz</u>
ABSTRACT	1
SAMENVATTING	5
1 INLEIDING	7
2 TECHNIEKEN	8
2.1 Spectroscopie	8
2.2 Electrochemie	8
2.3 Chromatografie	9
2.3.1 Gaschromatografie (GC)	9
2.3.2 Hoge druk vloeistofchromatografie (HPLC)	10
2.3.2.1 Scheiding	10
2.3.2.2 Detectie	13
3 EXTRACTIE	14
4 CONCLUSIES	15
LITERATUUR	16

()

()

SAMENVATTING

De huidige instrumentele methoden voor de bepaling van suikers onderscheiden zich in twee hoofdgroepen, gaschromatografie (GC) en hoge druk vloeistofchromatografie (HPLC). Daarnaast wordt minder frequent gebruik gemaakt van bepalingsmethoden zoals spectroscopie en electrochemie.

Spectroscopie is zeer beperkt toepasbaar en derhalve voor onze wensen niet bruikbaar. Electrochemie vereist specifieke kennis en apparatuur en wordt weinig toegepast.

Gaschromatografische methoden hebben het nadeel van een ingewikkelde en/of tijdrovende derivatisering.

HPLC met refractie index (RI) detectie wordt het meest toegepast. Twee typen kolommen worden gebruikt, de ionwisselingskolommen en de aminogemodificeerde kolommen. Vanwege de flexibiliteit kan de HPLC-techniek vrij eenvoudig voor specifieke analyses toepasbaar gemaakt worden; daarom lijkt HPLC ook voor onze wensen de beste oplossing. Het voordeel van RI detectie is dat derivatisering niet nodig is.

De extractie van suikers is eenvoudig; afhankelijk van de soort suiker(s) en de aard van het te extraheren produkt is in het algemeen een gerichte keuze mogelijk.

1 INLEIDING

De kwantitatieve analyse van mono- en disacchariden wordt binnen het RIKILT uitgevoerd met enzymatische en enkele "klassieke" bepalingmethoden. Deze laatste zijn in sommige gevallen wettelijk voorgeschreven (Warenwet). De analyse van polyalcoholen wordt tot op heden uitgevoerd door het laboratorium van het Ministerie van Financiën.

Enzymatische analysemethoden hebben, naast voordelen, ook nadelen. De specificiteit hangt af van de zuiverheid van de biochemische preparaten en er kunnen kruis- en/of sluipreacties optreden. Vaak worden grote verdunningen gemaakt zodat aan het pipetteren van de kleine hoeveelheden hoge nauwkeurigheidseisen worden gesteld en de enzymen zijn erg duur. Het grootste nadeel van enzymatische methoden is dat per analyse slechts één suiker kan worden bepaald. Bij de klassieke methoden worden daarentegen in het algemeen een groot aantal suikers tegelijk bepaald zonder dat hierbij onderscheid tussen de individuele suikers mogelijk is. Met behulp van chromatografische methoden (HPLC, GC) kunnen daarentegen in één analyse verschillende mono- en disacchariden bepaald worden.

De ontwikkelingen van de afgelopen jaren op het gebied van zowel HPLC- als GC-methoden voor het bepalen van mono- en disacchariden en polyalcoholen rechtvaardigen een omschakeling naar één van deze methoden. Deze omschakeling is noodzakelijk voor een snelle en goedkope bepaling van suikers en polyalcoholen in diverse land- en tuinbouwprodukten. Daarnaast krijgt het RIKILT steeds meer vragen met betrekking tot het koolhydraatmetabolisme tijdens groei, oogst, bewaring en verwerking van b.v. fruit, groenten en snijbloemen. Genoemde vragen kunnen met de huidige bij het RIKILT in gebruik zijnde analysemethoden niet of onvoldoende beantwoord worden.

Doel van dit onderzoek was het uitvoeren van een literatuurstudie naar de bepalingsmogelijkheden van mono- en disacchariden en polyalcoholen met behulp van instrumentele analysemethoden.

2 TECHNIEKEN

Voor de instrumentele bepaling van suikers kunnen drie verschillende groepen bepalingsmethoden worden onderscheiden:

- spectroscopie
- electrochemie
- chromatografie

2.1 Spectroscopie

Slechts één methode werd gevonden (Waffenschmidt e.a.), deze methode is voor monsters met één suiker erg snel en doeltreffend. Van de suiker wordt een gekleurde verbinding gemaakt met 2,2'-bicinchoninate waarna deze verbinding spectrofotometrisch wordt gemeten bij 540/560 nm. Een nadeel is dat van suikermengsels alleen het totaalsuikergehalte kan worden gemeten en niet de afzonderlijke componenten. Een ander nadeel is dat identificatie van onbekende suikers met deze methode niet mogelijk is. Als laatste nadeel kan nog worden opgemerkt dat niet-reducerende suikers met deze methode niet gemeten kunnen worden.

2.2 Electrochemie

Electrochemische bepalingsmethoden worden weinig toegepast bij de bepaling van koolhydraten. Waarschijnlijk is dit te wijten aan de onbekendheid met de techniek waardoor niet wordt overgegaan tot de verwerking van specifieke kennis en de aanschaf van de benodigde apparatuur. Een nadeel bij de electrochemische bepaling is dat koolhydraten, volgens Santos e.a., niet meetbaar zijn met commercieel verkrijgbare elektroden. Een oplossing hiervoor is de chemische modificatie van een carbon paste electrode met cobalt-phtalocyanine (Santos e.a.) of het gebruik van een alternatieve electrode zoals goud in alkalisch milieu (Neuburger e.a.).

Ook HPLC met electrochemische detectie wordt toegepast (Honda e.a.). In deze methode wordt gewerkt met pulsed amperometric detection (PAD) en goud en platina elektroden. Een nadeel is dat alleen reducerende suikers meetbaar zijn. Bij deze methode wordt gebruik gemaakt van

post-column derivatisering. Deze ingewikkelde derivatisering kan wellicht omzeild worden als bovenbeschreven chemische modificatie van de electrode wordt toegepast (Santos e.a.).

2.3 Chromatografie

De chromatografische methoden voor de bepaling van koolhydraten kunnen worden onderscheiden in:

- gaschromatografie (GC).
- hoge druk vloeistofchromatografie (HPLC).

Vooral de laatste jaren heeft de bepaling van suikers door middel van HPLC een hoge vlucht genomen en de GC methoden, behoudens specifieke toepassingen, vrijwel geheel verdrongen.

2.3.1 Gaschromatografie (GC)

Bij de GC meting van koolhydraten is een derivatisering vooraf noodzakelijk. Hierbij worden de suikers gederivatiseerd tot vluchtige ethers of esters die gaschromatografisch te scheiden zijn.

Voor de suikeranalyse lenen zich de methylethers, de trimethylsilyl ethers, de acetyl esters of de trifluoroacetyl esters (Sieghard). In de praktijk blijkt meestal silylering of acetylering gebruikt te worden. Acetylering wordt gebruikt om isomeren te scheiden en is dus voor structuuropheldering het aangewezen derivatiseringsreagens (Sieghard). Door Budgell e.a. wordt, voorafgaand aan de eigenlijke injectie, het monster verhit tot 650°C (pyrolyse) met name voor de identificatie van pentosen en hexosen.

Mono- en disacchariden zijn op een "home-made" capillaire kolom in enkelvoudige pieken te scheiden door silylering met TMS (Sieghard).

Ook gepakte kolommen worden nog gebruikt: op korte (60 cm) gepakte kolommen worden naast de mono- en disacchariden óók de tri-, tetra- en pentasacchariden gescheiden (Von Deifel).

Volgens Brunt is scheiding en kwantificering van oligosacchariden met GC niet mogelijk.

2.3.2 Hoge druk vloeistofchromatografie (HPLC)

2.3.2.1 Scheiding

Bij de scheiding van suikers kunnen twee typen kolommen onderscheiden worden, de ionenwisselaars en de amino gemodificeerde silica kolommen. Beide typen kolommen hebben voor- en nadelen en daardoor lijkt in de praktijk een wisselende voorkeur te bestaan. Volgens Meunier e.a. kunnen met ionwisselingskolommen nog steeds de meest efficiënte scheidingen van mono- en disacchariden worden verkregen. Volgens Brunt wordt voor mengsels van mono- en disacchariden vaker gebruik gemaakt van aminokolommen terwijl voor de scheiding van oligomeren met name gebruik wordt gemaakt van kationwisselaars.

Verzele e.a. spreken niet een uitgesproken voorkeur voor één van beide typen uit. De conclusie in dit artikel luidt o.a.: "The last word on carbohydrate and sugar LC, as far as the choice of the stationary phase is concerned, has clearly not been said yet."

Nicolov e.a. (1985^b) hebben een studie gepubliceerd over de bindingsmechanismen van suikers aan amino- en silicakolommen.

De kationwisselaarhars kolommen worden meestal in de Ca^{2+} -vorm gebruikt. De scheiding is afhankelijk van de temperatuur, de mate van verknoping van de hars en de aard van het tegenion aan de hars (Brunt). Hogere kolomtemperatuur (80-90°C) is noodzakelijk om opsplitsing van de pieken te voorkomen en ook de resolutie verbetert door temperatuur verhoging. Door toevoeging van triethylamine (TEA) aan het eluens kan de bij lagere temperatuur optredende piekverbreding worden voorkomen waarbij ook de retentietijden afnemen (Verzele).

Bij scheidingen op ionwisselaarhars speelt meestal ook gelpermeatie een rol, de mate van verknoping is hierop direct van invloed. Dit is ook de reden dat voor de scheiding van disacchariden deze kolommen niet bruikbaar zijn (Brunt).

Een volledige scheiding van de monosacchariden is met een Ca^{2+} kolom, volgens Brunt, niet te verwachten. Verbetering is te verwachten door het gebruik van Pb^{2+} maar hierbij doet zich het gevaar voor dat onoplosbare loodverbindingen worden gevormd op de kolom.

Een methode voor de meting van een aantal suikers in worst is ontwikkeld door Ali. De twee gebruikte ionenwisselaarshars kolommen werden zelf gemaakt, de scheiding tussen de componenten is slecht. Ook de vrij lange runs (ca 30 min) zijn niet aantrekkelijk.

Hughes e.a. gebruiken voor suikermetingen in kool een Sugar-PAK kolom van Waters (Ca^{2+}). De meting wordt uitgevoerd bij 77°C met 50 mg/l EDTA als eluens. Naast sucrose, glucose en fructose wordt óók mannitol gescheiden terwijl sorbitol als interne standaard wordt gebruikt. Ook Rosario e.a. meten, naast een aantal suikers, de polyalcoholen op een Sugar-PAK kolom.

Voor de scheiding van mannitol/sorbitol wordt door Mijnsbergen e.a. (1988^a) gebruik gemaakt van een Aminex HPX 87-C kolom, een ionwisselingskolom in de Ca^{2+} vorm met water als eluens. De metingen worden uitgevoerd bij 85°C . De scheiding tussen xylitol en sorbitol verloopt onder deze omstandigheden niet goed en ook de scheiding tussen saccharose en lactose lukt niet.

Met aminokolommen kunnen zowel de mono- als de disacchariden worden gescheiden (Brunt) terwijl ook scheiding van trisacchariden mogelijk moet zijn (Verzele e.a.). Meestal wordt gewerkt met een acetonitril/-water mengsel als eluens. De scheiding van maltose en lactose kan problemen geven; door in het eluens de acetonitril door aceton /ethylacetaat te vervangen wordt dit probleem opgelost (Verzele e.a.). De retentietijd van de diverse componenten is afhankelijk van het watergehalte in het eluens. Hoe meer water, hoe geringer de retentietijden; dit gaat echter ten koste van de resolutie zodat in de praktijk 20-25% water gebruikt wordt. Bij lage waterconcentratie in het eluens kan het meegeïnjecteerde water uit het monster van invloed zijn op de piekvorm, verlaging van het watergehalte in de monsteroplossing geeft doorgaans scherpere en dus beter gescheiden pieken (Brunt).

Een voordeel van aminokolommen is dat bij kamertemperatuur gewerkt kan worden. Volgens Brunt moet het werken bij verhoogde temperatuur zelfs zoveel mogelijk voorkomen worden in verband met vorming van Schiffse basen tussen reducerende suikers en de stationaire fase.

Er moet rekening gehouden worden met de slechte oplosbaarheid van oligosacchariden en polysacchariden in acetonitril-water waardoor kolomvervuiling/verstopping kan optreden (Brunt).

Door Gancedo e.a. wordt gebruik gemaakt van een kolom van Waters, de microbondapack carbohydraat. Dit is een aminokolom, de resultaten zijn echter niet bemoedigend. De methode is ontwikkeld voor meting van fructose en glucose in tomatensap maar de scheiding tussen deze twee suikers is slecht.

Een methode voor de meting van een groot aantal suikers is ontwikkeld door Mauch e.a. Zij gebruiken een LiChrosorb NH₂ kolom bij kamertemperatuur met als eluens een acetonitril-water mengsel. Voor de mono- en disacchariden is de verhouding acetonitril-water 70-30, voor hogere suikers wordt een gradiënt gebruikt.

Ook Nicolov e.a. (1985^a) bepalen een groot aantal verschillende suikers (ca 20) met een Zorbax NH₂ of een Supelcosil LC-NH₂ kolom met een acetonitril-water mengsel als eluens; niet alle combinaties worden echter goed gescheiden.

Picha ontwikkelde een methode voor suikermeting in rauwe en gebakken zoete aardappelen. Voor beide produkten gebruikt hij verschillende aminokolommen wat bijzonder onpraktisch is.

Van Den e.a. hebben zich eveneens beziggehouden met suikerbepalingen in zoete aardappelen. Zij maken, evenals Picha, gebruik van een Bio-Sil Amino 5S kolom bij kamertemperatuur met als eluens een acetonitril/water mengsel.

Naast deze beide groepen kolommen, de ionwisselingskolommen en de aminokolommen, wordt door enkelen van nog andere type kolommen gebruik gemaakt.

Door Muramoto e.a. wordt een reversed phase kolom gebruikt namelijk een Hypersil ODS 50 x 4.6 mm, extreem kort dus. Er wordt gewerkt bij 40°C met acetonitril/0.08M HAc als eluens.

Xylitol/sorbitol en saccharose/lactose mengsels worden gescheiden op een LiChrosorb-Diol kolom met als eluens acetonitril/water 90-10 (Mijsbergen e.a. 1988^{b,c}). Maltose stoort de bepaling van lactose zodat bij deze methode kritisch naar de te scheiden suikers en/of polyalcoholen moet worden gekeken (Mijsbergen e.a. 1988^b).

2.3.2.2 Detectie

Een probleem bij de HPLC detectie is dat suikers noch met zichtbaar licht noch met UV licht zijn te detecteren. Dit probleem is op te lossen door derivatisering (pre- of post-column) waarna detectie plaatsvindt via UV- of zichtbaar licht absorptie of fluorimetrische detectie. Eenvoudiger is echter de refractie index (RI) detectie van de ongederivatiseerde suikers; deze detectiemethode wordt dan ook meestal toegepast (Ali e.a., Gancedo e.a., Hughes e.a., Mauch e.a., Nikolov e.a. 1985^{a,b} en Picha).

Eén van de voordelen van de moderne RI detectoren is dat deze apparaten zijn voorzien van een goede thermostering, waardoor het gebruik van een nauwkeurige rondpompthermostaat niet meer noodzakelijk is. Een vroeger nadeel van de RI detectie, de ongevoeligheid, is met de nieuwere apparatuur vrijwel opgeheven. Ali meet met een Waters R401 concentraties van circa 0.2%, Mauch meet met een Knauer RI detector concentraties in de buurt van 0.04% en Brunt bereikt een detectiegrens van 0.0002 - 0.0004%.

Een algemeen nadeel van derivatisering is dat een waterbad met rondpompthermostaat nodig is om de derivatiseringsreactie te laten verlopen.

Door Muramoto e.a. wordt een pre-column derivatisering toegepast met fluorimetrische detectie. Voordeel van fluorimetrische detectie is de specificiteit, nadelen van deze methode zijn de lange spoeltijd tussen de runs (30 min) en de bewerkelijke procedure om reagentia te maken. Engelhardt e.a. maken gebruik van post-column derivatisering met zichtbaar licht detectie. De methode is ontwikkeld om wijnen te karakteriseren aan de hand van het suikerpatroon, slechts enkele suikers zijn meetbaar. Nadeel hierbij is het gebruik van agressieve reagentia zodat leidingen, mixer en flowcel uit speciaal materiaal vervaardigd moeten zijn. Daarnaast is de methode tamelijk bewerkelijk.

Veel minder bewerkelijk zonder het gebruik van agressieve reagentia is de methode van Femia e.a., ook een post-column derivatisering met detectie bij 410 nm. De methode is ontwikkeld voor suikermetingen in zuivelproducten, processed foods en tabak en is dus breed toepasbaar.

De meest opzienbarende detectie was die van Veening e.a., zij maken gebruik van een aangepaste vlam-ionisatiedetectie. Een bestaande detector is geschikt gemaakt voor deze speciale toepassing.

3 EXTRACTIE

Suikerextractie wordt meestal uitgevoerd met een ethanol/water mengsel of met puur water. Een nadeel bij extractie met ethanol kan zijn dat bij gebruik van ionwisselingskolommen en RI detectie enorme pieken in het chromatogram ontstaan (Hughes e.a., Picha).

De extractie is afhankelijk van de aard van de te onderzoeken producten.

De gebruikte extractie methoden zijn onderstaand in een tabel verzameld.

Tabel 1. Parameters voor de extractie van koolhydraten uit verschillende levensmiddelen.

ref.	ethanol%	water %	temp.(°C)	duur (min)	produkt(en)
Ali	0	100	20	10	worst
Deifel	0	100	20	--	honing
Van Den	70	30	100	30	zoete aardappel
Femia	0	100	20	10	zuivel, processed foods, tabak
Gancedo	80	20	80	60	tomatensap
Hughes	80	20	85	30	kool, zuurkool
Picha	80	20	100	15	zoete aardappel
Mijns- bergen	0	100	20/100	--/30	snoep, bakkers- waren, drop e.d.

-- = verdund of opgelost

4 CONCLUSIES

Voor de analyse van suikers worden veel technieken en methoden beschreven, die echter niet allemaal in de praktijk bruikbaar zijn. De beschreven spectroscopische methode is zeer beperkt toepasbaar, namelijk slechts dan als maar één bekende reducerende suiker moet worden bepaald. Deze methode komt dus niet in aanmerking voor onderzoek van mono- en disacchariden.

De electrochemische methoden zijn niet aantrekkelijk, omdat hiermee alleen reducerende suikers te meten zijn tenzij derivatisering wordt toegepast en vanwege de specifieke kennis die voor deze techniek nodig is die in veel laboratoria niet in voldoende mate aanwezig is.

Gaschromatografie is wél bruikbaar, met de juiste kolom en na derivatisering zijn suikers goed meetbaar. GC is ten opzichte van vloeistofchromatografie in het nadeel door de ingewikkelde en/of tijdrovende derivatisering.

Hoge druk vloeistofchromatografie is de meest toegepaste techniek, binnen deze techniek moet een keuze gemaakt worden voor wat betreft de te gebruiken kolom(men) en de te gebruiken detectietechniek.

De gebruikte kolommen kunnen we onderscheiden in twee hoofdtypen, de ionwisselingskolommen en de aminokolommen. Analytisch doen beide typen niet voor elkaar onder, praktisch lijken de aminokolommen bruikbaarder.

De veel toegepaste ionwisselingskolommen in de Ca^{2+} -vorm hebben als nadeel dat niet alle mono- en disacchariden volledig gescheiden worden. Dit kan verbeterd worden door toepassing van Pb^{2+} als tegenion, nadeel is dan de slechte oplosbaarheid van veel loodverbindingen zodat gemakkelijk neerslag op de kolom gevormd wordt.

Een ander nadeel van ionwisselingskolommen is de noodzakelijkheid om bij verhoogde temperatuur te werken (80 à 85°C), dit betekent een extra investering in apparatuur die bij gebruik van een aminokolom niet nodig is. Als laatste nadeel van ionwisselingskolommen moet genoemd worden dat verschillende scheidingsmechanismen verantwoordelijk zijn voor het uiteindelijke resultaat. Hierdoor wordt de piekvorm nadelig beïnvloed en is moeilijker te voorspellen wat het effect van wijzigingen in de eluenssamenstelling e.d. zal zijn.

Voor de scheiding van polyalcoholen is een ionwisselingskolom wel geschikt.

Op amino gemodificeerde kolommen worden de meeste mono- en disacchariden in het algemeen goed van elkaar gescheiden.

Drie verschillende manieren van detecteren worden toegepast, namelijk electrochemische, spectrofotometrische en refractie index detectie.

Voor de electrochemische detectie gelden dezelfde argumenten als voor de electrochemische suikeranalyse.

Spectrofotometrische detectie heeft als nadeel dat derivatisering noodzakelijk is. Derivatisering is niet aantrekkelijk, er is extra apparatuur voor nodig waardoor de opstelling ingewikkelder wordt met een verhoogde kans op storingen. Dit impliceert dat UV, VIS en fluorescentie detectiemethoden minder gebruikt worden.

De refractie index detectie wordt het meest toegepast. De moderne apparaten hebben, ten opzichte van vroegere typen, een grotere gevoeligheid.

De toe te passen extractie is afhankelijk van de aard van de suiker(s) en het produkt waaruit deze geëxtraheerd moet(en) worden. In het algemeen wordt geëxtraheerd met water of een ethanol-water mengsel, al dan niet onder verhoogde temperatuur.

LITERATUUR

Ali, M.S.

Simultaneous Determination of Dextrose, Sucrose, Maltose, and Lactose in Sausage Products by Liquid Chromatography.

J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71 (6), 1988, 1097-1100.

Brunt, K.

Chromatografie van koolhydraten (deel 3, slot) VLOEISTOFCHROMATOGRAPHIE.

Lab ABC, 9, 1988, 16-20.

Budgell, D.R.; Hayes, E.R.; Helleur, R.J.

Direct identification of pentoses and hexoses by pyrolysis/capillary gas chromatography.

Anal. Chimica Acta, 192, 1987, 243-253.

Deifel, A. Von

Gaschromatographische Bestimmung der Zucker im Honig.

Deutsche Lebensm.-Rundsch., 81 (7), 1985, 209-212.

Den, T. van; Biermann, C.J.; Marlett, J.A.

Simple Sugars, Oligosaccharides, and Starch Concentrations in Raw and Cooked Sweet Potato.

Journal of Agric. Food Chem., 34, 1986, 421-425.

Engelhardt, H.; Ohs, P.

Trace Analysis of Sugars by HPLC and Post-Column Derivatization.

Chromatographia, 23 (9), 1987, 657-662.

Femia, R.A.; Weinberger, R.

Determination of reducing and non-reducing carbohydrates in food products by liquid chromatography with post-column catalytic hydrolysis and derivatization.

Comparison with refractive index detection.

Journal of Chrom., 402, 1987, 127-134.

Gancedo, M.C.; Luh, B.S.

HPLC Analysis of Organic Acids and Sugars in Tomato Juice.

Journal of Food Sc., 51 (3), 1986, 571-573.

Honda, S.; Enami, K.; Konishi, T.; Suzuki, S.; Kakehi, K.

Use of ethylenediamine sulphate for post-column derivatization of reducing carbohydrates to electrochemically oxidizable compounds in high-performance liquid chromatography.

Journal of Chrom. 361, 1986, 321-329.

Hughes, A.; Lindsay, R.C.

Liquid Chromatographic Analysis of Sugars and Mannitol in Cabbage and Fermenting Sauerkraut.

Journal of Food Sc., 50, 1985, 1662-1667.

Mauch, W.; Gennrich, A.; Molnar, I.

Saccharidtrennung mittels Gradientenelution.

Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 185, 1987, 383-385.

Meunier, A.; Caude, M.; Rosset, R.

Séparation des sucres par chromatographie en phase liquide.

Analisis, 14 (8), 1986, 363-377.

Mijnsbergen, C.W.; Hamersveld, I.C.M. van.

De bepaling van polyalkoholen in eetwaren met behulp van HPLC.

De Ware(n)-Chemicus, 18, 1988, 141-147

Mijnsbergen, C.W.; Hamersveld, I.C.M. van.

De bepaling van saccharose en lactose in melk- en chocoladeproducten met behulp van HPLC.

De Ware(n)-Chemicus, 18, 1988, 148-153

Mijnsbergen, C.W.; Hamersveld, I.C.M. van.

De bepaling van xylitol en sorbitol in kauwgom met behulp van HPLC.

De Ware(n)-Chemicus, 18, 1988, 154-158

Muramoto, K.; Goto, R.; Kamiya, H.

Analysis of Reducing Sugars as Their Chromophoric Hydrazones by High-Performance Liquid Chromatography.

Anal. Biochemistry, 162, 1987, 435-442.

Neuburger, G.G.; Johnson, D.C.

Pulsed coulometric detection of carbohydrates at a constant detection potential at gold electrodes in alkaline media.

Anal. Chimica Acta, 192, 1987, 205-213.

Nicolov, Z.L.; Meagher, M.M.; Reilly, P.J.

High-performance liquid chromatography of disaccharides on amine-bonded silica columns.

Journal of Chrom., 319, 1985, 51-57.

Nicolov, Z.L.; Reilly, P.J.

Retention of carbohydrates on silica and amine-bonded silica stationary phases: application of the hydration model.

Journal of Chrom., 325, 1985, 287-293.

Picha, D.H.

HPLC Determination of Sugars in Raw and Baked Sweet Potatoes.

A Research Note.

Journal of Food Sc., 50, 1985, 1189-1190.

Rosario, E.J.; Bergonia, H.A.; Flavier, M.E.; Samonte, J.L.; Mendoza, E.M.T.

Chromatographic analysis of carbohydrates in coconut water.

Transact. of the Nat. Ac. of Sc. and Techn., 6, 1984, 127-151.

Santos, L.M.; Baldwin, R.P.

Liquid Chromatography/Electrochemical Detection of Carbohydrates at a Cobalt Phthalocyanine Containing Chemically Modified Electrode.

Anal. Chem., 59, 1987, 1766-1770.

Sieghard, A.

Separation of Mono- and Di-saccharide Derivatives by High-Resolution Gas Chromatography.

Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 173 (2), 1981, 109-112.

Veening, H.; Tock, P.P.H.; Kraak, J.C.; Poppe, H.

Microbore High-Performance liquid chromatography with a moving-wire flame ionization detector.

Journal of Chrom., 352, 1986, 345-350.

Verzele, M.; Simoens, G.; Damme, F. van.

A Critical Review of Some Liquid Chromatography Systems for the Separation of Sugars.

Chromatographia, 23 (4), 1987, 292-300.

Waffenschmidt, S.; Jaenicke, L.

Assay of Reducing Sugars in the Nanomole Range with 2,2'-Bicinchoninate.

Anal. Biochemistry, 165, 1987, 337-340.