

# ИНСТРУКЦИЯ

**по применению Аналитического комплекта**

*Углеводы и сорбит в соках*

Настоящая Инструкция предназначена для описания условий и способов применения Аналитического комплекта в подготовке проб и хроматографическом определении углеводов и сорбита во фруктовых и овощных соках и напитках. В Инструкции также изложены рекомендации по работе с анализируемыми пробами, соблюдение которых повышает точность определения изучаемых компонентов.

Авторы предлагаемых в настоящей Инструкции методических подходов с радостью и огромным вниманием отнесутся к любым замечаниям и предложениям, относящимся к работе с Аналитическими комплектами.

## **1. Цель и назначение Аналитического комплекта *Углеводы и сорбит в соках***

### ***1.1. Цель выпуска комплекта***

Целью выпуска Аналитического комплекта является обеспечение массового контроля образцов фруктовых и овощных соков и сокосодержащих напитков в условиях сертификационных центров Госстандарта и ГСЭН РФ, а также аккредитованных испытательных лабораторий.

Диапазоны измеряемых массовых концентраций определяемых компонентов составляют:

- Для фруктозы, глюкозы и сахарозы – 1-100 г/л
- Для сорбита – 1-50 г/л

### ***1.2. Назначение комплекта***

Аналитический комплект *Углеводы и сорбит в соках* предназначен для проведения подготовки проб и количественного определения методом ВЭЖХ фруктозы, глюкозы, сахарозы и сорбита, содержание которых нормируется в СанПиН 2.3.2.1078-01 (Приложение 2, п. 2.2.).

### ***1.3. Особенности комплекта***

Традиционным в анализе моно-, дисахаридов и сахарных спиртов является разделение на ВЭЖХ-колонке и предколонке с сульфокатионитом в  $\text{Ca}^{++}$  форме при повышенных (80-90°C) температурах, требующее дорогостоящего хроматографического оборудования.

В Аналитическом комплекте *Углеводы и сорбит в соках* реализован способ изократического ВЭЖХ-анализа на аминофазной колонке при комнатной температуре фруктозы, глюкозы, сахарозы и сорбита в общей пробе сока. Это позволяет использовать простые и дешевые конфигурации жидкостных хроматографов с рефрактометрическим детектором.

Предлагаемый метод обладает следующими характерными особенностями:

- Подготовка (очистка) проб продуктов методом твердофазной экстракции на одноразовых патронах ДиаПАК-Амин (ЗАО “БиоХимМак СТ”) с предварительным центрифугированием консистентных образцов;
- ВЭЖХ-анализ углеводов и сорбита в изократическом режиме на аналитической колонке ДИАСФЕР-110-Аминодиол (ЗАО “БиоХимМак СТ”) с использованием любого жидкостного хроматографа, снабжённого рефрактометрическим детектором.

---

## II. Состав комплекта<sup>1</sup>

1. Концентрирующие патроны ДИАПАК-Амин (ТУ 4215-002-05451931-94) для пробоподготовки методом твердофазной экстракции 100 единичных проб - 100 шт.
2. Аналитическая ВЭЖХ-колонок ДИАСФЕР-110-Аминодиол (ТУ 4215-001-05451931-94),  $d_p= 5-7$  мкм, 250×4 мм - 1 шт.
3. Набор стандартных образцов (фруктоза, глюкоза, сахароза, сорбит) с содержанием основного вещества не менее 99 % по 0.5 г каждого.
4. Инструкция по применению Аналитического комплекта *Углеводы и сорбит в соках*.

## III. Порядок пробоподготовки

1. 10 мл осветленного сока, нектара или сокосодержащего напитка профильтровать через складчатый бумажный фильтр;
  - 10 мл консистентного образца процентрифугировать при 3-4 тыс. об/мин в течение 10-15 мин и отобрать осветленный супернатант;

---

<sup>1</sup> Примечание.

Общелабораторное оборудование и растворители в состав аналитического комплекта не входят.

- К 10 г концентрата сока добавить 10 г бидистиллированной воды, перемешать и профильтровать через складчатый бумажный фильтр;
- 2. Снять заглушки с патрона ДИАПАК-Амин;
- 3. 5 мл фильтрата или супернатанта пропустить через патрон при помощи шприца с наконечником типа “Луер” со скоростью 1-2 капли в секунду. Отбросив 1 мл элюата, собрать оставшийся объем (около 4 мл) очищенного продукта;
- 4. 2.5 мл подготовленного образца перенести при помощи пипетки на 5 мл в мерную колбу вместимостью 25 мл и довести объем раствора до метки смесью вода-ацетонитрил (16:84 об/частей).

## IV. Количественный анализ углеводов и сорбита

### 1. Приготовление элюента для хроматографического анализа

Приготовить смесь ацетонитрил-вода (80:20 об.долей), отмеряя растворители разными мерными цилиндрами, профильтровать смесь через мембранный фильтр с размером пор не более 0,5 мкм и дегазировать любым способом (*элюент*).

---

## 2. Подготовка хроматографической системы

Собрать систему, включающую:

- изократический хроматограф, снабженный ручным или автоматическим инжектором с петлей объемом 20 мкл;
- рефрактометрический детектор с характеристиками: *объем ячейки не более 10 мкл, уровень шума не более  $4 \times 10^{-8}$  ед. рефр.* Например, “Knauer”, модель Well Chrom K-2301 (Германия), Госреестр средств измерений РФ № 24632-03;
- ВЭЖХ-колонку ДиАСФЕР-110-Аминодиол.

Прокачивать *элюент* через хроматографическую систему со скоростью 1 мл/мин до стабилизации базовой линии рефрактометрического детектора.

## 3. Градуировка хроматографической системы

При градуировке хроматографической системы использовать рабочие растворы смеси фруктозы, глюкозы, сахарозы и сорбита с концентрациями в диапазоне 0.3-3.0 мг/мл.

Для приготовления рабочих растворов навески стандартных образцов (п. II) массой 0.3 г поместить в одну мерную колбу вместимостью 100 мл и довести объем до метки *элюентом* (концентрация 3 мг/мл каждого компонента). При последующих разведениях аликвот приготовленного раствора также использовать *элюент*.

Градуировку стабилизированной по п. IV.2 хроматографической системы осуществлять последовательным вводом рабочих растворов, начиная с раствора наименьшей концентрации, в объеме 20 мкл не менее 2 раз. После записи градуировочных хроматограмм провести математическую обработку с фиксацией площадей пиков и времен удерживания компонентов и построить градуировочные зависимости. Ориентировочные времена удерживания фруктозы, глюкозы, сахарозы и сорбита составляют 10, 13, 21 и 11.5 мин, соответственно.

#### 4. Количественный анализ образцов

Ввести в стабилизированную хроматографическую систему 20 мкл подготовленного по п. III образца не менее 2 раз. После записи хроматограммы идентифицировать по временам удерживания и определить площади пиков углеводов и сорбита. С использованием градуировочных зависимостей рассчитать массовую концентрацию компонентов в анализируемом образце и с учетом разведения (1:10-для соков и 1:20-для концентратов) – их массовую концентрацию в исходном продукте.

Разработал: \_\_\_\_\_ /Васяров Г.Г./

\_\_\_\_\_ /Алексеева Г.С./



“ “ \_\_\_\_\_ 2003 г.

Закрытое Акционерное Общество “**БиоХимМак СТ**”

Россия, 119899, Москва, Ленинские горы ,

МГУ им. М.В. Ломоносова

тел./факс (095) 939-59-67, 939-58-06 /офис/

939-36-66 /лаборатория/

[www.bcmst.ru](http://www.bcmst.ru)

Е-mail: [info@bcmst.ru](mailto:info@bcmst.ru)