






Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Evaporatif Işık Saçılım Dedektörü (HPLC-ELSD) Aracılığı ile Bazı Çiçeklerde Bulunan Glukoz, Fruktoz ve Sukroz'un Eş Zamanlı Olarak Miktarlarının Belirlenmesi

 Murat SOYSEVEN^{a,*},  Burcu SEZGİN^b,  Göksel ARLI^{a,c}

^a Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Yunus Emre Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, TÜRKİYE

^b Çevre Koruma Teknolojileri Bölümü, Eskişehir Meslek Yüksekokulu, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, TÜRKİYE

^c Analitik Kimya Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, TÜRKİYE

* Sorumlu yazarın e-posta adresi: msoyseven@anadolu.edu.tr

DOI: 10.29130/dubited.1082251

ÖZ

Çiçek özlerinin baskın bileşenleri arasında fruktoz, glikoz ve sukroz bulunur. Çeşitli canlılar için bu durum bitkilerle olan etkileşimde rol oynadığından şeker içeriklerinin belirlenmesi önem arz etmektedir. Sıvı kromatografisi gıda, ilaç ve ziraat gibi birçok alanda maddelerin şeker içeriklerinin belirlenmesinde sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Bu çalışmada Eskişehir bölgesinden toplanan 6 çiçek örneğinde bulunan şeker içerikleri HPLC-ELSD metodu ile tayin edilmiştir. Şekerlerin ayırımı Phenomenex Luna NH₂ (5 µm partikül boyutu, 250 mm x 4,6 µm çap, 100 Å) özelliklerine sahip HPLC kolonu ile gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırım ACN:Su (78:22, *h/h*) karışımına sahip mobil faz ile yapılmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 30 °C, enjeksiyon hacmi 10 µL, akış hızı 1,5 mL dk⁻¹ olarak ayarlanmıştır. Analizler 12 dakika içinde tamamlanmıştır. Buharlaştırma sıcaklığı 40 °C ve N₂ basıncı 350 kPa olarak belirlenmiştir. ELSD sisteminde gain ve filter değerleri sırasıyla 7 ve 10 olarak ayarlanmıştır. Bitki örneklerinden ekstre edilen şeker bileşikleri belirlenen koşullar altında birbirlerinden başarılı bir şekilde ayrılmıştır. Analizi yapılan bitki numunelerinin fruktoz, glukoz ve sukroz içerikleri belirlenmiştir. Lavanta örneğinde fruktoz, glukoz ve sukroz gözlemlenirken, hanımeli bitkisinde sadece glukoz tespit edilmiştir. Aynı türe ait gül örneklerinin farklı renklerinde farklı şeker içerikleri belirlenmiştir. Uygulanan HPLC-ELSD yönteminin başka bitki örneklerinde bulunan şeker miktarının belirlenmesinde kolaylıkla kullanılabilmesi söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Fruktoz, Glukoz, Sukroz, Çiçek, HPLC, ELSD

Simultaneous Quantification of Glucose, Fructose and Sucrose in various Flowers using High-Performance Liquid Chromatography-Evaporative Light Scattering Detector (HPLC-ELSD)

ABSTRACT

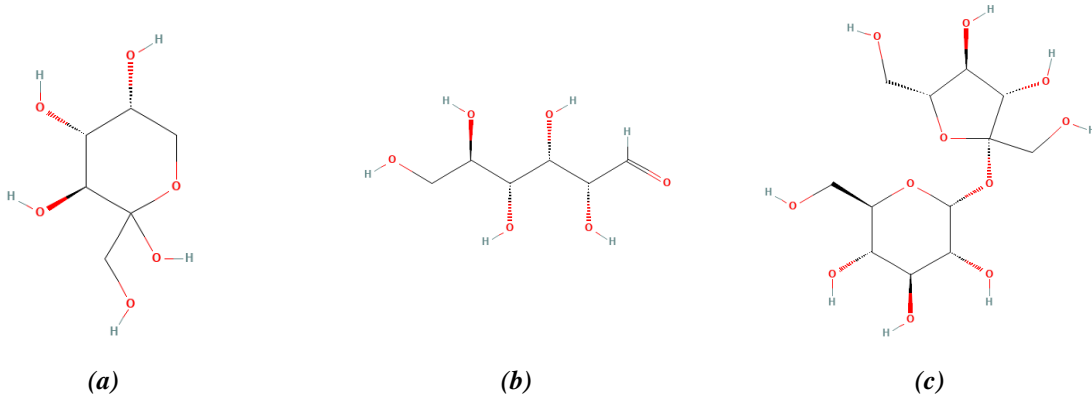
The predominant components of flower extracts include fructose, glucose and sucrose. Since this situation plays a role in the interaction with plants for various living things, it is important to determine the sugar content.

Liquid chromatography is a frequently preferred method in determining the sugar content of substances in many fields such as food, medicine and agriculture. In this study, sugar contents in 6 flower samples collected from Eskişehir region were determined by HPLC-ELSD method. Separation of sugars was carried out with an HPLC column with Phenomenex Luna NH₂ (5 µm particle size, 250 mm x 4.6 µm diameter, 100 Å). Chromatographic separation was performed with the mobile phase having a mixture of ACN:Water (78:22, v/v). Column temperature was set at 30°C, injection volume was 10 µL, flow rate was set as 1.5 mL min⁻¹. All analysis was completed within 12 min. Evaporation temperature was adjusted as 40°C and N₂ pressure was determined as 350 kPa. In the ELSD system, the gain and filter values were set to 7 and 10, respectively. Sugar compounds extracted from plant samples were successfully separated from each other under mentioned conditions. The sugar content of tested plant samples was determined. While fructose, glucose, and sucrose were all detected in the Lavender sample, only glucose was found in the Honeysuckle sample. Different sugar contents were determined in different colours of rose samples of the same species. The used HPLC-ELSD approach can be easily applied to other plant samples to assess the quantity of sugar present.

Keywords: Fructose, Glucose, Sucrose, Flower, HPLC, ELSD

I. GİRİŞ

Canlılar kendilerine enerji sağlamak için şekere ihtiyaç duyarlar ve çeşitli bitkileri bu amaçla kullanırlar. Özellikle arılar, böcekler ve kuşlar için bitkiler temel enerji kaynağıdır. Bitki özleri içeriğinin büyük bir kısmı Fruktoz (Fr), Glukoz (Gl) ve Sukroz (Sk) başta olmak üzere şekerler (mono- ve disakkaritler) ve sudan oluşmaktadır. Bitkilerin şeker içeriği çeşitli canlıların bu bitkilere yönelimi açısından belirleyici bir faktördür. Dolayısıyla çeşitli ürünlerin şeker içeriğinin belirlenmesi gıda endüstrisinde olduğu kadar zooloji ve botanik alanında da önemlidir. Özellikle bitki özleri içerisinde bulunan Fr, Gl ve Sk'un tayini ile ilgili çalışmalar ön plana çıkmaktadır [1]-[6]. Fr, Gl ve Sk'un molekül yapıları Şekil 1.'de gösterilmiştir [7]-[9].



Şekil 1. (a) Fruktoz molekül yapısı (b) Glukoz molekül yapısı (c) Sukroz molekül yapısı

Literatürde Fr, Gl ve Sk'un tayini ile ilgili olarak yüksek performanslı-sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemini içeren çeşitli dedektörlerle yapılmış çalışmalar yer almaktadır. Bunlar arasında Yüklü Aerosol Dedektörü (CAD) [10], Refraktif Index Dedektörü (RID) [11], Kütle Dedektörü (MS) [12]-[14], Ultraviyole Dedektörü (UV) [15] bulunmaktadır.

Evaporatif Işık Saçılım Dedektörü (ELSD), düşük sıcaklıklarda yüksek hassasiyete sahip olmasının yanı sıra, komplike olmayan örnek hazırlama işlemleri (katı faz ekstraksiyonu vb.) ve türevlendirme basamakları içermemesinden dolayı yukarıda belirtilen yöntemlere göre alternatif ve üstün bir metot olarak düşünülebilir. ELSD, mobil fazdan daha az uçucu olan çoğu bileşiği detekte edebilir. Ayrıca, bu tür bir dedektör mobil faz ve sıcaklık etkilerinden daha az etkilenerek yüksek hasssiyet ve sağlamlık gösterir. Bu açıdan HPLC-ELSD, bitkiler, yiyecekler ve içeceklerde bulunan karbonhidratların tayini

için iyi bir metot olarak düşünülebilir. Bunların yanı sıra, daha düşük maliyetli olması, pratik kullanımı, yüksek sağlamlığa sahip olması diğer üstünlükleri arasında gösterilebilir [1], [16]-[18].

ELSD, spektroskopik dedektörlere kıyasla, fiziksel veya kimyasal özelliklerinden bağımsız olarak çoğu analit için tek tip dedeksiyon hassasiyeti üretir. ELSD spektroskopik bir dedektör olmadığı için Lambert-Beer yasasına uymaz. Bu yüzden madde derişimi ile elde edilen pik alanı arasındaki ilişki doğrusal değildir. ELSD derişimden ziyade partikül büyüklüğü ile orantılı bir dedektör cevabı verir. Gözlenen pik alanı, kolon üzerindeki analitin miktarı ile bağlantılıdır (Eş. 1).

$$A = am^b \quad (1)$$

Burada 'A' kromatografik pikin alanı, 'm' analitin kütlesini, 'a' cevap faktörünü ve 'b' eğrinin eğiminden ölçülen cevap indeksini ifade eder. Ayrıca bu değerler HPLC-ELSD metodundaki mobil faz ve nebulizör gazının özellikleri, akış hızı, buharlaştırma sıcaklığına vb. bağlı olarak değişir. Pik alanlarına karşılık gelen analit derişimlerinin logaritmik değerleri doğrusal bir kalibrasyon eğrisi oluşturmak için kullanılır. İlgili ifadenin logaritması şeklinde doğrusal bir denklem oluşturur (Eş. 2) [19]- [24].

$$\log A = b \log m + \log a \quad (2)$$

Literatürde bitkilerde bulunan majör şeker miktarını HPLC-ELSD ile inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada hız, sağlamlık ve hassasiyet gibi üstünlüklere sahip bir HPLC-ELSD metodu Eskişehir bölgesinden toplanan Lavanta (*Lavandula intermedia*), Hanımeli (*Lonicera japonica*) ve kırmızı, pembe, beyaz renklere sahip Gül (*Rosa Laxa Retz.*) bitkilerine başarılı bir şekilde uygulanarak, bu bitkilerde bulunan Fr, Gl ve Sk miktarları belirlenmesi amaçlanmıştır.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

A. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Fr, Gl ve Sk'un referans standartları (>%99 analitik saflıkta) Sigma-Aldrich firmasından (Almanya), HPLC saflıkta bulunan su ve asetonyitril (ACN), Carlo-Erba'dan (Fransa) firmasından temin edildi. Analitik saflığa sahip azot gazı (N₂) kullanıldı. Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflık kalitesindeydi. Tüm referans, numune ve hareketli faz çözeltileri, 13 mm yarıçapa ve 0,22 µm gözenek boyutuna sahip poliviniliden florür (PVDF) şırınga filtrelerinden süzöldükten sonra HPLC sistemine enjeksiyonu gerçekleştirildi.

B. KULLANILAN CİHAZLAR

Tüm analizler, Shimadzu Nexera-i 2040C 3D ile birleştirilmiş ELSD LT-II Modeli (Tokyo, Japonya) evaporatif ışık saçılım dedektörüne sahip ikili pompa, bir gaz giderici, bir otomatik numune alıcı, sıcaklık ayarlı bir kolon bölmesinden oluşan sistem ile gerçekleştirildi. Tüm referans standartları ve bitki özü örnekleri LabCompanion CS-10 ultrasonik banyo (Seul, Kore) ile sonike işlemi gerçekleştirildi. Hazırlanan örnekler Heidolph Vortex (Schwabach, Almanya) ile karıştırıldı. Tüm tartım işlemleri için Ohaus (ABD) marka analitik tartım sistemi kullanıldı. HPLC-ELSD sistemi ile elde edilen verilerin işlenmesi LabSolution Shimadzu Corporation (Tokyo, Japonya) yazılımı ve MS Excel (Microsoft Corporation, ABD) aracılığı ile gerçekleştirildi.

C. KROMATOGRFİK KOŞULLAR

Kromatografik ayırım için önceki çalışmamızda geliştirilip valide edilen yöntem kullanıldı [25]. Majör şekerlerin HPLC ile ayırımı Phenomenex Luna NH₂ (5 µm partikül boyutu, 250 mm x 4,6 µm çap, 100 Å) özelliklerine sahip HPLC kolonu ile gerçekleştirildi. İzokratik elüsyon ACN:Su (78:22, h/h)

karışımına sahip mobil faz ile yapıldı. Kolon fırını sıcaklığı 30 °C' ye ayarlandı ve enjeksiyon hacmi 10 µL olarak seçildi. Mobil faz, HPLC-ELSD sistemine 1,5 mL dk⁻¹ akış hızında gönderildi. Her analiz 12 dakika içinde tamamlandı. Buharlaştırma sıcaklığı 40 °C ve N₂ basıncı 350 kPa olarak belirlendi. ELSD sisteminde gain ve filter değerleri sırasıyla 7 ve 10 olarak ayarlandı. Uygulanan HPLC-ELSD koşulları Tablo 1.'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Uygulanan HPLC-ELSD koşulları

Parametere	Değer
Mobil faz	ACN:Su (78:22, h/h)
Akış hızı	1.5 mL dk ⁻¹
Kolon	NH ₂ (5 µm, 250 mm x 4,6 mm, 100 Å)
Enjeksiyon hacmi	10 µL
Kolon sıcaklığı	30 °C
Evaporasyon sıcaklığı	40 °C
N ₂ basıncı	350 kPa
Gain	7
Filter	10

D. STANDART VE ÖRNEK HAZIRLAMA

Kalibrasyon için Fr, Gl ve Sk'nin stok standart çözelti derişimleri 1 mg mL⁻¹ (1000 ppm) olacak şekilde HPLC saflıktaki su içinde hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltiler -20 °C'de saklandı. Çalışmada kullanılan tüm çözeltiler, mobil faz ile seyreltilerek günlük olarak hazırlandı. Tüm hesaplamalarda seyreltme faktörleri dikkate alındı. Analizden önce tüm standart çözeltiler 30 dk sonikasyona tabi tutuldu ve HPLC enjeksiyonundan önce PVDF şırınga filtresinden süzöldü. Standart çözeltiler, gün ışığından uzakta, +4 °C'de buzdolabında saklandı.

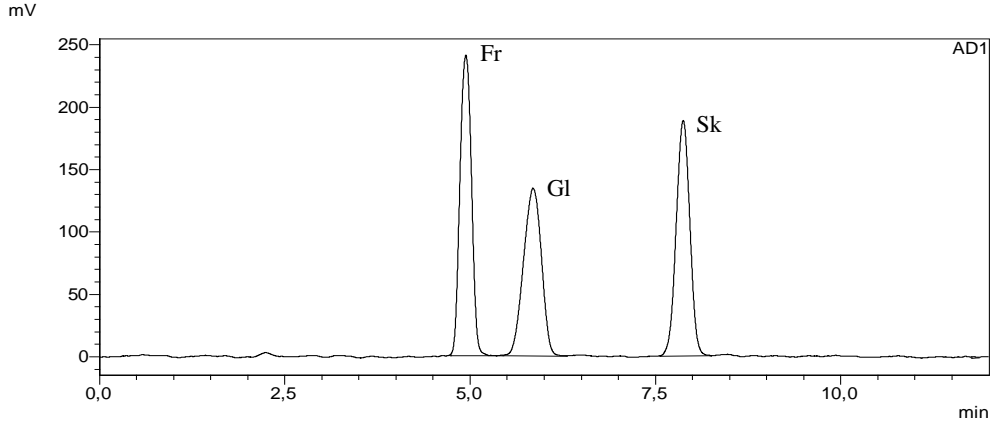
Eskişehir bölgesinden Lavanta (*Lavandula intermedia*), Hanımeli (*Lonicera Japonica*) ve kırmızı, pembe, beyaz renklere sahip Gül (*Rosa Laxa Retz.*) olmak üzere toplam 6 adet bitki numunesi toplandı. Literatürde suyun ekstraksiyon veriminin su/metanol ve su/etanol karışımlarına göre daha yüksek olduğu raporlandığından [26] ayrıca çevreci bir çözücü olduğundan bitkilerden Fr, Gl ve Sc'nin ekstraksiyonu için HPLC saflıktaki su tercih edildi. Bitki numunelerinin ilgili kısımları öğütöldü ve homojenize edildi. Her bitki numunesi 10 gr hassas bir şekilde tartılarak balon jøjeye aktarıldı ve 100 mL su ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Tüm bitki özleri 2 saat sonikasyona tabi tutulduktan sonra iyice karıştırılarak 1 gece boyunca 25 °C'de bekletildi. Elde edilen karışım PVDF ile filtre edildikten sonra süzölen kısım HPLC vialine aktarıldı.

E. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

HPLC-ELSD sistemi ile elde edilen verilerin işlenmesi LabSolution Shimadzu Corporation (Tokyo, Japonya) yazılımı aracılığı ile gerçekleştirildi. Tüm analizler üçer tekrarlı ($n=3$) olarak gerçekleştirildi ve ortalama değerler ± standart sapma verileri ile birlikte gösterildi. Verilerin istatistiksel analizleri için Microsoft Excel 2019 (Microsoft Corporation, ABD) programı kullanıldı.

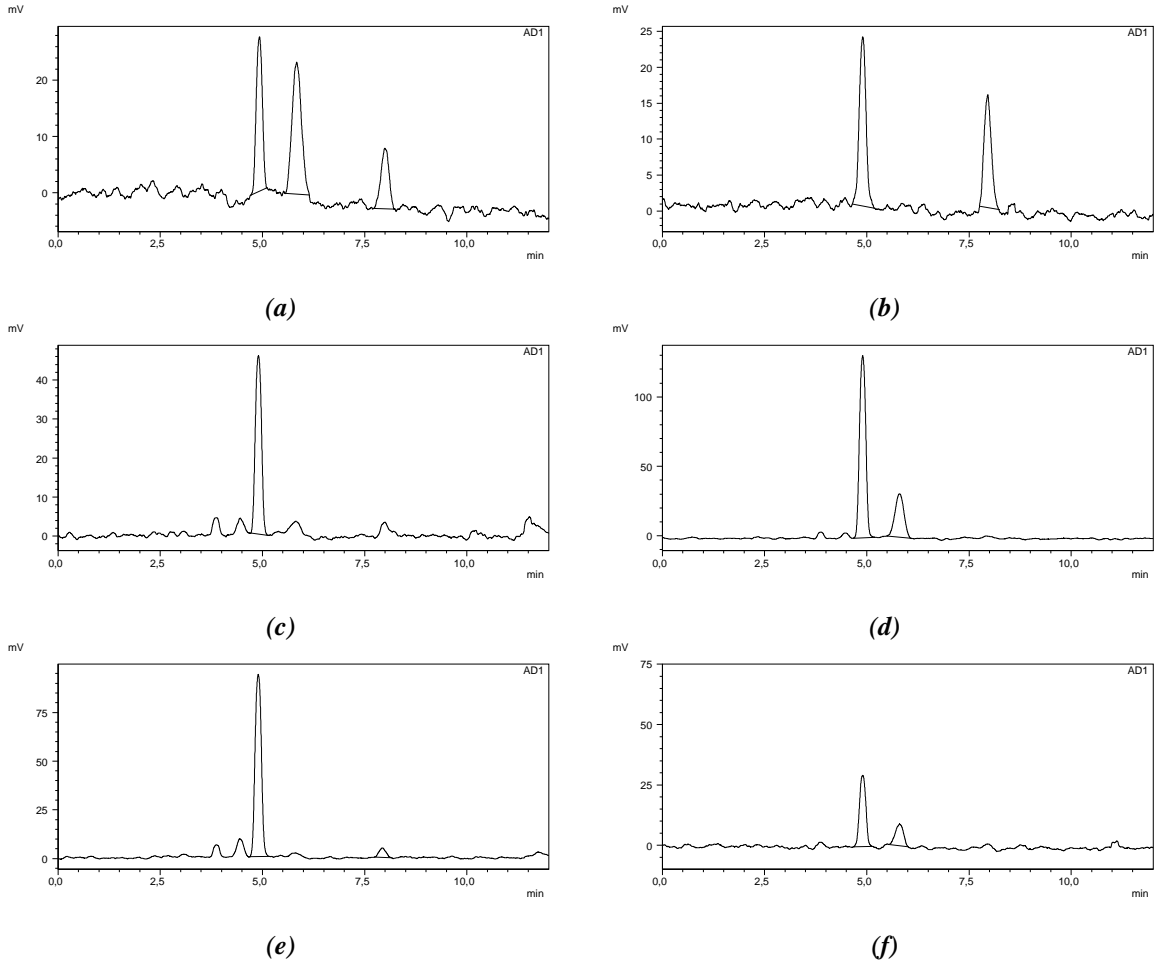
III. BULGULAR VE TARTIŞMA

400 µg mL⁻¹ Fr, Gl ve Sk derişimine sahip standart çözeltinin Tablo 1.'de belirtilen koşullar altında elde edilen HPLC kromatogramı Şekil 2.'de gösterilmiştir.



Şekil 2. HPLC-ELSD ile elde edilen $400 \mu\text{g mL}^{-1}$ derişime sahip Fruktöz, Glukoz ve Sukroz kromatogramı

Belirlenen optimum koşullar altında bitki örneklerine ait kromatogramlar Şekil 3.'de gösterilmiştir.



Şekil 3. HPLC-ELSD metodu ile bitki numunelerinden elde edilen kromatogramlar
 a) Lavanta b) Hanımeli c) Gül 1 d) Gül 2 e) Gül 3 ve f) Gül 4

Numunelere uygulanan HPLC-ELSD yöntemi ile elde edilen kromatogramlar incelendiğinde herhangi bir girişimin olmadığı gözlenmiştir. Analizi yapılan bitki numunelerinin Fr, Gl ve Sk içerikleri Tablo 2.'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Analizi yapılan bitki numunelerinin Fruktoz, Glukoz ve Sukroz içerikleri

No	Örnekler	Şeker içeriği [g/100 g ± SS ^a (n = 3)]		
		Fruktoz	Glukoz	Sukroz
1	Lavanta	0,49±0,06	0,82±0,05	0,24±0,04
2	Hanımeli	0,46±0,04	*b	0,44±0,08
3	Gül 1 (Kırmızı/Pembe)	0,89±0,02	*b	*b
4	Gül 2 (Pembe/Beyaz)	2,43±0,04	1,04±0,01	*b
5	Gül 3 (Beyaz)	1,91±0,08	*b	0,19±0,02
6	Gül 4 (Kırmızı)	0,64±0,04	0,31±0,01	*b

^aSS: Standard sapma ^b: Saptanmadı

HPLC-ELSD metodu 6 bitki numunesine uygulanmıştır. Şekil 3.'te görüleceği üzere ekstre edilen şeker bileşikleri belirlenen koşullar altında birbirlerinden başarılı bir şekilde ayrılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde Lavanta örneğinde Fr, Gl ve Sk gözlemlenirken, Hanımeline Gl gözlemlenmemiştir. Aynı türe ait gül örneklerinin farklı renklerinde farklı şeker içerikleri gözlenmiştir. Kırmızı/Pembe Gül içerisinde yalnızca Fr gözlenirken, Pembe/Beyaz ve Kırmızı Gül Sk gözlemlenmemiştir. Beyaz gülde ise Gl gözlemlenmemiştir.

IV. SONUC

Gıda, ziraat, sağlık ve kozmetik gibi birçok alanda bitkilerin içeriklerinin belirlenmesi önemlidir. Şekerler bitki özlerinde bulunan önemli bileşenlerdendir. Bu çalışmada, çeşitli bitki özlerinde bulunan Fr, Gl ve Sk içerikleri HPLC-ELSD metodu kullanılarak başarılı bir şekilde belirlenmiştir. Literatürde bitki özlerinin şeker içeriklerinin belirlenmesinde ELSD kullanılan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Uygulan yöntem türevlendirme veya diğer zaman alıcı işlemleri içermeyen numune hazırlama kolaylığı, hız, sağlamlık, yüksek doğruluk ve kesinlik gibi yönleriyle üstünlük göstermektedir. Analizi yapılan çiçek çeşitlerinde değişen miktar ve türlerde şeker bileşenleri tespit edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde Fr miktarının 0,46-2,43 g/100g, Gl miktarının 0,31-0,82 g/100g ve Sk miktarının ise 0,19-0,44 g/100g aralıklarında değiştiği saptanmıştır. Baskın majör şeker içeriğinin Fr olduğu gözlemlenmiştir. Kullanılan bu HPLC-ELSD yöntemi diğer bitki türlerinin şeker içeriğinin belirlenmesinde de kolaylıkla uygulanabilir.

TEŞEKKÜR: Bu çalışma Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2105S037).

V. KAYNAKLAR

- [1] D. N. Lindqvist, H. Æ. Pedersen, and L. H. Rasmussen, "A novel technique for determination of the fructose, glucose and sucrose distribution in nectar from orchids by HPLC-ELSD," *Journal of Chromatography B*, vol. 1081-1082, pp. 126-130, 2018.
- [2] B. A. Alghamdi, E. S. Alshumrani, M. S. B. Saeed, G. M. Rawas, N. T. Alharthi, M. N. Baeshen, N. M. Helmi, M. Z. Alam, and M. Suhail, "Analysis of sugar composition and pesticides using HPLC and GC-MS techniques in honey samples collected from Saudi Arabian markets," *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 27, no. 12, pp. 3720-3726, 2020.
- [3] Y. Lu, S. Guo, F. Zhang, H. Yan, D.-w. Qian, E.-x. Shang, H.-q. Wang, and J.-a. Duan, "Nutritional components characterization of Goji berries from different regions in China," *Journal of*

Pharmaceutical and Biomedical Analysis, vol. 195, pp. 113859, 2021.

[4] S. A. Corbet, "Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field," *Apidologie*, 34, no. 1, pp. 1-10, 2003.

[5] A. A. Madden, M. J. Epp, T. Fukami, R. E. Irwin, J. Sheppard, D. M. Sorger, & R. R. Dunn, "The ecology of insect–yeast relationships and its relevance to human industry," *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 285, no. 1875, 2018.

[6] L. Bestea, A. Réjaud, J. C. Sandoz, J. Carcaud, M. Giurfa, & M. G. de Brito Sanchez, "Peripheral taste detection in honey bees: What do taste receptors respond to?," *European Journal of Neuroscience*, vol. 54, no. 2, pp. 4417-4444, 2021.

[7] National Center for Biotechnology Information (2022, Feb 23). PubChem Compound Summary for CID 107526, D(+)-Glucose. [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/aldehydo-D-glucose>.

[8] National Center for Biotechnology Information (2022, Feb 23). PubChem Compound Summary for CID 2723872, D-Fructose. [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/fructose>.

[9] National Center for Biotechnology Information (2022, Feb 23). PubChem Compound Summary for CID 5988, Sucrose. [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sucrose>.

[10] M. Grembecka, A. Lebiedzińska, and P. Szefer, "Simultaneous separation and determination of erythritol, xylitol, sorbitol, mannitol, maltitol, fructose, glucose, sucrose and maltose in food products by high performance liquid chromatography coupled to charged aerosol detector," *Microchemical Journal*, vol. 117, pp. 77-82, 2014.

[11] I. Jalaludin, and J. Kim, "Comparison of ultraviolet and refractive index detections in the HPLC analysis of sugars," *Food Chemistry*, pp. 130514, 2021.

[12] A. A. Ghfar, S. M. Wabaidur, A. Y. B. H. Ahmed, Z. A. Alothman, M. R. Khan, and N. H. Al-Shaalan, "Simultaneous determination of monosaccharides and oligosaccharides in dates using liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry," *Food Chemistry*, vol. 176, pp. 487-492, 2015.

[13] X. Wu, W. Jiang, J. Lu, Y. Yu, and B. Wu, "Analysis of the monosaccharide composition of water-soluble polysaccharides from *Sargassum fusiforme* by high performance liquid chromatography/electrospray ionisation mass spectrometry," *Food Chemistry*, vol. 145, pp. 976-983, 2014.

[14] S. Sun, H. Wang, J. Xie, and Y. Su, "Simultaneous determination of rhamnose, xylitol, arabinose, fructose, glucose, inositol, sucrose, maltose in jujube (*Zizyphus jujube* Mill.) extract: comparison of HPLC–ELSD, LC–ESI–MS/MS and GC–MS," *Chemistry Central Journal*, vol. 10, no. 1, pp. 25, 2016.

[15] J. Dai, Y. Wu, S.-w. Chen, S. Zhu, H.-p. Yin, M. Wang, and J. Tang, "Sugar compositional determination of polysaccharides from *Dunaliella salina* by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone," *Carbohydrate Polymers*, vol. 82, no. 3, pp. 629-635, 2010.

[16] P. Shanmugavelan, S. Y. Kim, J. B. Kim, H. W. Kim, S. M. Cho, S. N. Kim, S. Y. Kim, Y. S. Cho, and H. R. Kim, "Evaluation of sugar content and composition in commonly consumed Korean

vegetables, fruits, cereals, seed plants, and leaves by HPLC-ELSD,” *Carbohydrate Research*, vol. 380, pp. 112-117, 2013.

[17] Y. Mousli, M. Brachet, J. L. Chain, and L. Ferey, “A rapid and quantitative reversed-phase HPLC-DAD/ELSD method for lipids involved in nanoparticle formulations,” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 115011, 2022.

[18] C. Ma, Z. Sun, C. Chen, L. Zhang and, S. Zhu, “Simultaneous separation and determination of fructose, sorbitol, glucose and sucrose in fruits by HPLC–ELSD,” *Food chemistry*, vol. 145, pp. 784-788, 2014.

[19] M. Lafosse, M. Dreux, and L. Morinallory, “Application Fields of A New Evaporative Light-Scattering Detector for High-Performance Liquid-Chromatography and Supercritical Fluid Chromatography,” *Journal of Chromatography*, vol. 404, no. 1, pp. 95-105, 1987.

[20] Y. Mengerink, H. De Man, and S. Van Der Wal, “Use of an evaporative light scattering detector in reversed-phase high-performance liquid chromatography of oligomeric surfactants,” *Journal of Chromatography A*, vol. 552, pp. 593-604, 1991.

[21] A. Zeng, X. Liu, S. Zhang, Y. Zheng, P. Huang, K. Du, and Q. Fu, “Determination of azithromycin in raw materials and pharmaceutical formulations by HPLC coupled with an evaporative light scattering detector,” *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 9, no. 2, pp. 107-116, 2014.

[22] K. Mojsiewicz-Pieńkowska, On the issue of characteristic evaporative light scattering detector response. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 39, no. 2, pp. 89-94, 2009.

[23] W. Yan, N. Wang, P. Zhang, J. Zhang, S. Wu, and Y. Zhu, “Simultaneous determination of sucralose and related compounds by high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection,” *Food Chemistry*, vol. 204, pp. 358-364, 2016.

[24] C. S. Young, and J. W. Dolan, “Success with evaporative light-scattering detection, part II: Tips and techniques,” *LC/GC North Am*, vol. 22, pp. 244-250, 2004.

[25] M. Soyseven, B. Sezgin, and G. Arli, “A novel, rapid and robust HPLC-ELSD method for simultaneous determination of fructose, glucose and sucrose in various food samples: Method development and validation,” *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 107, pp. 104400, 2022.

[26] N. Georgelis, K. Fencil, and C. M. Richael, “Validation of a rapid and sensitive HPLC/MS method for measuring sucrose, fructose and glucose in plant tissues,” *Food Chemistry*, vol. 262, pp. 191-198, 2018.