

## Stanovení laktosy v jogurtu

### Úprava vzorku

Dodaný vzorek jogurtu se promíchá a bez dalších úprav se naváží do čisté plastové centrifugační zkumavky (přibližně 0,5 g vzorku přesně). Navážený vzorek se rozmíchá s 1,5 ml destilované vody a deproteinuje přidávkem 4 ml ethanolu (denaturovaného 5 % methanolu) s rozpuštěným salicinem (2-(hydroxymethyl)phenyl- $\beta$ -D-glukopyranosid) jako vnitřním standardem. Při koncentraci salicinu 2,5 mg/ml odpovídá přídavek 20 mg na 1 g jogurtu, tj 2 % (m/m). Vzorek se důkladně promíchá, sonifikuje 10 min v ultrazvukové lázni a centrifuguje (6 min, 4400 ot/min). Z čirého supernatantu se odebere 100  $\mu$ l do čisté vialky a kapalina se odpaří mírným proudem dusíku při teplotě 50°C. K odparku se přidá 500  $\mu$ l roztoku hydroxylaminhydrochloridu v pyridinu (25 mg/ml), vialka se uzavře a inkubuje 30 min při 75°C. Po ochlazení se přidá 500  $\mu$ l hexamethyldisilazanu a 50  $\mu$ l kyseliny trifluoroctové. Vzorek se dále inkubuje 30 min při laboratorní teplotě, centrifuguje a supernatant se analyzuje plynovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickou detekcí.

### Parametry GC/MS metody

Nástřík: 1  $\mu$ l; teplota 300°C; dávkovací puls 140 kPa, 0,2 min; kolona HP-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m); 150°C – 2 min – 10°C/min – 320°C – 15 min; helium 0,9 ml/min; EI 70 eV, záznam spekter 29 – 800 m/z). Typický chromatogram je uveden na Obr. 1.

### Výpočet obsahu laktosy

Pro výpočet je možno použít odezvoových faktorů získaných analýzou standardů příslušných sacharidů a salicinu ( $f_{\text{lakt}}=1,13$ ;  $f_{\text{monosach}}=0,66$ ).

Obr. 1: Chromatogram odpovídající analýze vzorku jogurtu

