

СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ

Научная статья

УДК 543.635.2:543.242.3:543.544.5.068.7:543.94

<https://doi.org/10.20915/2077-1177-2022-18-2-35-56>



Разработка методик измерений для характеризации стандартных образцов углеводного состава молочных продуктов

О. С. Голынец , А. С. Сергеева , М. П. Крашенинина, О. С. Шохина 

УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева», г. Екатеринбург, Россия

✉ lab241@uniim.ru

Аннотация. Настоящая статья посвящена разработке методик измерений, использующих различные физико-химические методы для проведения всестороннего анализа углеводного состава пищевых систем. В основу первичной референтной методики измерений (ПРМИ) положен метод йодометрического титрования, основанный на способности йода в щелочной среде окислять альдосахара в соответствующие уруновые кислоты. Повышение точности ПРМИ достигнуто путем оптимизации параметров измерений, в том числе с привлечением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с рефрактометрическим детектированием (ВЭЖХ/РМД), и установления их возможных пределом варьирования на основе многофакторного эксперимента. Применение ПРМИ позволило проводить измерения массовой доли углеводов (общего сахара) в виде суммы массовых долей редуцирующих и нередуцирующих сахаров в молоке и молочных продуктах, продукции зерно-молочной, продуктах низколактозных и безлактозных, в частности, в детском питании. С целью дальнейшей детализации углеводного состава разработаны высокоселективные методики измерений массовых долей лактозы и галактозы спектрофотометрическим (ферментативным) методом и массовых долей моно- и дисахаридов методом ВЭЖХ/РМД в молоке и молочных продуктах. Выявлено, что результаты измерений как суммарного содержания углеводов, так и отдельных моно- и дисахаридов в пробах молока и молочных продуктов, полученные различными методами (йодометрическое титрование, ВЭЖХ/РМД, ферментативный метод, рефрактометрия, ИК-спектроскопия, расчетный метод), согласуются между собой с учетом заявленных неопределенностей. Таким образом, подтверждена применимость разработанной ПРМИ в комплексе с другими методами для проведения углубленного анализа углеводного состава молока и молочных продуктов. Разработанные методики были использованы для характеристики стандартных образцов состава молочных продуктов (3 типа), моно- и дисахаридов (9 типов).

Ключевые слова: первичная референтная методика измерений, стандартные образцы, молоко и молочные продукты, углеводы, редуцирующие сахара, нередуцирующие сахара, моносахариды, дисахариды, йодометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография, ферментативные методы

Используемые сокращения: ПРМИ – первичная референтная методика измерений; ВЭЖХ/РМД – высокоэффективная жидкостная хроматография с рефрактометрическим детектированием

Ссылка при цитировании: Разработка методик измерений для характеристики стандартных образцов углеводного состава молочных продуктов / О. С. Голынец [и др.] // Эталоны. Стандартные образцы. 2022. Т. 18, № 2. С. 35–56. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2022-18-2-35-56>

Статья поступила в редакцию 18.04.2022; одобрена после рецензирования 20.05.2022; принята к публикации 15.06.2022.

REFERENCE MATERIALS

Research Article

Development of Measurement Procedures for the Characterization of Reference Materials for Carbohydrate Composition of Dairy Products

Olga S. Golynets , Anna S. Sergeeva , Maria P. Krasheninina , Olga S. Shokhina 

UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleev Institute for Metrology (UNIIM–VNIIM), Yekaterinburg, Russia
✉ lab241@uniim.ru

Abstract. This article studies the development of measurement procedures based on various methods for a comprehensive analysis of the carbohydrate composition of food systems. The basis of the primary reference measurement procedure (PRMP) is the method of iodometric titration based on the ability of iodine to oxidize aldoses to the corresponding uronic acids in an alkaline medium. The accuracy of the PRMP was improved by optimizing the measurement parameters, including the method of high-performance liquid chromatography with refractometric detection (HPLC/RD), and by establishing their possible variation limit based on a multifactorial experiment. The application of the PRMP made it possible to measure the mass fraction of carbohydrates (total sugar) as the sum of the mass fractions of reducing and non-reducing sugars in milk and dairy products, grain and milk products, low-lactose and lactose-free products, including those used for preparing baby food. In order to further detail the carbohydrate composition, highly selective methods were developed for measuring the mass fractions of lactose and galactose by the spectrophotometric (enzymatic) method, and the mass fractions of mono- and disaccharides by the HPLC/RD method in milk and dairy products. It was found that the measurement results of both the total content of carbohydrates and individual mono- and disaccharides in the samples of milk and dairy products obtained by various methods (iodometric titration, HPLC/RD, enzymatic method, refractometry, IR spectroscopy, calculation method) are consistent with each other subject to the stated uncertainties. Thus, the applicability of the developed PRMP in combination with other methods for conducting an in-depth analysis of the carbohydrate composition of milk and dairy products was confirmed. The developed procedures were used to characterize reference materials for the composition of dairy products (3 types), mono- and disaccharides (9 types).

Keywords: primary reference measurement procedure, primary methods, reference materials, milk and dairy products, carbohydrates, reducing sugars, non-reducing sugars, monosaccharides, disaccharides, iodometry, high-performance liquid chromatography, enzymatic methods

Abbreviations used in the article: PRMP – primary reference measurement procedure; HPLC/RD – high-performance liquid chromatography with refractometry detection

For citation: Golynets O. S., Sergeeva A. S., Krasheninina M. P., Shokhina O. S. Development of measurement procedures for the characterization of reference materials for carbohydrate composition of dairy products. *Measurement Standards. Reference Materials*. 2022;18(2):35–56. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2022-18-2-35-56> (In Russ.).

The article was submitted 18.04.2022; approved after reviewing 20.05.2022; accepted for publication 15.06.2022.

Введение

Углеводы представляют собой многочисленный класс органических соединений, содержащих карбонильную группу и несколько гидроксильных групп и входящих в состав всех живых организмов. Они выполняют функцию источников и аккумуляторов энергии, выступают в качестве регуляторов ряда важнейших

биохимических реакций, входят в состав нуклеиновых кислот. Состав, молекулярная масса и свойства углеводов значительно различаются между собой. Различные продукты питания не могут быть охарактеризованы однозначным сочетанием и пропорциями индивидуальных сахаров, например: в молочных продуктах преобладает лактоза, в соковой продукции – фруктоза,

в хлебобулочной – преимущественно глюкоза, фруктоза, мальтоза. Кроме того, во многих продуктах присутствует сахароза как искусственно добавленный сахар. Особое внимание уделяется контролю углеводного состава пищевой продукции для диабетического, диетического лечебного или диетического профилактического питания. Информация об углеводном составе продуктов может быть также использована для выявления нарушения технологии изготовления пищевых продуктов [1, 2].

Широкая номенклатура углеводов и разнообразие их свойств обуславливает наличие более 50 стандартизованных методик их идентификации и количественного определения, основанных на различных физико-химических методах (рис. 1). Из них 18 методик измерений предназначены для определения содержания углеводов в молоке и молочных продуктах (табл. 1).

Как видно из рис. 1 и табл. 1, в Российской Федерации для определения содержания углеводов наиболее распространены титриметрические

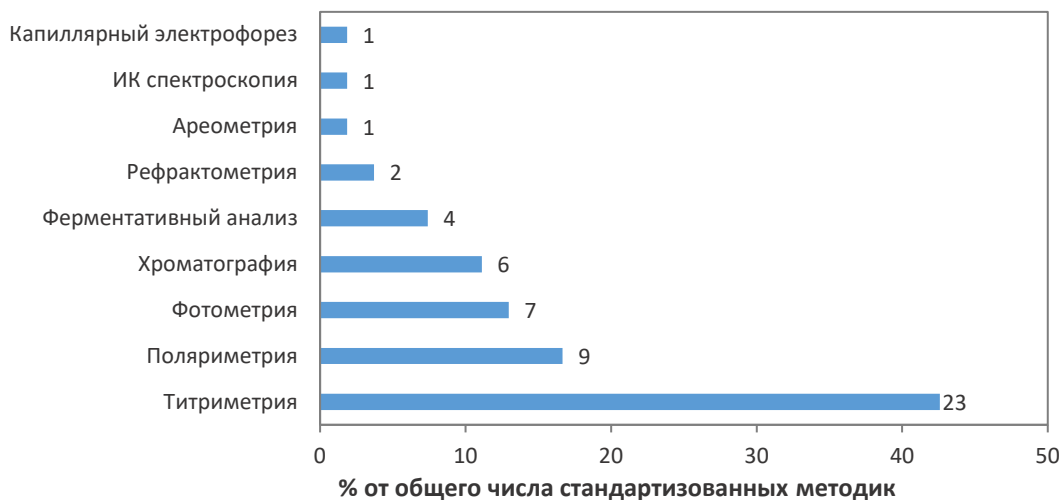


Рис. 1. Стандартизованные методики определения углеводного состава пищевых систем

Fig. 1. Standardized procedures for determining the carbohydrate composition of food systems

Таблица 1. Стандартизованные методики измерений содержания углеводов в молоке и молочных продуктах

Table 1. Standardized procedures for measuring carbohydrate content in milk and dairy products

Нормативный документ	Объект измерений	Метод измерений	Измеряемая величина
ГОСТ Р 51258–99	молоко и молочные продукты	ферментативный анализ	сахароза, глюкоза
ГОСТ Р 51469–99	казеины и казеинаты	фотометрия	лактоза
ГОСТ Р 54667–2011	молоко и продукты переработки молока	йодометрия, титрование по методу Бертрана, феррицианидный метод, поляриметрия	сахароза, общий сахар, лактоза
ГОСТ Р 54760–2011	продукты молочные составные и продукты детского питания на молочной основе	ВЭЖХ/РМД	сахароза, лактоза, галактоза, фруктоза
ГОСТ Р 55063–2012	сыры и сыры плавленые	поляриметрия	сахароза
ГОСТ Р 55361–2012	жир молочный, масло и паста масляная из коровьего молока	йодометрия	сахароза
ГОСТ 29248–91	консервы молочные	йодометрия	сахароза, лактоза

Окончание табл. 1
End of Table 1

Нормативный документ	Объект измерений	Метод измерений	Измеряемая величина
ГОСТ 30305.2–95	консервы молочные сгущенные и продукты молочные сухие	поляриметрия	сахароза
ГОСТ 30648.7–99	продукты молочные для детского питания	поляриметрия, йодометрия	сахароза
ГОСТ 32255–2013	молоко и молочные продукты	ИК-спектроскопия, поляриметрия	лактоза
ГОСТ 33527–2015	молочные и молочные составные продукты для детского питания	капиллярный электрофорез	фруктоза, глюкоза, лактоза, сахароза
ГОСТ 33957–2016	сыворотка молочная и напитки на ее основе	поляриметрия	лактоза
ГОСТ 34304–2017	молоко и молочные продукты	ферментативный анализ	лактоза, галактоза

и поляриметрические методы измерений. При этом среди титриметрических методик преобладает йодометрическое титрование. Перечисленные методы измерений имеют ряд преимуществ и недостатков. Титриметрические методики позволяют определить суммарное содержание углеводов (общего сахара) в виде суммы массовых долей редуцирующих и нередуцирующих сахаров без разделения на индивидуальные сахара [3]. Ферментативный анализ характеризуется высокой специфичностью, чувствительностью, достоверностью и воспроизводимостью результатов, простотой процедуры подготовки проб и измерений. В то же время, данные методы не являются универсальными, так как для каждого индивидуального сахара необходимо подбирать соответствующие ферменты, которые являются дорогостоящими и в ряде случаев труднодоступными [4]. Преимуществом хроматографических методов и капиллярного электрофореза является возможность идентификации углеводного состава продуктов с последующим количественным определением содержания индивидуальных сахаров [5]. Однако они требуют наличия высокочистых индивидуальных сахаров, подбора оптимальных условий хроматографирования и параметров колонок в каждом конкретном случае. К преимуществам рефрактометрии, поляриметрии, ареометрии, фотометрии относятся простота и быстрота анализа. Недостатками является необходимость построения градуировочных кривых, невозможность разделения смеси индивидуальных сахаров и, как следствие, ограничение области применения анализом

проб, имеющих в составе только один вид сахара [6, 7]. Метод ИК-спектроскопии, реализованный в экспрессных анализаторах состава продуктов, позволяет проводить одновременно количественную оценку различных показателей качества, в том числе, содержания индивидуальных сахаров: лактозы, глюкозы и фруктозы суммарно, сахарозы и глюкозы суммарно, сахарозы. Однако данный метод также требует построения градуировочных зависимостей путем набора статистических данных по измерениям большого количества образцов продуктов (обычно 40–90 образцов) с использованием референтных методов [8, 9].

Проведенный анализ измерений содержания углеводов в пищевых системах выявил следующие проблемы: 1) зависимость результата измерений от выбора условий проведения анализа и, как следствие, расхождение между результатами измерений, полученных с использованием разных методов; 2) необходимость доработки ряда стандартизованных методик в части включения новых объектов, исследования и оптимизации параметров измерений; 3) отсутствие сведений о систематической составляющей погрешности измерений; 4) отсутствие единой универсальной методики, пригодной для идентификации и количественного определения сахаров (как их общего содержания, так и отдельно каждого из них в смесях); 5) ограниченность номенклатуры стандартных образцов для установления градуировочной зависимости косвенных методов измерений и контроля точности получаемых результатов.

Таким образом, актуальной представляется разработка первичной референтной методики измерений (ПРМИ) для метрологического обеспечения измерений массовой доли углеводов в пищевых системах, а также исследование ее применимости в комплексе с другими методами для проведения всестороннего анализа углеводного состава на примере молочной продукции.

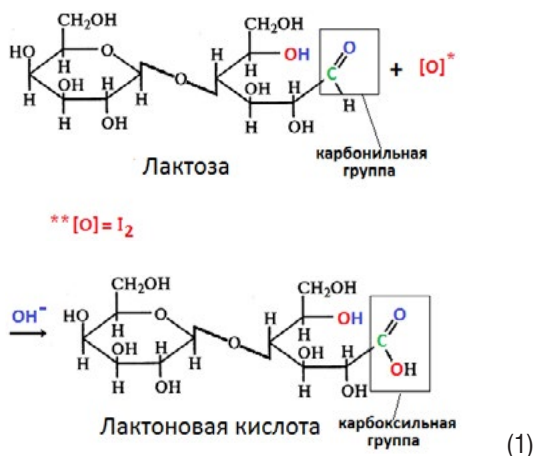
Материалы и методы

Метод йодометрического титрования. Основан на способности ряда углеводов (всех моносахаридов и некоторых дисахаридов – мальтоза, лактоза) проявлять редуцирующие (восстанавливающие) свойства в окислительно-восстановительных реакциях за счет наличия в их структуре свободной карбонильной группы, способной окисляться до карбоксильной группы. Процедуру анализа на примере проб молочных продуктов можно разбить на несколько этапов:

1. *Подготовка пробы* заключалась в осаждении белков и жиров путем добавления растворов сульфата меди и гидроксида натрия. Образующийся осадок, состоящий из денатурированных белков и омыленных жиров, удаляли путем фильтрования. Оставшийся фильтрат, представляющий собой раствор редуцирующих и нередуцирующих сахаров, разделяли на две части.

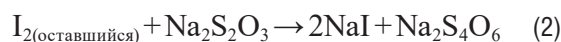
2. Определение содержания редуцирующих сахаров

В первую часть фильтрата добавляли избыток окислителя (йода) и раствор гидроксида натрия (для создания сильнощелочной среды). В результате происходило окисление редуцирующих сахаров в соответствии с реакцией:



Нередуцирующие сахара (в частности, сахароза) в реакцию окисления не вступали.

Оставшийся йод оттитровывали 0,1 н раствором тиосульфата натрия:

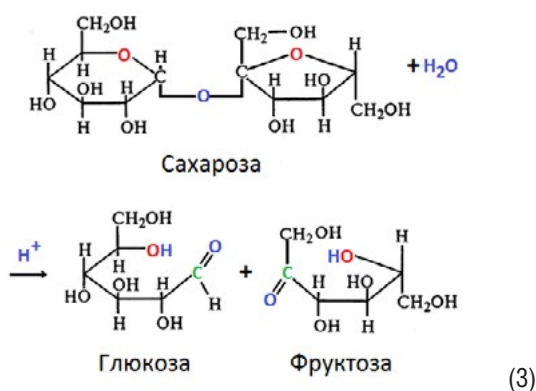


С целью нейтрализации раствора щелочи и создания сильноокислой реакции среды добавляли раствор соляной кислоты.

Титрование осуществляли на автоматическом титраторе Т5 фирмы «Mettler Toledo GmbH» (Швейцария, рег. № 65147–16) в комплекте с датчиком DMI 140-SC – комбинированный электрод с платиновым кольцом и керамической диафрагмой для окислительно-восстановительного титрования в водной среде. Стандартизацию титранта (тиосульфата натрия) осуществляли по стандартному образцу состава калия двуххромовокислого (бихромата калия) 1-го разряда ГСО 2215–81. Для контроля pH использовали pH-метр рВ-11 фирмы «Sartorius» (Германия, рег. № 23011–02).

3. Определение содержания общего сахара

Вторую часть фильтрата подвергали гидролизу (или инверсии), в результате которого редуцирующие и нередуцирующие олиго- и полисахариды разлагались с образованием моносахаридов:



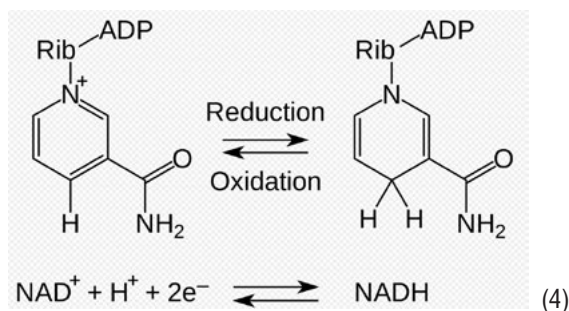
В гидролизат, содержащий моносахариды, добавляли избыток окислителя (йода). Оставшийся йод оттитровывали 0,1 н раствором тиосульфата натрия по реакции (2).

4. Определение содержания нередуцирующих сахаров

Рассчитывали по разности между результатами анализа, полученными на втором и третьем этапе.

Спектрофотометрический (ферментативный) метод. Метод определения содержания галактозы основан на окислении галактозы, содержащейся в освобожденном от жира и белка водном экстракте пробы молока или молочных продуктов, под действием никотинамидадениндинуклеотида (НАД+) в присутствии фермента б-галактозодегидрогеназы (ГДГ) и фотометрическом измерении массовой доли образовавшейся окисленной формы

никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) (уравнение 4) при длине волны 340 нм, эквивалентной массовой доле галактозы в пробе (свободная галактоза). Осаждение белков и жиров осуществляли с помощью растворов сульфата цинка и гексациано-(II)-феррата калия с последующим фильтрованием через сухой гофрированный фильтр.



Метод определения содержания лактозы основан на гидролизе лактозы, содержащейся в освобожденном от жира и белка водном экстракте пробы молока или молочных продуктов, в присутствии фермента β-галактозидазы (ГЗ) до глюкозы и галактозы, окислении имеющейся в пробе галактозы (свободная галактоза плюс образовавшаяся при гидролизе лактоза) под действием НАД⁺ в присутствии фермента ГДГ до галактоновой кислоты, фотометрическом измерении массовой доли образовавшегося НАДН при длине волны 340 нм, эквивалентной массовой доле галактозы, и расчете массовой доли лактозы по разности оптических плотностей данного раствора и раствора, используемого при определении свободной галактозы.

Определение оптической плотности осуществляли на спектрофотометре UV/VIS Excellence модели UV5 фирмы «Mettler-Toledo AG» (Швейцария, рег. № 64436–16). Для расчета количественного содержания сахаров использовали закон Бугера-Ламберта-Бера, определяющий ослабление параллельного монохроматического пучка света при распространении его в поглощающей среде.

Высокоэффективная жидкостная хроматография с рефрактометрическим детектированием (ВЭЖХ/РМД). Метод основан на разделении смеси углеводов в фильтрате, полученном после удаления жира и белка из пробы продукта, на хроматографической колонке в режиме изократического элюирования и их регистрации с помощью рефрактометрического детектора. Приготовление фильтрата проводили аналогично методу йодометрического титрования. Идентификацию углеводов осуществляли путем

сравнения хроматографических характеристик (времени удерживания) летучих производных исследуемых углеводов и соответствующих производных образцов сравнения. Количественное определение проводили по градуировочным характеристикам, построенным с использованием водных растворов индивидуальных моно- и дисахаридов с предварительно установленной массовой долей основного вещества.

Измерения выполняли с использованием хроматографа жидкостного лабораторного «Маэстро 14» (производитель – ООО «Интерлаб», Россия, рег. № 58826–14) в комплекте с рефрактометрическим детектором. Для измерений использовали колонку Hi-Plex Ca (Duo) (300×6,5 мм). Анализ проводили в изократическом режиме с элюентом в виде воды высокой степени чистоты, подготовленной с применением системы получения сверхчистой воды Arrium mini производства «Sartorius Lab Instruments GmbHs Co, KG» (Германия). Скорость потока элюента 0,3–0,4 мл/мин.; температура термостата колонки 80 °С; объем аликвоты 10 мкл.

Рефрактометрический метод. Основан на использовании установленной зависимости между концентрацией и показателем преломления водных растворов лактозы. Приготовление фильтрата проводили аналогично методу йодометрического титрования. Измерения показателя преломления выполняли с использованием плотномер-рефрактометра RM40 производства фирмы «Mettler-Toledo AG» (Швейцария, рег. № 44178–15).

ИК-спектроскопия. Основана на измерении интенсивностей оптического излучения, прошедшего через кювету с исследуемым образцом в ИК области спектра. Измерения выполняли с использованием анализаторов молока и молочных продуктов MIRA производства фирмы «Bruker Optik GmbH» (Германия, рег. № 79313–20) и MilkoScan FT3 производства фирмы «FOSS Analytical A/S» (Дания, рег. № 80513–20).

Расчетный метод. Массовая доля углеводов в пробе продукта рассчитывалась по разности «сто минус сумма массовых долей белка, жира, влаги и золы в пробе продукта» [10, 11]. Массовую долю белка определяли методом Кьельдаля на Государственном вторичном эталоне единиц массовой доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в твердых и жидких веществах и материалах на основе объемного титриметрического метода анализа ГВЭТ 176-1-2010 [12], массовую долю жира – методом Рэнделла в соответствии с ПРМИ массовой доли жира в пищевых продуктах и продовольственном сырье [13], массовую долю влаги – методом воздушно-тепловой сушки на Государственном первичном эталоне единиц массовой доли и массовой

(молярной) концентрации воды в твердых и жидких веществах и материалах ГЭТ 173–2017 [14], массовую долю золы – гравиметрическим методом в соответствии с ПРМИ массовой доли золы в пищевых продуктах и продовольственном сырье [15].

Все используемые средства измерений имели действующие свидетельства о поверке.

Результаты и их обсуждение

Разработка ПРМИ массовой доли углеводов в пищевых продуктах и продовольственном сырье

Выбор параметров измерений ПРМИ

Выбор метода йодометрического титрования для разработки ПРМИ обусловлен тем, что титриметрия, во-первых, относится к относительно-первичным методам анализа [16], во-вторых, указана в качестве арбитражного метода в стандартах на молочную продукцию, хлеб и хлебобулочную продукцию, сахар по ГОСТ Р 54667–2011, ГОСТ 5672–68, ГОСТ 12575–2001 соответственно. При создании ПРМИ основывались на режимах измерений, установленных в стандартизованных методиках, для которых с целью повышения точности проводили проверку, оптимизацию и установление возможных пределов их варьирования.

Массовую долю редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы, ω_1 , %, в испытуемой пробе вычисляли по формуле:

$$\omega_1 = \frac{C_{Na_2S_2O_3} \cdot (V_{Na_2S_2O_3, 0, \text{до инверсии}} - V_{Na_2S_2O_3, \text{до инверсии}}) \cdot \frac{M_{C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O}}{V_{м.к.}} \cdot 0,97}{10 \cdot m_{нав} \cdot 2} \quad (5)$$

где $C_{Na_2S_2O_3}$ – молярная концентрация раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование, моль/дм³; $V_{Na_2S_2O_3, 0, \text{до инверсии}}$ – объем тиосульфата натрия, израсходованный на титрование йода, оставшегося после реакции с холостой пробой до инверсии, см³; $V_{Na_2S_2O_3, \text{до инверсии}}$ – объем тиосульфата натрия, израсходованный на титрование йода, оставшегося после реакции с углеводом, до инверсии пробы, см³; $M_{C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O}$ – молярная масса моногидрата лактозы, г/моль; $V_{м.к.}$ – объем мерной колбы, в которой растворена навеска пробы, см³; $V_{ал}$ – объем аликвоты, взятый на титрование, см³; $m_{нав}$ – масса навески пробы, взятая на анализ, г; 2 – число, учитывающее стехиометрические коэффициенты в уравнении реакции; 0,97 – коэффициент, учитывающий полноту прохождения реакции взаимодействия сахаров с йодом по ГОСТ 29248–91.

Массовую долю нередуцирующих сахаров в пересчете на сахарозу, ω_2 , %, в испытуемой пробе вычисляли по формуле:

$$\omega_2 = \frac{C_{Na_2S_2O_3} (V_{0Na_2S_2O_3, 0, \text{после инверсии}} - V_{Na_2S_2O_3, \text{после инверсии}} - V_{Na_2S_2O_3, 0, \text{до инверсии}} + V_{Na_2S_2O_3, \text{до инверсии}}) \cdot \frac{M_{C_{12}H_{22}O_{11}} \cdot V_{м.к.}}{V_{ал}} \cdot 0,99}{2 \cdot 10 \cdot m_{нав}} \quad (6)$$

где $C_{Na_2S_2O_3}$ – молярная концентрация раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование, моль/дм³; $V_{Na_2S_2O_3, 0, \text{до инверсии}}$ – объем тиосульфата натрия, израсходованный на титрование йода, оставшегося после реакции с холостой пробой до инверсии, см³; $V_{Na_2S_2O_3, \text{до инверсии}}$ – объем тиосульфата натрия, израсходованный на титрование йода, оставшегося после реакции с пробой до инверсии пробы, см³; $V_{0Na_2S_2O_3, 0, \text{после инверсии}}$ – объем тиосульфата натрия, израсходованный на титрование йода, оставшегося после реакции с холостой пробой после инверсии, см³; $V_{Na_2S_2O_3, \text{после инверсии}}$ – объем тиосульфата натрия, израсходованный на титрование йода, оставшегося после реакции с пробой после инверсии пробы, см³; $M_{C_{12}H_{22}O_{11}}$ – молярная масса сахарозы, г/моль; $V_{м.к.}$ – объем мерной колбы, в которой растворена навеска пробы, см³; $V_{ал}$ – объем аликвоты, взятый на титрование, см³; $m_{нав}$ – масса навески пробы, взятая на анализ, г; 2 – число, учитывающее стехиометрические коэффициенты в уравнении реакции; 0,99 – коэффициент, учитывающий полноту прохождения реакции взаимодействия сахаров с йодом.

Массовую долю углеводов (общего сахара) ω_3 , %, находили суммированием редуцирующих и нередуцирующих сахаров:

$$\omega_3 = \omega_1 + \omega_2, \quad (7)$$

где ω_1 – массовая доля редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы по (5), %; ω_2 – массовая доля нередуцирующих сахаров в пересчете на сахарозу по (6), %.

Влияющими факторами при проведении измерений массовой доли редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы являются масса навески, объемы сульфата меди и гидроксида натрия (осадители белков и жиров), аликвоты фильтрата, избытка йода, гидроксида натрия и соляной кислоты. Результаты экспериментов по выбору параметров измерений

на примере проб сухого молока представлены на рис. 2, 3 и табл. 2, 3.

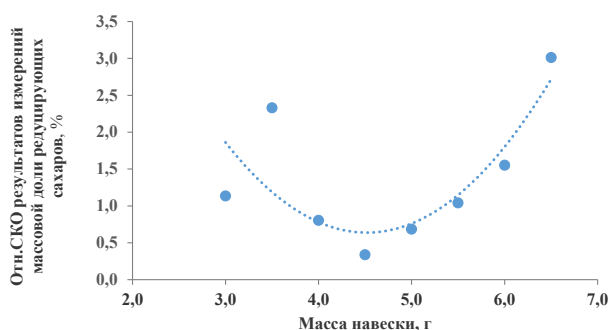


Рис. 2. Результаты варьирования массы навески
Fig. 2. The results of varying the weight of the sample

Таблица 2. Результаты варьирования объема раствора сульфата меди

Table 2. The results of varying the volume of copper sulfate solution

Объем сульфата меди, использованный для осаждения, см ³	Массовая доля редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы, %
16	37,85
14	37,78
12	37,88
10	37,76
7	40,47
5	Проведение фильтрования невозможно
3	
1	

Критерием выбора массы навески, равной 5 г, являлось получение минимального разброса результатов измерений (рис. 2) на основании относительного среднеквадратического отклонения (СКО), рассчитанного по пяти параллельным определениям массовой доли редуцирующих сахаров.

При выборе объемов осадителей ориентировались на качество получаемого фильтрата: он должен быть прозрачным. Объемы раствора сульфата меди варьировали от 1 до 16 см³ (табл. 2), а объемы раствора гидроксида натрия – от 1 до 6 см³ (табл. 3).

Как видно из табл. 2, резкое изменение результатов измерений наблюдается при изменении объема

Таблица 3. Результаты варьирования объема гидроксида натрия

Table 3. The results of varying the volume of sodium hydroxide

Объем гидроксида натрия, использованный для осаждения, см ³	Массовая доля редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы, %
6	56,56
5	48,96
4	44,48
3	44,90
2	44,95
1	44,45

сульфата меди от 7 до 10 см³. Дальнейшее увеличение объема сульфата меди приводит к увеличению объема пробы и, следовательно, расхода реактивов, но не оказывает существенного влияния на результат. При объеме сульфата меди 7 см³ происходит образование мелкодисперсного осадка, который частично попадает в фильтрат, вызывая побочные реакции и, как следствие, завышение результатов измерений. Кроме того, мелкодисперсный осадок заполняет поры фильтровальной бумаги, что значительно затрудняет процесс фильтрации. Дальнейшее уменьшение объема осадителя приводит к невозможности проведения фильтрации. Таким образом, для проведения измерений выбран объем раствора сульфата меди, равный 10 см³.

Раствор гидроксида натрия используется для создания щелочной среды, поэтому в качестве оптимального значения объема гидроксида натрия выбран максимально возможный объем щелочи – 4 см³, при котором еще не происходит побочных реакций, проводящих к увеличению результата измерений (табл. 3).

С целью выбора оптимальных объемов фильтрата и избытка йода проведены экспериментальные исследования, в ходе которых объем фильтрата варьировали от 10 до 35 см³, избытка йода – от 15 до 30 см³. Варьирование объема фильтрата не приводило к существенным изменениям в результатах измерений массовой доли редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы. При этом изменение объема избытка йода давало резкий скачок в результатах измерений при переходе объема от 25 до 30 см³. Для проведения измерений выбраны объемы фильтрата и йода, равные 25 см³, при которых соблюдается

соотношение между веществами, вступающими в реакцию окисления-восстановления.

Объем гидроксида натрия, обеспечивающий pH ~11,5 для протекания реакции окисления моносахаридов, составил 37,5 см³. Объем соляной кислоты, обеспечивающий нейтрализацию раствора щелочи и создание сильноокислой среды (pH ~1,5) для проведения титрования, составил 8 см³.

Дополнительными влияющими факторами при проведении измерений общего сахара (этап 3) являются объем соляной кислоты, необходимый для гидролиза, время и температура гидролиза (инверсии). Параметры проведения гидролиза должны обеспечивать 100% извлечение общего сахара и сахарозы (т. е. полное прохождение реакции гидролиза сахарозы, но отсутствие гидролиза лактозы). Для проверки полноты прохождения реакции гидролиза в соответствии с методикой измерений были приготовлены фильтраты из высокочистых реактивов моногидрата лактозы и сахарозы с предварительно оцененной массовой долей основного вещества (табл. 8). Далее гидролизаты анализировали методом ВЭЖХ/РМД. Результаты измерений представлены в табл. 4. Влияние температуры гидролиза на степень разложения сахарозы на глюкозу и фруктозу и лактозы на глюкозу и галактозу проиллюстрировано соответственно на рис. 3–4, где мЕд.Рефр.– условное обозначение выходного сигнала детектора.

Как видно из табл. 4 и рис. 3, 4, рост температуры гидролиза повышает степень разложения сахарозы, в то время как степень разложения лактозы менее подвержена влиянию параметров гидролиза. В большинстве случаев, указанных в табл. 4, вариация массовой доли основного вещества находится в пределах погрешности измерения метода. Однако при температуре 67 °С наблюдается разложение около 2% лактозы. Образовавшиеся в результате гидролиза лактозы глюкоза и галактоза также будут вступать в реакцию окисления, что приведет к получению завышенных результатов измерений общего сахара. Уменьшенный в 2 раза объем раствора соляной кислоты не обеспечивает достаточную кислотность среды, необходимую для гидролиза, что ведет к неполному разложению сахарозы и получению заниженных результатов измерений. В ходе эксперимента по варьированию времени гидролиза также установлено, что реакция гидролиза количественно протекает за 10 минут. Таким образом, для проведения измерений выбрана температура гидролиза 57 °С, время гидролиза 10 минут, объем раствора соляной кислоты (массовая концентрация 7,3 моль/дм³) 2,5 см³, обеспечивающий pH ~1,5.

Оценка показателей точности ПРМИ

После установления параметров измерений проводили оценивание неопределенности результатов измерений массовой доли углеводов в пищевых системах.

Таблица 4. Результаты варьирования температуры, времени гидролиза и объема раствора соляной кислоты

Table 4. The results of varying temperature, hydrolysis time and volume of hydrochloric acid solution

№ опыта	Температура гидролиза, °С	Объем раствора соляной кислоты, см ³	Время гидролиза, мин.	Массовая доля сахарозы в гидролизате, %	Массовая доля лактозы в гидролизате, %
1	53,0	2,5	10	1,51	99,80
2	57,0	2,5	10	0,03	99,71
3	67,0	2,5	10	0,02	97,69
4	53,0	1,25	10	14,12	99,89
5	57,0	1,25	10	4,34	99,78
6	63,0	1,25	10	0,41	99,58
7	67,0	1,25	10	0,02	99,14
8	57,0	2,5	8	0,35	99,67
9	57,0	2,5	6	1,75	99,67
10	63,0	2,5	8	0,02	99,03

Курсивом обозначены выбранные параметры измерений.

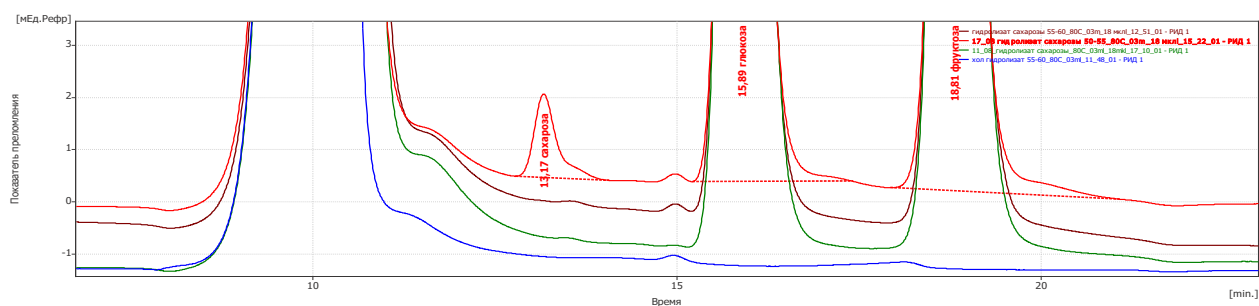


Рис. 3. Хроматограммы гидролизатов сахарозы при объеме раствора соляной кислоты 2,5 см³, времени гидролиза 10 минут и различных температурах гидролиза: 1 (синий) – холостой опыт; 2 (зеленый) – 67 °С, 3 (коричневый) – 57 °С, 4 (красный) – 53 °С

Fig. 3. Chromatograms of sucrose hydrolysates with a volume of hydrochloric acid solution of 2.5 cm³, hydrolysis time of 10 minutes and various hydrolysis temperatures: 1 (blue) – blank experiment; 2 (green) – 67 °C, 3 (brown) – 57 °C, 4 (red) – 53 °C

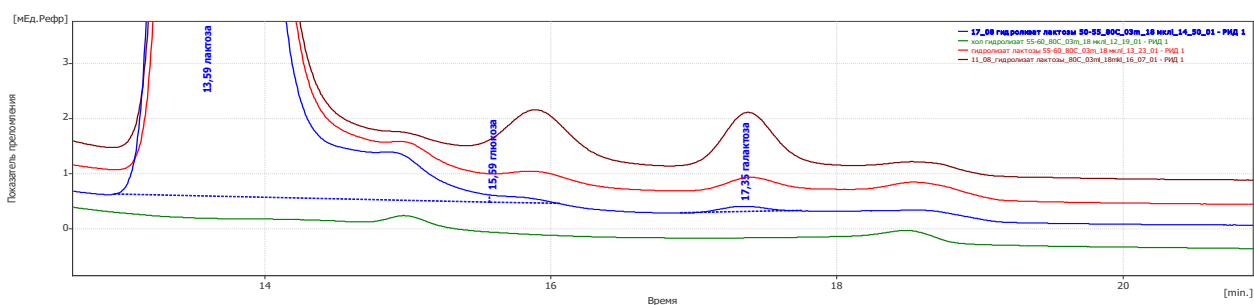


Рис. 4. Хроматограммы гидролизатов лактозы при объеме раствора соляной кислоты 2,5 см³, времени гидролиза 10 минут и различных температурах гидролиза: 1 (зеленый) – холостой опыт; 2 (синий) – 53 °С, 3 (красный) – 57 °С, 4 (коричневый) – 67 °С

Fig. 4. Chromatograms of lactose hydrolysates at a volume of hydrochloric acid solution of 2.5 cm³, hydrolysis time of 10 minutes and various hydrolysis temperatures: 1 (green) – blank experiment; 2 (blue) – 53 °C, 3 (red) – 57 °C, 4 (brown) – 67 °C

Оценку показателей прецизионности выполняли по ГОСТ Р ИСО 5725-5-2002 с использованием модели гетерогенного материала. Оценку показателя правильности проводили с учетом источников погрешности (неопределенности) определения величин, входящих в уравнения измерений (5–7), а также методических факторов в соответствии с Руководством ЕВРАХИМ/СИТАК [17]. Возможные пределы варьирования методических параметров, а также связанное с этим смещение оценивали путем проведения многофакторного эксперимента [18], который впоследствии обрабатывался регрессионным анализом с помощью пакета анализа Microsoft Excel. Область применения и метрологические характеристики ПРМИ массовой доли углеводов в пищевых продуктах и продовольственном сырье представлены в табл. 5. Разработанная ПРМИ обладает запасом точности по отношению к стандартизованным методикам измерений в соотношении от 1:2 до 1:3.

В ходе расширения области применения ПРМИ была разработана также методика измерений массовой доли редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы в жидких молочных продуктах методом йодометрического титрования. Диапазон измерений массовой доли редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы для молока питьевого составил от 4,00 % до 5,50 % включ., для сливок питьевых – от 3,00 % до 8,00 % включ. Границы абсолютной погрешности (при доверительной вероятности $P=0,95$) составили $\pm 0,08$ %, расширенная неопределенность (при коэффициенте охвата $k=2$) 0,08 % [19].

Результаты международных сличений ПРМИ

Экспериментальное подтверждение эквивалентности разработанной ПРМИ аналогичным методикам (методам) измерений иностранных государств проведено в 2019 г. в ходе участия УНИИМ в раунде межлабораторных сличительных испытаний

Таблица 5. Диапазоны измерений, значения показателей точности ПРМИ
Table 5. Measurement ranges, accuracy values of the PRMP

Объект измерений	Диапазон измерений, %	Границы абсолютной погрешности при $P=0,95$, %	Расширенная неопределенность при $k=2$, %
Массовая доля редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы			
Молоко и молочные продукты, в том числе для детского питания	от 1,0 до 60 включ.	$\pm 0,25$	0,25
Продукция зерновая и зерно-молочная для детского питания	от 10 до 80 включ.		
Продукты низколактозные и безлактозные, в том числе для детского питания	от 0,5 до 5,0 включ.		
Массовая доля нередуцирующих сахаров в пересчете на сахарозу			
Молоко и молочные продукты, в том числе для детского питания	от 0,5 до 50 включ.	$\pm 0,30$	0,30
Продукция зерновая и зерно-молочная для детского питания	от 0,5 до 30 включ.		
Продукты низколактозные и безлактозные, в том числе для детского питания	от 0,5 до 10 включ.		
Массовая доля углеводов (общего сахара)			
Молоко и молочные продукты, в том числе для детского питания	от 1 до 80 включ.	$\pm 0,40$	0,40
Продукция зерновая и зерно-молочная для детского питания	от 20 до 80 включ.		
Продукты низколактозные и безлактозные, в том числе для детского питания	от 1 до 25 включ.		

по определению массовой доли моногидрата лактозы в молочной сыворотке (Proficiency Testing Study type G EPQS783 Whey Powder), организованных MUVA Kempten GmbH (Германия). В раунде приняли участие 37 лабораторий из 12 стран. Для измерения массовой доли моногидрата лактозы в молочной сыворотке лаборатории-участницы использовали титриметрический, ферментативный и хроматографический методы измерений в соответствии с ISO 5765-2, ISO 22662:2017, VDLUFA

C20.2.3 [20]. Результат измерений массовой доли моногидрата лактозы в молочной сыворотке, полученный по ПРМИ с указанием z - и z' -индексов, рассчитанных MUVA Kempten GmbH (Германия) по результатам всех лабораторий-участниц согласно ISO 13528:2015, представлен в табл. 6.

Так как значения z - и z' -индексов менее 2, то результат измерений по ПРМИ является удовлетворительным. Это свидетельствует об эквивалентности

Таблица 6. Результат измерений массовой доли моногидрата лактозы в молочной сыворотке, полученный по ПРМИ в раунде «EPQS783 Whey Powder»

Table 6. The measurement result of the mass fraction of lactose monohydrate in milk whey obtained by the PRMP in the round «EPQS783 Whey Powder»

Результат измерений массовой доли моногидрата лактозы по ПРМИ, %	Приписанное значение массовой доли моногидрата лактозы, %	z -индекс	z' -индекс
75,97 \pm 0,25	74,56 \pm 0,50	0,94	0,89

разработанной ПРМИ аналогичным методикам (методам) измерений, применяющимся иностранными государствами.

Разработка высокоселективных методик определения углеводного состава молочной продукции

ПРМИ позволяет получить результат измерений массовой доли углеводов (общего сахара) в виде суммы массовых долей редуцирующих и нередуцирующих сахаров. В то же время для некоторых групп продуктов питания (например, при анализе специализированной продукции) необходимо определение содержания конкретных индивидуальных сахаров. Поэтому следующим этапом являлась разработка высокоселективных методик, основанных на спектрофотометрическом (ферментативном) методе и ВЭЖХ/РМД, что позволило провести детализацию углеводного состава на конкретные виды моносахаридов и дисахаридов.

Разработка методики измерений массовых долей лактозы и галактозы в молоке и молочных продуктах спектрофотометрическим методом

В настоящей методике измерений для количественного определения содержания галактозы и лактозы градуировочная характеристика не используется, как обычно принято для спектральных методов анализа. Для расчета использовали закон Бугера-Ламберта-Бера, определяющий ослабление параллельного монохроматического пучка света при распространении его в поглощающей среде. Согласно этому закону, при прочих равных условиях оптическая плотность прямо пропорциональна толщине поглощающего слоя и концентрации светопоглощающих частиц, т. е., например, содержанию галактозы:

$$\Delta A_G = \varepsilon l C, \tag{8}$$

где ΔA_G – значение оптической плотности раствора, связанное с окислением свободной галактозы, Б; ε – молярный коэффициент поглощения НАДН, $\text{дм}^3/\text{ммоль}\cdot\text{см}$; l – длина кюветы, см; C – молярная концентрация раствора, $\text{моль}/\text{дм}^3$.

Выразив из формулы (8) молярную концентрацию раствора галактозы, получаем

$$C = \frac{\Delta A_G}{\varepsilon l}. \tag{9}$$

При умножении формулы (9) на объем раствора в кювете, $V_1, \text{см}^3$, и на молярную массу галактозы, $M_G, \text{г}/\text{моль}$, получаем массу галактозы в кювете, $m_G, \text{г}$:

$$m_G = \frac{\Delta A_G \cdot M_G \cdot V_1 \cdot 10^{-3} \cdot 10^{-3}}{\varepsilon l}, \tag{10}$$

Массовая доля галактозы, $W_G, \%$, в общем виде рассчитывается по формуле:

$$W_G = \frac{m_G}{m} \cdot 100, \tag{11}$$

где m – масса навески, г.

Подставляем формулу (10) в формулу (11) и с учетом разведения пробы получаем формулу для расчета массовой доли галактозы, $W_G, \%$:

$$\begin{aligned} W_G &= \frac{\Delta A_G \cdot M_G \cdot V_1 \cdot 10^{-6}}{\varepsilon l m} \cdot \frac{V_{\text{м.к.}}}{V_{\text{ал}}} \cdot 100 = \\ &= \frac{\Delta A_G \cdot M_G \cdot V_1 \cdot 10^{-4}}{\varepsilon l m} \cdot \frac{V_{\text{м.к.}}}{V_{\text{ал}}}, \end{aligned} \tag{12}$$

где $V_{\text{м.к.}}$ – объем мерной колбы, использованный при разведении пробы в процессе ее подготовки к анализу, см^3 ; $V_{\text{ал}}$ – объем аликвоты, помещенной в кювету, см^3 .

Аналогично выводится формула для расчета массовой доли лактозы, $W_L, \%$:

$$W_L = \frac{\Delta A_L \cdot M_L \cdot V_1 \cdot 10^{-4}}{\varepsilon l m} \cdot \frac{V_{\text{м.к.}}}{V_{\text{ал}}}, \tag{13}$$

где ΔA_L – значение оптической плотности раствора, связанное с гидролизом лактозы, Б; M_L – молярная масса лактозы, $\text{г}/\text{моль}$.

Влияющими факторами при проведении измерений массовых долей лактозы и галактозы являются длина волны падающего излучения и значение молярного коэффициента пропускания. С целью выбора рабочей длины волны был получен спектр поглощения раствора лактозы в диапазоне от 190 до 1100 нм (рис. 5).

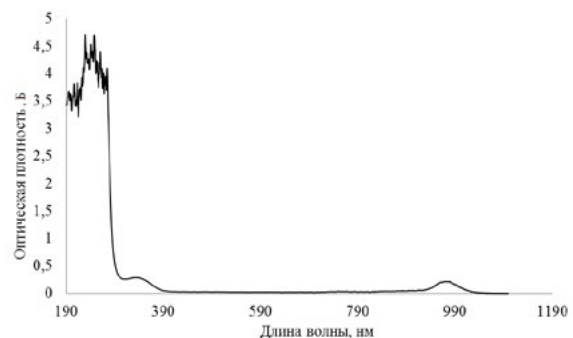


Рис. 5. Зависимость оптической плотности раствора лактозы от длины волны

Fig. 5. The optical density dependence of lactose solution on the wavelength

Как видно из рис. 5, в видимой области спектра в диапазоне от 400 до 760 нм пики отсутствуют. В ультрафиолетовой области в диапазоне от 200 до 300 нм наблюдаются интенсивные пики, однако эта часть спектра является нерабочей ввиду слишком больших значений оптической плотности. В качестве рабочей длины волны выбрано значение 340 нм, поскольку при этом значении наблюдается максимум на спектре поглощения (что позволит повысить чувствительность определения), а значение оптической плотности составляет 0,32 Б и находится в пределах диапазона измерений спектрофотометра (от 0,03 до 3,0 Б).

Так как значение молярного коэффициента пропускания при применении закона Бугера-Ламберта-Бера зависит от длины волны, природы светопоглощающего вещества, применяемой лампы спектрофотометра, температуры раствора, то при постановке методики на конкретном оборудовании требуется его проверка. Проверка значений молярного коэффициента пропускания была выполнена с использованием контрольного раствора с массовой концентрацией моногидрата лактозы 0,495 г/дм³, приготовленного из реактива моногидрата лактозы с предварительно оцененной массовой долей основного вещества (табл. 8). Рассчитанное значение молярного коэффициента пропускания составило 6,28 дм³/ммоль·см.

Оценивание показателей точности методики измерений проводили по алгоритму, описанному выше для ПРМИ. Полученные метрологические характеристики представлены в табл. 7.

Разработка методики измерений массовых долей моно- и дисахаридов в молоке и молочных продуктах методом ВЭЖХ/РМД

Массовую долю моно- и дисахаридов в испытуемой пробе, $W_{y_{2л}}$, %, рассчитывали по формуле:

$$W_{y_{2л}} = \frac{100S_{y_{2л}}V_{м.к.}}{amV_{ал}}, \quad (14)$$

где $S_{y_{2л}}$ – средняя площадь пика моно- и дисахарида, усл. ед.; a – тангенс угла наклона градуировочной прямой; m – масса навески, г; $V_{м.к.}$ – объем мерной колбы, использованной при разведении пробы в процессе ее подготовки к анализу, см³; $V_{ал}$ – объем аликвоты, мм³.

Результаты оценки массовой доли основного вещества в исходных высокочистых реактивах моно- и дисахаридов для приготовления градуировочных растворов методом массового баланса (сто минус сумма примесей) в соответствии с МИ 3561–2016 представлены в табл. 8. В этой же таблице приведены параметры градуировочных характеристик, используемых для расчета массовой доли моно- и дисахаридов, где y – отклик рефрактометрического детектора, усл. ед.; x – масса углевода в аликвоте, мг. Коэффициент корреляции для всех моно- и дисахаридов составил более 0,9999.

Оценивание показателей точности методики измерений проводили по алгоритму, описанному выше для ПРМИ. Предел количественного определения (LOQ) лактозы, оцененный для соотношения сигнал/шум=10 [21], составил 0,0001 мг. Полученные метрологические характеристики представлены в табл. 9.

Сравнение результатов измерений углеводного состава

На первом этапе была проведена идентификация углеводного состава анализируемых проб молока и молочных продуктов методом ВЭЖХ/РМД. Типичные хроматограммы для фильтратов, приготовленных из проб молока сухого, молока питьевого ультрапастеризованного и напитка кисломолочного с фруктовым наполнителем после осаждения белков и жиров, представлены соответственно на рис. 6–8. Идентификация пиков проведена путем сравнения полученной хроматограммы с хроматограммами, снятыми для водных растворов моно- и дисахаридов при одинаковых параметрах хроматографирования.

На втором этапе проводили количественный анализ как суммарного содержания углеводов, так и отдельных

Таблица 7. Диапазоны измерений, значения показателей точности методики измерений массовых долей лактозы и галактозы спектрофотометрическим методом

Table 7. Measurement ranges, accuracy values of the procedure for measuring the mass fractions of lactose and galactose by the spectrophotometric method

Объект измерений	Диапазон измерений массовой доли лактозы и галактозы, %	Границы относительной погрешности при P=0,95, %	Относительная расширенная неопределенность при k=2, %
Молоко и молочные продукты, в том числе для детского питания	от 0,1 до 60,0 включ.	±9	9

Таблица 8. Результаты оценки массовой доли основного вещества в исходных высокочистых реактивах моно- и дисахаридов, параметры градуировочной характеристики
Table 8. The assessment results of the mass fraction of the main substance in the initial high-purity reagents of mono- and disaccharides, the parameters of the calibration characteristic

Моно- и дисахарид	Массовая доля основного вещества, %	Уравнение градуировочной характеристики
D-лактоза моногидрат	99,74±0,20	y = 16362,95·x
D(+)-галактоза	99,44±0,20	y = 16786,26·x
D-глюкоза	99,49±0,20	y = 165429,95·x
Сахароза	99,89±0,20	y = 16975,24·x
D(-)-фруктоза	99,96±0,20	y = 16408,83·x
Лактулоза	99,20±0,20	y = 22377,61·x

Таблица 9. Диапазоны измерений, значения показателей точности методики измерений массовых долей моно- и дисахаридов в молоке и молочных продуктах методом ВЭЖХ/РМД
Table 9. Measurement ranges, accuracy values of the procedure for measuring the mass fractions of mono- and disaccharides in milk and dairy products by HPLC/RD

Объект измерений	Диапазон измерений массовой доли моно- и дисахаридов, %	Границы относительной погрешности при P=0,95, %	Относительная расширенная неопределенность при k=2, %
Молоко и молочные продукты, в том числе для детского питания	от 0,01 до 0,50 включ.	±8	8
	от 0,50 до 60,0 включ.	±5	5

моно- и дисахаридов. Результаты измерений массовой доли углеводов в пробах молока и молочных продуктов, полученные различными методами, представлены в табл. 10–14.

Как видно из табл. 10–14, результаты измерений как суммарного содержания углеводов, так и отдельных моно- и дисахаридов в пробах молока и молочных

продуктов, полученные различными методами, согласуются между собой с учетом заявленных неопределенностей. Это подтверждает отсутствие смещения результатов измерений методом йодометрического титрования в соответствии с разработанной ПРМИ по сравнению с результатами других методов. При этом погрешность (неопределенность) результата измерений по ПРМИ меньше всех остальных. Следовательно, ПРМИ имеет наивысшую точность и может быть использована для оценки правильности получаемых по другим методикам результатов измерений, а также для калибровки средств измерений и определения характеристик стандартных образцов.

Разработка стандартных образцов

Разработанные методики были использованы для установления аттестованных значений массовой доли углеводов (в т. ч. лактозы) в стандартных образцах состава молочных продуктов:

– ГСО 11399–2019 состава молока сухого (АСМ-3 СО УНИИМ),

– ГСО 11504–2020/ ГСО 11505–2020 состава молочных продуктов (набор МС-1 СО УНИИМ),

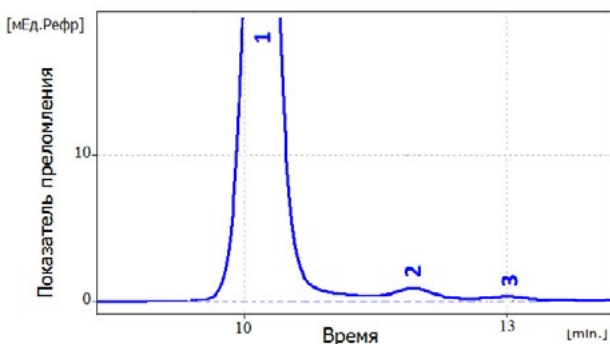


Рис. 6. Хроматограмма ВЭЖХ/РМД фильтрата молока сухого: 1 – лактоза; 2 – глюкоза; 3 – галактоза (скорость потока 0,4 мл/мин.)

Fig. 6. HPLC/RD chromatogram of dry milk: 1 – lactose; 2 – glucose; 3 – galactose (flow rate 0.4 ml/min)

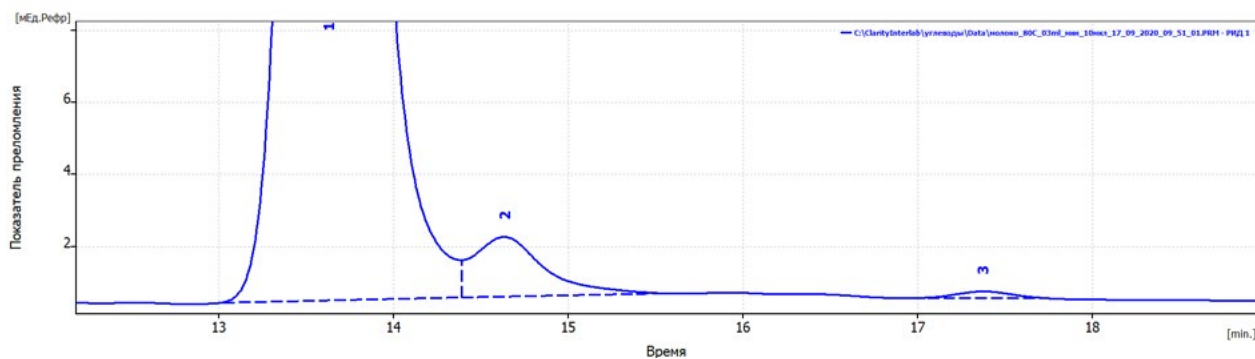


Рис. 7. Хроматограмма ВЭЖХ/РМД фильтрата молока питьевого ультрапастеризованного: 1 – лактоза; 2 – лактулоза; 3 – галактоза (скорость потока 0,3 мл/мин.)

Fig. 7. HPLC/RD chromatogram of ultra-pasteurized drinking milk filtrate: 1 – lactose; 2 – lactulose; 3 – galactose (flow rate 0.3 ml/min)

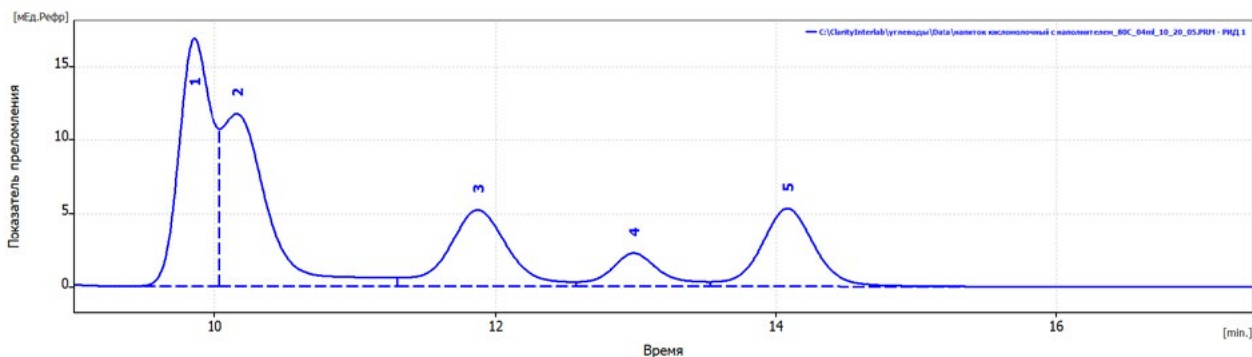


Рис. 8. Хроматограмма ВЭЖХ/РМД фильтрата напитка кисломолочного с фруктовым наполнителем: 1 – сахароза; 2 – лактоза; 3 – глюкоза; 4 – галактоза; 5 – фруктоза (скорость потока 0,4 мл/мин.)

Fig. 8. HPLC/RD chromatogram of filtrate of fermented milk drink with fruit filling: 1 – sucrose; 2 – lactose; 3 – glucose; 4 – galactose; 5 – fructose (flow rate 0.4 ml/min)

Таблица 10. Результаты измерений массовой доли углеводов в пробах молока сухого цельного
Table 10. The results of measuring the mass fraction of carbohydrates in whole milk powder samples

Показатель	Результаты измерений, %	
	йодометрическое титрование	расчетный метод
Массовая доля белка		15,70±0,20
Массовая доля жира		28,07±0,25
Массовая доля влаги		3,06±0,15
Массовая доля золы		5,94±0,05
Массовая доля углеводов (общего сахара)	47,26±0,40	47,23±0,40

Таблица 11. Результаты измерений массовой доли углеводов в пробах молока сухого обезжиренного
Table 11. The results of the measuring mass fraction of carbohydrates in skimmed milk powder samples

Показатель	Результаты измерений, %		
	йодометрическое титрование	ферментативный метод	ВЭЖХ/РМД
Массовая доля углеводов (общего сахара), в том числе:	51,50±0,40	48,85±4,37	51,08±2,52
лактозы	–	48,60±4,37	50,46±2,52
глюкозы	–	–	0,47±0,04
галактозы	–	0,25±0,02	0,15±0,02

Таблица 12. Результаты измерений массовой доли углеводов в пробах молока питьевого ультрапастеризованного (образец 1)

Table 12. The results of the measuring mass fraction of carbohydrates in UHT milk (sample 1)

Показатель	Результаты измерений, %		
	йодометрическое титрование	ВЭЖХ/РМД	рефрактометрия
Массовая доля редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы, в том числе:	4,43±0,08	4,32±0,21	4,46±0,30
лактозы	–	4,18±0,21	4,46±0,30
лактоулозы	–	0,12±0,01	–
галактозы	–	0,018±0,001	–

Таблица 13. Результаты измерений массовой доли углеводов в пробах молока питьевого ультрапастеризованного (образец 2)

Table 13. The results of the measuring mass fraction of carbohydrates in UHT milk (sample 2)

Показатель	Результаты измерений, %		
	йодометрическое титрование	ИК-спектроскопия (анализатор MIRA)	ИК-спектроскопия (анализатор MilkoScan)
Массовая доля редуцирующих сахаров в пересчете на моногидрат лактозы, в том числе:	4,60±0,08	4,41±0,25	4,79±0,25
лактозы	–	4,41±0,25	4,79±0,25

а также массовой доли основного вещества в стандартных образцах состава моно- и дисахаридов:

– ГСО 11820–2021 состава лактозы моногидрата (Лактоза СО УНИИМ),

– ГСО 11839–2021/ ГСО 11843–2021 состава моно- и дисахаридов (набор УГЛЕВОДЫ СО УНИИМ): D(+)-галактозы, D-глюкозы ангидрида, лактозы моногидрата, лактулозы, D(–)-фруктозы;

– ГСО 11884–2022 состава арабинозы (Арабиноза СО УНИИМ),

– ГСО 11885–2022 состава маннозы (Манноза СО УНИИМ),

– ГСО 11886–2022 состава сахарозы (Сахароза СО УНИИМ).

Таблица 14. Результаты измерений массовой доли углеводов в пробах напитка кисломолочного с фруктовым наполнителем

Table 14. The results of the measuring mass fraction of carbohydrates in samples of fermented milk drink with fruit filling

Показатель	Результаты измерений, %	
	Йодометрическое титрование	ВЭЖХ/РМД
Массовая доля углеводов (общего сахара), в том числе:	11,30±0,40	11,63±0,57
лактозы	–	3,53±0,35
глюкозы	–	1,99±0,20
галактозы	–	0,73±0,07
фруктозы	–	1,87±0,19
сахарозы	–	3,51±0,35

Заключение

В ходе настоящей работы проведен критический анализ методов измерений содержания углеводов в пищевых системах, выявлены недостатки и преимущества различных методов. Выполнена разработка ПРМИ для метрологического обеспечения измерений массовой доли углеводов в пищевых системах. Проведены экспериментальные исследования по уточнению и оптимизации параметров измерений высокоселективных методик, основанных на спектрофотометрическом (ферментативном) и хроматографическом методах. Подтверждена применимость разработанной ПРМИ в комплексе с другими методами для проведения всестороннего анализа углеводного состава молока и молочных продуктов. Разработанные методики были использованы для характеристики стандартных образцов состава молочных продуктов (3 типа), моно- и дисахаридов (9 типов).

Благодарности: Исследование выполнено в рамках внутреннего НИОКР: «Углеводы. Разработка методик и стандартных образцов», заказчик УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева».

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Скурихин И. М.* Все о пище с точки зрения химика: справочное издание. М.: Высшая школа, 1991. 288 с.
2. *Бочков А. Ф., Афанасьев В. А., Заиков Г. Е.* Углеводы. М.: Наука, 1980. 176 с.
3. *Fine J.* The iodimetric method of determining lactose in milk // *Biochemical Journal*. 1932. Vol. 26. № 3. P. 569–572. <https://doi.org/10.1042/bj0260569>
4. A novel enzymatic method for the measurement of lactose in lactose-free products / D. Mangan [et al.] // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2019. Vol. 99. № 2. P. 947–956. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9317>
5. *Chavez-Servin J. L., Castellote A. I., Lopez-Sabater M. C.* Analysis of mono- and disaccharides in milk-based formulae by high-performance liquid chromatography with refractive index detection // *Journal of Chromatography A*. 2004. Vol. 1043. P. 211–215. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.06.002>

Acknowledgments: Acknowledgments: The study was carried out as part of internal R&D: «Carbohydrates. Development of Procedures and Reference Materials», the contracting authority is UNIIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleev Institute for Metrology

Вклад соавторов: Голынец О. С. – руководство научно-исследовательской работой. Сергеева А. С. – разработка методологии, написание чернового варианта статьи, проверка и редакция текста статьи. Крашенинина М. П. – разработка методик, валидация. Шохина О. С. – проведение исследовательских работ, подготовка визуальных материалов.

Authors' contribution: Golynets O. S. – management of research work. Sergeeva A. S. – development of methodology, writing a draft version of the article, checking and editing the text of the article. Krasheninina M. P. – development of methods, validation. Shokhina O. S. – conducting research work, preparing visual materials.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare no conflicts of interests.

6. Caprita R., Caprita A., Cretescu I. Determination of lactose concentration in milk serum by refractometry and polarimetry // *Animal Science and Biotechnologies*. 2014. Vol. 47. № 1. P. 158–161.
7. Видимкина Ю. И., Казакова О. А., Вершинин В. И. Рефрактометрическое определение суммарного содержания углеводов в пересчете на сахарозу // *Вестник Омского университета*. 2013. № 2. С. 108–111.
8. Посудин Ю. И., Костенко В. И. Определение состава молока на основе инфракрасной спектрофотометрии // *Известия ВУЗов. Пищевая технология*. 1992. № 3–4. С. 64–66.
9. Standardization of milk mid-infrared spectra from a European dairy network / C. Grelet [et al.] // *Journal of Dairy Science*. 2015. Vol. 98. № 4. P. 2150–2160. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8764>
10. Химический состав и энергетическая ценность пищевых продуктов: справочник МакКанса и Уиддоусона: пер. с англ. под общ. ред. док. мед. наук А. К. Батурина. СПб.: Профессия, 2006.
11. Кодекс Алиментариус. Молоко и молочные продукты: пер. с англ. М.: Весь Мир, 2007.
12. Оценка метрологических характеристик стандартного образца состава молока сухого с использованием первичного и вторичного государственных эталонов / М. П. Крашенинина [и др.] // *Измерительная техника*. 2013. № 9. С. 67–71.
13. Reference measurement procedure for the determination of mass fraction of fat content in food / S. V. Medvedevskikh [et al.] // *Accreditation and Quality Assurance*. 2021. Vol. 26. P. 165–175. <https://doi.org/10.1007/s00769-021-01472-w>
14. Создание эталонов сравнения для реализации Государственной поверочной схемы средств измерений содержания воды / М. Ю. Медведевских [и др.] // *Измерительная техника*. 2019. № 6. С. 3–10. <https://doi.org/10.32446/0368-1025it.2019-6-3-10>
15. Государственная первичная референтная методика измерений массовой доли золы в пищевых продуктах и продовольственном сырье / М. Ю. Медведевских [и др.] // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2019. Т. 85. № 6. С. 70–80. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2019-85-6-70-80>
16. Milton M. J. T. The mole, amount of substance and primary methods // *Metrologia*. 2013. Vol. 50. № 2. P. 158–163. <https://doi.org/10.1088/0026-1394/50/2/158>
17. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях: руководство ЕВРАХИМ/СИТАК. 3-е изд.: пер. с англ. УНИИМ. URL: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1_RU.pdf (дата обращения: 01.04.2022).
18. Дерффель К. Статистика в аналитической химии: пер. с нем. М.: Мир, 1994. 268 с.
19. Стандартные образцы состава молочных продуктов для поверки ИК-анализаторов молока / М. Ю. Медведевских [и др.] // *Пищевая промышленность*. 2021. № 1. С. 16–19. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2021-10003>
20. ENZ 784 UV-method for the determination of lactose and other materials. Lactose/D-Galactose. URL: https://www.aafco.org/Portals/0/SiteContent/Regulatory/Committees/Lab-Methods-and-Services/Methods/11a_r_biopharm%20lactose_d_galactose.pdf (дата обращения: 01.04.2022).
21. Валидация аналитических методик. Неопределенность в аналитических измерениях: руководства для лабораторий / Под ред. Г. Р. Нежиховского, Р. Л. Кадиса: пер. с англ. СПб.: ЦОП Профессия, 2016. 312 с.

REFERENCES

1. Skurikhin I. M. Everything about food from the point of view of a chemist: A reference book. Moscow: Vysshiaia shkola; 1991. 288 p. (In Russ.).
2. Bochkov A. F., Afanas'ev V. A., Zaikov G. E. Carbohydrates. Moscow: Nauka; 1980. 176 p. (In Russ.).
3. Fine J. The iodimetric method of determining lactose in milk. *Biochemical Journal*. 1932;26(3):569–572. <https://doi.org/10.1042/bj0260569>
4. Mangan D., McCleary B. V., Culleton H., Cornaggia C., Ivory R., McKie V. A., Delaney E., Kargelis T. A novel enzymatic method for the measurement of lactose in lactose-free products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2019;99(2):947–956. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9317>
5. Chavez-Servin J. L., Castellote A. I., Lopez-Sabater M. C. Analysis of mono- and disaccharides in milk-based formulae by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. *Journal of Chromatography A*. 2004;(1043):211–215. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.06.002>
6. Caprita R., Caprita A., Cretescu I. Determination of lactose concentration in milk serum by refractometry and polarimetry. *Animal Science and Biotechnologies*. 2014;47(1):–161.
7. Vidimkina J. I., Kazakova O. A., Vershinin V. I. Refractometric Determination of total carbohydrates expressed as sucrose. *Herald of Omsk University*. 2013;(2):108–111. (In Russ.).
8. Posudin Iu. I., Kostenko V. I. Determination of the composition of milk based on infrared spectrophotometry. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*. 1992;(3–4):64–66. (In Russ.).
9. Grelet C., Fernández Pierna J. A., Dardenne P., Baeten V., Dehareng F. Standardization of milk mid-infrared spectra from a European dairy network. *Journal of Dairy Science*. 2015;98(4):2150–2160. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8764>
10. Chemical composition and energy value of food products: A reference book of McCans and Widdowson (Russ. ed.: A. K. Baturina). St. Petersburg: Professiia, 2006.
11. Codex Alimentarius. Milk and dairy products. Moscow: Ves Mir, 2007

12. Krasheninina M. P., Medvedevskikh M. Yu., Medvedevskikh S. V., Sobina E. P., Neudachina L. K. An estimate of the metrological characteristics of a standard sample of the composition of dried whole milk using primary and secondary state standards. *Measurement Techniques*. 2013;56(9):1076–1082. <https://doi.org/10.1007/s11018-013-0333-8>
13. Medvedevskikh S. V., Baranovskaya V. B., Medvedevskikh M. Y., Krasheninina M. P., Sergeeva A. S. Reference measurement procedure for the determination of mass fraction of fat content in food. *Accreditation and Quality Assurance*. 2021;(26):165–175. <https://doi.org/10.1007/s00769-021-01472-w>
14. Medvedevskikh M. Y., Sergeeva A. S., Krasheninina M. P., Shokhina O. S. Creating reference standards for the implementation of the state verification scheme for water content measurement. *Measurement Techniques*. 2019;(62):475–483. <https://doi.org/10.1007/s11018-019-01649-3>
15. Medvedevskikh M. Yu., Sergeeva A. S., Krasheninina M. P., Shokhina O. S. State primary reference procedure for the measurement of ash mass fraction in food, foodstuff and alimentary raw materials. *Industrial Laboratory. Materials Diagnostics*. 2019;85(6):70–80. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2019-85-6-70-80> (In Russ.).
16. Milton M. J. T. The mole, amount of substance and primary methods. *Metrologia*. 2013;50(2):158–163. <https://doi.org/10.1088/0026-1394/50/2/158>
17. Quantifying uncertainty in analytical measurement, EURACHEM/CITAC. 3rd ed.
18. Derffel K. Statistics in analytical chemistry. Moscow: Mir; 1994. 268 p. (In Russ.).
19. Medvedevskikh M. Yu., Sergeeva A. S., Kasilyunas A. V., Shatskikh E. V., Kolberg N. A. Certified reference materials of dairy products composition for ir milk analyzers verification. *Food Industry*. 2021;(1):16–19. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2021-10003>
20. ENZ 784 UV-method for the determination of lactose and other materials. Lactose/D-Galactose. Available at: https://www.aafco.org/Portals/0/SiteContent/Regulatory/Committees/Lab-Methods-and-Services/Methods/11a_r_biopharm%20lactose_d_galactose.pdf
21. Validation of analytical methods. uncertainty in analytical measurements: Manuals for laboratories (Russ. ed.: G. R. Nezhikhovskogo, R. L. Kadisa). St. Petersburg: TsOP Professiia; 2016. 312 p.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

ГОСТ Р 51258-99. Молоко и молочные продукты. Метод определения сахарозы и глюкозы = Milk and milk products. Method for determination of sucrose and glucose content : национальный стандарт Российской Федерации: издание официальное : принят и введен в действие Постановлением Госстандарта России от 12 апреля 1999 г. № 120 : дата введения 2000.01.01 / разработан Московским государственным университетом пищевых производств, внесен Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность». Москва : Стандартинформ, 2009. 10 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ Р 51469-99. Казеины и казеинаты. Фотометрический метод определения массовой доли лактозы = Caseins and caseinates. Photometric method for determination of lactose content : национальный стандарт Российской Федерации: издание официальное : принят и введен в действие Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 624-ст : дата введения 2001.01.01 / разработан Государственным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности, внесен Техническим комитетом по стандартизации ТК 186 «Молоко и молочные продукты». Москва : Стандартинформ, 2011. 7 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ Р 54667-2011. Молоко и продукты переработки молока. Методы определения массовой доли сахаров = Milk and Milk Products. Methods for Determination of Sugars Mass Fraction : национальный стандарт Российской Федерации: издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 декабря 2011 г. N 824-ст: дата введения 2013.01.01 / разработан Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии). Москва : Стандартинформ, 2012. 24 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ Р 54760-2011. Продукты молочные составные и продукты детского питания на молочной основе. Определения массовой концентрации моно- и дисахаридов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии = Component milk products and infant milk products. Determination of mono- and disugars mass concentration by high-performance liquid chromatographic method : национальный стандарт Российской Федерации: издание официальное : принят и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 декабря 2011 г. № 949-ст : дата введения 2013.01.01 / разработан Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук. Москва : Стандартинформ, 2012. 12 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ Р 55063-2012. Сыры и сыры плавленые. Правила приемки, отбор проб и методы контроля = Kinds of cheese and processed cheese. The rules of test acceptance, sampling and control methods : национальный стандарт Российской Федерации: издание официальное : принят и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 ноября 2012 г. № 759-ст / разработан Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом маслоделия и сыроделия Российской академии сельскохозяйственных наук. Москва : Стандартинформ, 2013. 31 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ Р 55361-2012. Жир молочный, масло и паста масляная из коровьего молока. Правила приемки, отбор проб и методы контроля = Milk fat, butter and butter paste made from cow milk. Acceptance rules, sampling and control methods : национальный стандарт Российской Федерации : издание официальное : принят и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. № 1730-ст : дата введения 2014.01.01 / разработан Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом маслоделия и сыроделия Российской академии сельскохозяйственных наук Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом маслоделия и сыроделия Россельхозакадемии. Москва : Стандартинформ, 2014. 45 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ 5672-68. Хлеб и хлебобулочные изделия. Методы определения массовой доли сахара = Bread and Bakery Products. Methods for Determination of Sugar Content : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Комитетом стандартов, мер и измерительных приборов при Совете Министров СССР 15.07.68 : переиздание 2006.09.01 : дата введения 1969.07.01. / разработан и внесен Всесоюзным научно-исследовательским институтом хлебопекарной промышленности, Министерством пищевой промышленности. Москва : Стандартинформ, 2006. 11 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ 12575-2001. Методы определения редуцирующих веществ = Sugar. Methods of Reducing Substances Determination : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Постановлением Государственного комитета Российской Федерации по стандартизации и метрологии от 27 февраля 2002 г. N 78-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 12575-2001 введен в действие в качестве государственного стандарта Российской Федерации с 1 января 2003 г.: переиздание март 2012 : дата введения 2003.01.01 / разработан Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 182 «Сахар и крахмалопаточные продукты»; Украинским научно-исследовательским институтом сахарной промышленности (УкрНИИСП). Москва : Стандартинформ, 2012. 14 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ 29248-91. Консервы молочные. Йодометрический метод определения сахаров = Canned milk. Iodometric method for determination of sugar : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР от 29.12.91 № 2331 : дата введения 1993.07.01 / разработан ТК по стандартизации 186 «Молоко и молочные продукты». Москва : Стандартинформ, 2012. 14 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ 30305.2-95. Консервы молочные сгущенные и продукты молочные сухие. Методика выполнения измерений массовой доли сахарозы (поляриметрический метод) = Sweetened condensed preserved and dry milk products. Procedure of measurement of saccharose content : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, протокол от 12 октября 1995 г. № 8 : дата введения 1997.01.01 / разработан Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности Представлен Межгосударственным Техническим комитетом по стандартизации МТК 186 «Молоко и молочные продукты». Москва : Стандартинформ, 2009. 6 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ 30648.7-99. Продукты молочные для детского питания. Методы определения сахарозы = Infant milk products. Methods for determination of sucrose : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, протокол от 28 мая 1999 г. № 15-99 : дата введения 2000.01.01 / разработан Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности и Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 186 «Молоко и молочные продукты». Минск : ИПК Издательство стандартов, 1999. 12 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ 32255-2013. Молоко и молочная продукция. Инструментальный экспресс-метод определения физико-химических показателей идентификации с применением инфракрасного анализатора = Milk and milk products. Instrumental express-method for determination of physic-chemical identification parameters by infrared analyzer : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, протокол от 14 ноября 2013 г. № 44-2013 : дата введения 2015.07.01 / разработан Секретариатом ТК 470/МТК 532 «Молоко и продукты переработки молока», Российским союзом предприятий молочной отрасли, ООО «Научно-технический комитет «Молочная индустрия» при участии ООО «ФОСС-Электрик». Москва : Стандартинформ, 2014. 29 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ 33527-2015. Молочные и молочные составные продукты для детского питания. Определение массовой доли моно- и дисахаридов с использованием капиллярного электрофореза = Milk and dairy component products for baby food. Determination of mono- and disugars mass concentration by method of capillary electrophoresis : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, протокол от 12 ноября 2015 г. № 824-П : дата введения 2016.07.01 / разработан Государственным бюджетным учреждением Ярославской области «Ярославский государственный институт качества сырья и пищевых продуктов». Москва : Стандартинформ, 2016. 17 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ 33957-2016. Сыворотка молочная и напитки на ее основе. Правила приемки, отбор проб и методы контроля = Dairy whey and drinks on its basis. Acceptance rules, sampling and methods of control : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, протокол от 25 октября 2016 г. № 92-П : дата введения 2017.09.01 / разработан Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия». Москва : Стандартинформ, 2016. 17 с. Текст : непосредственный.

ГОСТ 34304-2017. Молоко и молочные продукты. Метод определения лактозы и галактозы = Milk and milk products. Method for determination of lactose and galactose content : межгосударственный стандарт : издание официальное : утвержден и введен в действие Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, протокол от 30 ноября 2017 г. № 52-2017 : дата введения 2019.01.01 / разработан Федеральным государственным бюджетным учреждением науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи». Москва : Стандартинформ, 2016. 17 с. Текст : непосредственный

ГОСТ Р ИСО 5725-5-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 5. Альтернативные методы определения прецизионности стандартного метода измерений = Accuracy (trueness and precision) of Measurement Methods and results. Part 5. Alternative methods for the determination of the precision of a standard measurement method : государственный стандарт : издание официальное : принят и введен в действие Постановлением Госстандарта России от 23 апреля 2002 г. N 161-ст : введен впервые : дата введения 2002.11.01 / разработан Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы» Госстандарта России (ВНИИМС), Всероссийским научно-исследовательским институтом стандартизации (ВНИИСтандарт), Всероссийским научно-исследовательским институтом классификации, терминологии и информации по стандартизации и качеству (ВНИИКИ) Госстандарта России. Москва : ИПК Издательство стандартов, 2002. 58 с. Текст : непосредственный.

ISO 5765-2:2002 Dried milk, dried ice-mixes and processed cheese – Determination of lactose content – Part 2: Enzymatic method utilizing the galactose moiety of the lactose. Available at: <https://www.iso.org/standard/30566.html> (дата обращения: 10.04.2022).

ISO 22662:2007 Milk and milk products – Determination of lactose content by high-performance liquid chromatography (Reference method). Available at: <https://www.iso.org/standard/36384.html> (дата обращения: 10.04.2022).

ISO 13528:2015 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. Available at: <https://www.iso.org/standard/56125.html> (дата обращения: 10.04.2022).

МИ 3561-2016 Государственная система обеспечения единства измерений. Оценка неопределенности измерений массовой доли основного компонента в органических веществах = Gosudarstvennaya sistema obespecheniya edinstva izmerenii. Otsenka neopredelennosti izmerenii massovoi doli osnovnogo komponenta v organicheskikh veshchestvakh. Москва : ФГУП «ВНИИМС», 2016. 17 с.

ГСО 11399-2019 Стандартный образец состава молока сухого (АСМ-3 СО УНИИМ). Текст электронный // Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений : официальный сайт. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/19/items/812271> (дата обращения: 10.04.2022).

ГСО 11504-2020/ ГСО 11505-2020 Стандартные образцы состава молочных продуктов (набор МС-1 СО УНИИМ). Текст электронный // Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений : официальный сайт. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/19/items/1211469> (дата обращения: 10.04.2022).

ГСО 11820-2021 Стандартный образец состава лактозы моногидрата (Лактоза СО УНИИМ)/ Текст электронный // Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений : официальный сайт. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/19/items/1395358> (дата обращения: 10.04.2022).

ГСО 11839-2021/ ГСО 11843-2021 Стандартные образцы состава моно- и дисахаридов (набор УГЛЕВОДЫ СО УНИИМ). Текст электронный // Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений : официальный сайт. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/19/items/1395634> (дата обращения: 10.04.2022).

ГСО 11884-2022 Стандартный образец состава арабинозы (Арабиноза СО УНИИМ). Текст электронный // Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений : официальный сайт. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/19/items/1397882> (дата обращения: 10.04.2022).

ГСО 11885-2022 Стандартный образец состава маннозы (Манноза СО УНИИМ). Текст электронный // Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений : официальный сайт. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/19/items/1397883> (дата обращения: 10.04.2022).

ГСО 11886-2022 Стандартный образец состава сахарозы (Сахароза СО УНИИМ). Текст электронный // Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений : официальный сайт. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/19/items/1397884> (дата обращения: 10.04.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Голынец Ольга Станиславовна – ученый хранитель ГВЭТ 176-1, и. о. заведующего лабораторией метрологии влагометрии и стандартных образцов УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева».

Россия, 620075, г. Екатеринбург,
ул. Красноармейская, д. 4
e-mail: golynets_olga@uniim.ru
Researcher ID ABD-7662–2021
<https://orcid.org/0000-0002-6975-7744>

Сергеева Анна Сергеевна – канд. хим. наук, старший научный сотрудник лаборатории метрологии влагометрии и стандартных образцов УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева».

620075, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Красноармейская, д. 4
e-mail: sergeevaas@uniim.ru
Researcher ID: AAE-7942–2021
<https://orcid.org/0000-0001-8347-2633>

Крашенинина Мария Павловна – канд. техн. наук, ученый хранитель ГЭТ 173, ученый хранитель ГВЭТ 208-1, старший научный сотрудник лаборатории метрологии влагометрии и стандартных образцов УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева».

620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, 4
e-mail: krasheninina_m@uniim.ru
Researcher ID B-8302–2019

Шохина Ольга Сергеевна – помощник ученого хранителя ГВЭТ 208–1, научный сотрудник лаборатории метрологии влагометрии УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева».

620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, 4
e-mail: shokhinaos@uniim.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8008-1669>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Olga S. Golynets – Scientific Custodian of the GVET 176–1, Acting Head of the Laboratory for Metrological Support of Moisture Measurement and Reference Materials, UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleev Institute for Metrology.

4 Krasnoarmeyskaya St.,
Yekaterinburg, 620075, Russia
e-mail: golynets_olga@uniim.ru
Researcher ID ABD-7662–2021
<https://orcid.org/0000-0002-6975-7744>

Anna S. Sergeeva – Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher of the Laboratory for Metrological Support of Moisture Measurement and Reference Materials, UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleev Institute for Metrology.

4 Krasnoarmeyskaya St.,
Yekaterinburg, 620075, Russia
e-mail: sergeevaas@uniim.ru
Researcher ID: AAE-7942–2021
<https://orcid.org/0000-0001-8347-2633>

Maria P. Krasheninina – Cand. Sci. (Eng.), Assistant Scientific Custodian of the GET 173, Scientific Custodian of the GVET 208-1, Senior Researcher, Laboratory for Metrological Support of Moisture Measurement and Reference Materials, UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleev Institute for Metrology.

4 Krasnoarmeyskaia St., Yekaterinburg, 620075, Russia
e-mail: krasheninina_m@uniim.ru
Researcher ID B-8302–2019

Olga S. Shokhina – Assistant Custodian of the GVET 208-1, Researcher of the Laboratory for Metrological Support of Moisture Measurement and Reference Materials, UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleev Institute for Metrology.

4 Krasnoarmeyskaia St., Yekaterinburg, 620075, Russia
e-mail: shokhinaos@uniim.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8008-1669>