

**ПОДБОР МЕТОДА ПРОБОПОДГОТОВКИ
И ИССЛЕДОВАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ
МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК
СТАНДАРТНЫХ ОБРАЗЦОВ ГЛЮКОЗЫ
В СУХОМ МОЛОКЕ**

А.Р. Захарова, Е.В. Хопрова, В.И. Добровольский

*ФГУП «ВНИИФТРИ», Менделеево, Московская обл., Россия,
zaharova_aklima@vniiftri.ru,
hoprova-elena@vniiftri.ru,
vid@vniiftri.ru*

Аннотация. Статья посвящена разработке стандартных образцов глюкозы в четырёх разных концентрациях в диапазоне 250–1000 мг/дм³ для контроля содержания глюкозы в молочных продуктах и продуктах детского питания на молочной основе.

Ключевые слова: глюкоза, сухое молоко, стабильность метрологических характеристик.

**SELECTION OF A SAMPLE PREPARATION METHOD
AND STUDY OF STABILITY OF METROLOGICAL
CHARACTERISTICS OF REFERENCE MATERIALS
OF GLUCOSE IN DRY MILK**

A.R. Zakharova, E.V. Khoprova, V.I. Dobrovolsky

*FSUE «VNIIFTRI», Mendeleevo, Moscow region, Russia,
zaharova_aklima@vniiftri.ru,
hoprova-elena@vniiftri.ru,
vid@vniiftri.ru*

Annotation. The article is devoted to the development of reference materials of glucose in four different concentrations in the range of 250–1000 mg/dm³ for the control of glucose content in dairy products and milk-based baby food products.

Key words: glucose, milk powder, stability of metrological characteristics.

В настоящее время для измерения количественного содержания глюкозы в молочной продукции широко используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) согласно ГОСТ Р 54760-2011 «Продукты молочные составные и продукты детского питания на молочной основе. Определение массовой концентрации моно- и дисахаридов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии» [1]. При реализации вышеуказанного метода изготавливаются стандартные растворы непосредственно в аналитических лабораториях, что может привести к большей погрешности измерений

при оценке соответствия продукции регламентированным требованиям. В связи с этим есть необходимость разработки стандартных образцов глюкозы в молочной матрице с целью метрологического обеспечения измерений содержания глюкозы в молочной продукции, что приведёт к повышению точности измерений и позволит оснастить стандартными образцами аналитические лаборатории, осуществляющие контроль молочной продукции. На территории Российской Федерации подобные стандартные образцы не производятся.

Целью работы является разработка стандартных образцов глюкозы в 4 разных концентрациях в диапазоне 250–1000 мг/л для контроля содержания глюкозы в молочных продуктах и продуктах детского питания на молочной основе [2].

Для достижения поставленной цели выполнялись теоретические исследования, направленные на проработку технологии изготовления стандартных образцов (СО) глюкозы в молочной матрице, и решались следующие практические задачи:

- подбор условий для проведения хроматографического анализа;
- разработка общей схемы пробоподготовки при анализе глюкозы в молочной матрице;
- установление зависимости условий хранения стандартных образцов на стабильность.

Определение веществ проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе с низкотемпературным испарительным детектором светорассеяния (ELSD), в колонке для разделения углеводов $250 \times 4,6$ с размером пор 5 мкм и с соответствующей предколонкой.

В результате экспериментального подбора в качестве подвижной фазы в изократическом режиме элюирования было определено объёмное соотношение растворителей: (ацетонитрил : вода) = (90 : 10). Необходимо, чтобы температура термостата колонки и температура испарительной трубки детектора была одинаковой, скорость потока элюента — 1 мл/мин, объём вводимой пробы — 50 мкл. Для сравнения результатов подбора условий на рис. 1 и 2 представлен пик глюкозы. На рис. 1 пик получился оптимальным для расчёта концентрации глюкозы. Несимметричный пик, не подходящий для анализа, представлен на рис. 2.

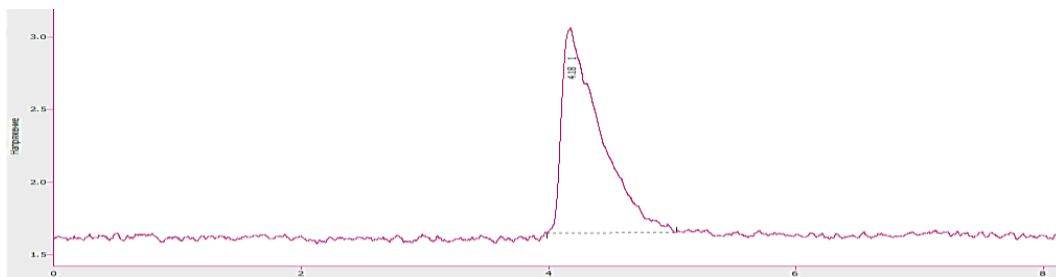


Рис. 1. Хроматограмма водного раствора глюкозы с правильно подобранными условиями хроматографирования

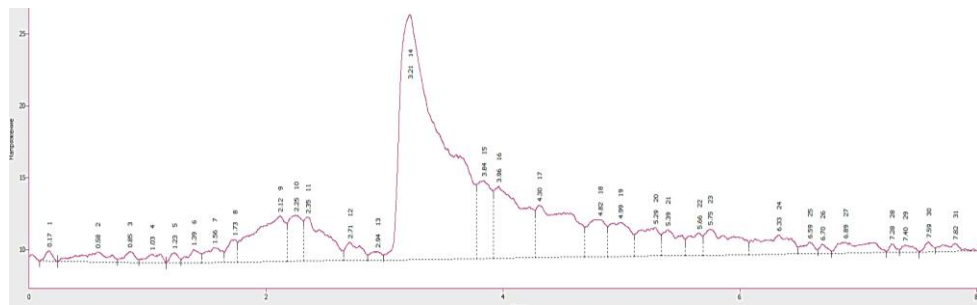


Рис. 2. Хроматограмма водного раствора глюкозы, когда условия хроматографирования подобраны неверно

Пищевая продукция, в нашем случае молоко, содержит большое количество органических компонентов, поэтому пробоподготовка перед вводом образца в жидкостной хроматограф играет важную роль. Основная цель — это очистка пробы от посторонних компонентов и выделение целевого вещества из пробы. Неочищенная должным образом проба может вывести из строя насосную систему хроматографа, засорить колонку и узлы жидкостной системы. Проба для ВЭЖХ-анализа должна быть прозрачная и без взвесей. А посторонние пики могут исказить пики целевого вещества и таким образом повлиять на точность определения глюкозы. Поэтому стояла задача подбора оптимального способа подготовки пробы для анализа стандартного образца глюкозы в молоке, учитывая имеющиеся возможности. Один из вариантов — это применение centrifугирования для очистки пробы от примесей, белков и жиров путём осаждения.

Общий вид пробоподготовки заключался в следующем (на примере стандартного образца глюкозы концентрацией 250 мг/дм³): сушка реактива глюкозы в муфельной печи до постоянной массы, взвешивание реактива глюкозы и сухого молока, перенос взвешенного в мерную колбу, растворение в тёплой бидистиллированной воде, перемешивание с помощью встряхивателя колб. Далее полученный раствор centrifугировали, осторожно отбирали надосадочную жидкость и переносили в виалы для дальнейшего анализа на хроматографе.

В ходе эксперимента был опробован ряд условий centrifугирования при малой, средней и высокой частотах вращения ротора. После анализа полученных образцов на хроматографе было установлено, что лучшие показатели достигаются при средней и высокой частотах, так как наблюдается минимальное количество примесей в молочной матрице образца. Также после centrifугирования при малых оборотах раствор получался мутным, что неприемлемо для анализа на ВЭЖХ.

Суммарная площадь пиков примесей составляет: 8,602 мВ·с; 6,450 мВ·с; 6,570 мВ·с — при малой, средней и высокой частотах вращения ротора соответственно.

Результаты анализов представлены на рис. 3–5.

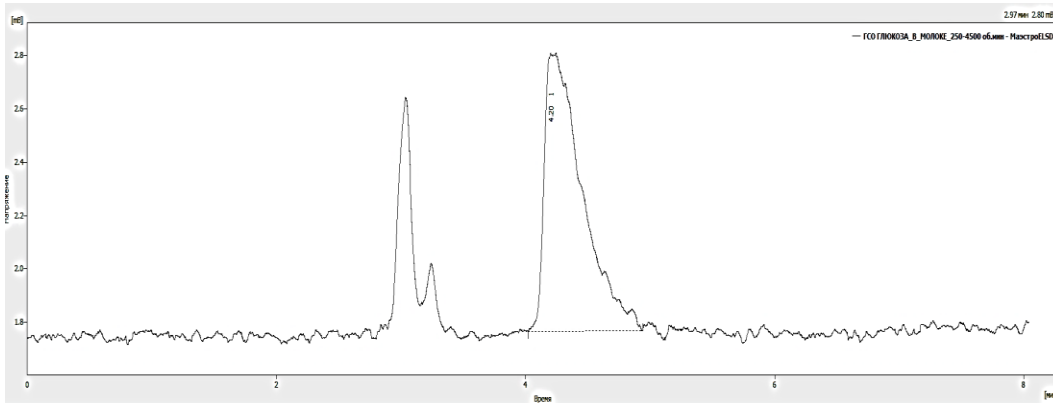


Рис. 3. Хроматограмма стандартного образца глюкозы в сухом молоке концентрацией 250 мг/дм³ после центрифугирования при малой частоте вращения ротора

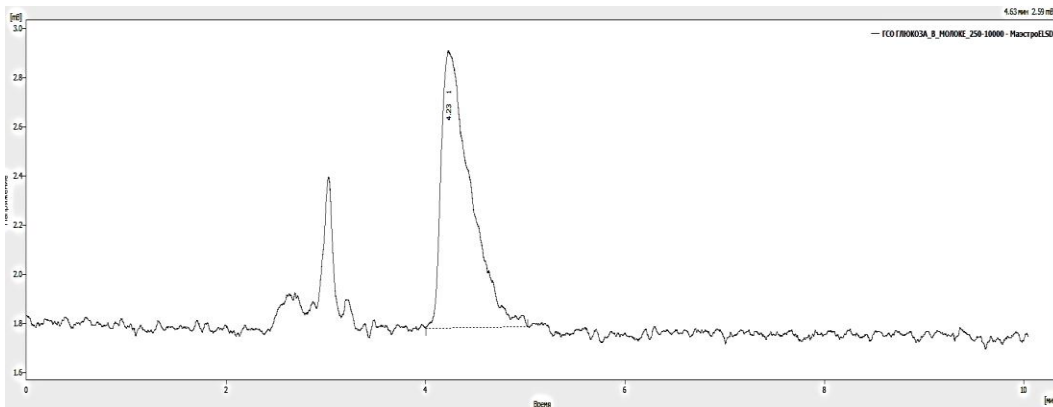


Рис. 4. Хроматограмма стандартного образца глюкозы в сухом молоке концентрацией 250 мг/дм³ после центрифугирования при средней частоте вращения ротора

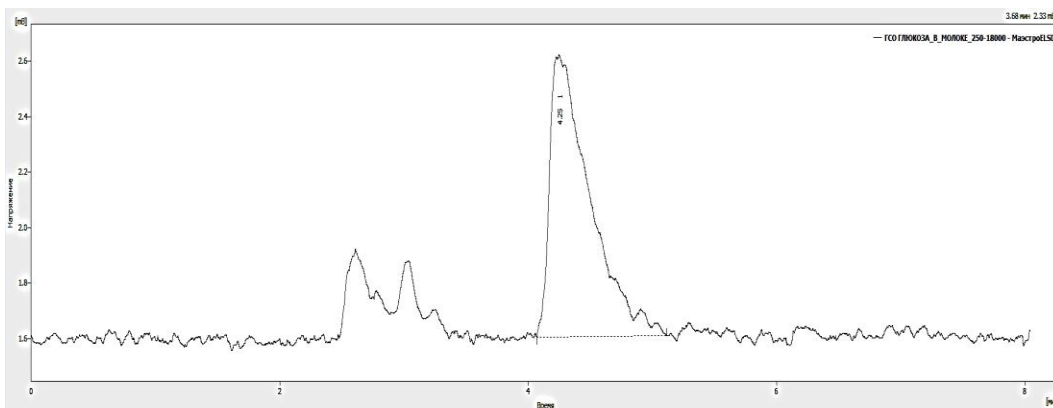


Рис. 5. Хроматограмма стандартного образца глюкозы в сухом молоке концентрацией 250 мг/дм³ после центрифугирования при высокой частоте вращения ротора

Матрицей стандартного образца является раствор, приготовленный из сухого обезжиренного молока. Стандартные образцы были приготовлены с использованием сухого молока пяти разных производителей, проведена пробоподготовка, описанная выше, а далее пробы были проанализированы на ВЭЖХ. Установлено, что молоко различных производителей на концентрации глюкозы не сказалось.

На данный момент проводятся исследования стабильности СО с целью установления срока годности, условий хранения стандартного образца. Для увеличения срока годности нужно учитывать природу факторов, влияющих на стабильность [3].

Так как СО включает в себя молочную матрицу, условия хранения предполагают низкие температуры. Был рассмотрен вариант заморозки образцов при минус 4 °С. Образцы были помещены в стеклянные флаконы вместимостью 10 см³, закупорены пробками и далее завальцованы металлическими колпачками. В данной форме планируется выпуск образцов.

Наблюдалось, что замороженный образец не расколол флакон. После размораживания пробу отправили на анализ и отметили, что концентрация глюкозы не изменилась, а концентрация примесей не значительно, но уменьшилась. Возможно, это обусловлено тем, что часть веществ в матрице перешли в нелетучую форму, которую ELSD-детектор не обнаруживает. Полученные хроматограммы для сравнения результатов до заморозки представлены на рис. 3–5; после заморозки — на рис. 6–8 и в таблице (на примере концентрации глюкозы 250 мг/дм³).

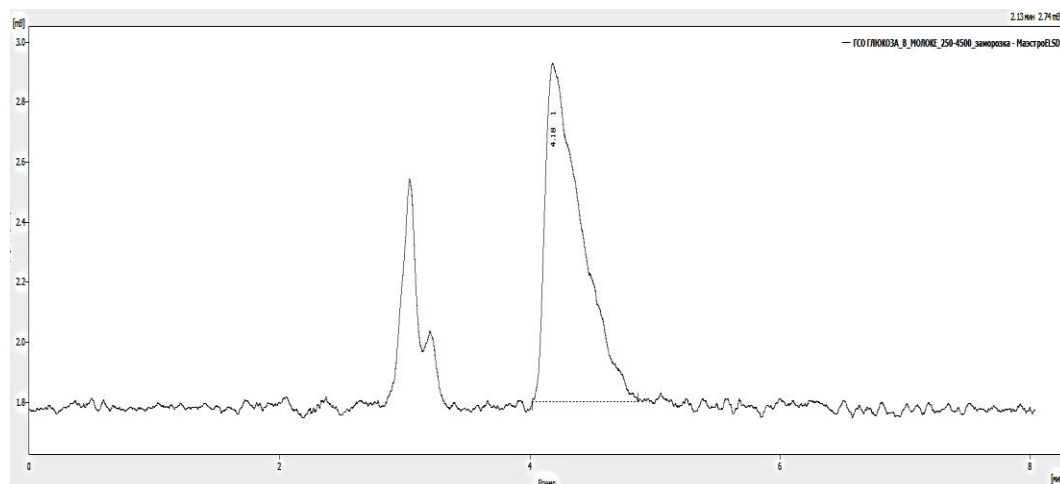


Рис. 6. Хроматограммы стандартного образца глюкозы в сухом молоке концентрацией 250 мг/дм³ при центрифугировании при малой частоте вращения ротора после заморозки

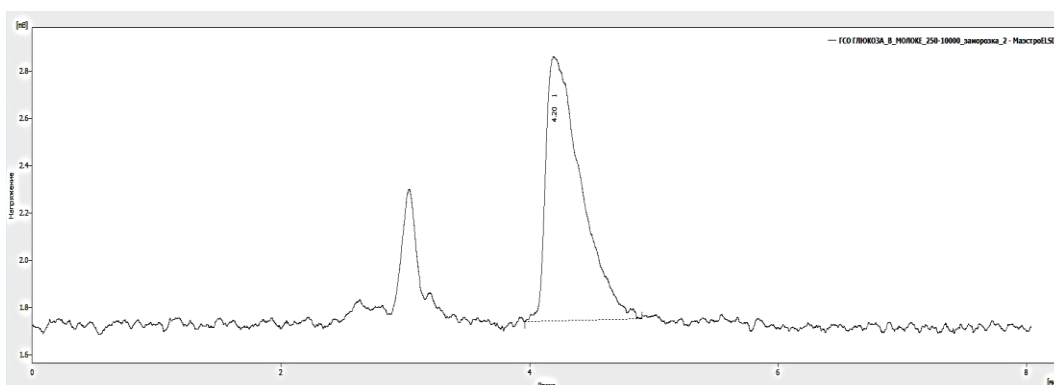


Рис. 7. Хроматограммы стандартного образца глюкозы в сухом молоке концентрацией 250 мг/дм³ при центрифугировании при средней частоте вращения ротора после заморозки

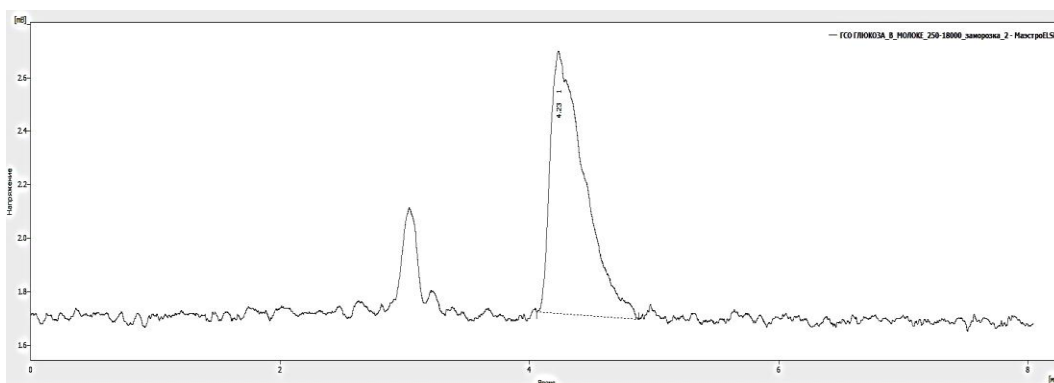


Рис. 8. Хроматограммы стандартного образца глюкозы в сухом молоке концентрацией 250 мг/дм³ при центрифугировании при высокой частоте вращения ротора после заморозки

Таблица

Количественные результаты исследования влияния низких температур на стандартный образец глюкозы

Концентрация, мг/дм ³	Частота вращения ротора при центрифугировании	Площадь пика глюкозы до заморозки, мВ·с	Среднее значение площадей пиков глюкозы после заморозки, мВ·с	Площадь пиков примесей до заморозки, мВ·с	Среднее значение площадей пиков примесей после заморозки, мВ·с
250	малая	22,116	22,893	8,602	5,454
250	средняя	23,142	23,371	6,450	3,688
250	высокая	23,161	23,174	6,570	2,352

Предполагаемый срок годности СО — 6 месяцев. Исследования стабильности стандартного образца ещё продолжаются, однако не исключаем, что замораживание образцов будет являться одним из приоритетных условий хранения.

Список литературы

1. ГОСТ Р 54760-2011. Продукты молочные составные и продукты детского питания на молочной основе. Определение массовой концентрации моно- и дисахаридов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. — М.: Стандартинформ, 2019.
2. ГОСТ 8.315-2019. Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Стандартные образцы состава и свойств веществ и материалов. Основные положения. — М.: Стандартинформ, 2019.
3. Р 50.2.031-2003 ГСИ. Стандартные образцы состава и свойств веществ и материалов. Методика оценивания характеристики стабильности. — М.: Издательство стандартов, 2004.

Статья поступила в редакцию: 06.09.2021 г.

Статья прошла рецензирование: 10.09.2021 г.

Статья принята в работу: 15.09.2021 г.