

## СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ВЕЩЕСТВ И МАТЕРИАЛОВ



Обзорная статья

УДК 57.083.3:616–097:613.26:613.28

<https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-3-145-158>



# О разработке метрологического обеспечения идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов животного или растительного происхождения в пищевых продуктах

О. Е. Первухина<sup>1</sup> ✉, А. С. Сергеева<sup>1</sup> , М. П. Крашенинина<sup>1</sup>, В. В. Студенок<sup>1</sup> , Е. С. Машков<sup>1</sup>,  
П. А. Петухов<sup>2</sup>, В. Н. Майгурова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева», г. Екатеринбург, Россия

✉ [pervuhinaoe@uniim.ru](mailto:pervuhinaoe@uniim.ru)

<sup>2</sup> ООО «ХЕМА», г. Москва, Россия

**Аннотация:** В соответствии с ТР ТС 022/2011 «Пищевая продукция в части ее маркировки» наличие аллергенов в составе пищевых продуктов подлежит обязательному контролю. Работы по созданию комплекса метрологического обеспечения идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов животного или растительного происхождения в пищевых продуктах включают разработку и аттестацию методик идентификации и количественного определения; проведение межлабораторных сравнительных (сличительных) испытаний; создание и испытание в целях утверждения типа стандартных образцов.

В рамках настоящего исследования выполнены работы по разработке и аттестации методик идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов животного (коровье молоко, куриное яйцо, рыба и морепродукты) и растительного (глютен, арахис, орехи, соевые бобы) происхождения в пробах всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, с помощью наборов реагентов для иммуноферментного анализа производства ООО «ХЕМА».

Аттестация методик количественного анализа в соответствии с требованиями законодательства в области обеспечения единства измерений проведена с применением импортных референтных материалов пищевых аллергенов. Нижние пределы чувствительности (пределы обнаружения) наличия или отсутствия антигенов по массе белка аллергена составили от 0,001 ррб до 5 ррт. Разработанные методики позволяют обеспечить безопасность пищевых продуктов при установлении соответствия продукции требованиям законодательства о техническом регулировании.

**Ключевые слова:** пищевая аллергия, аллергены, методика измерений, тест-система, иммуноферментный анализ

**Ссылка при цитировании:** О разработке метрологического обеспечения идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов животного или растительного происхождения в пищевых продуктах / О. Е. Первухина [и др.] // Эталоны. Стандартные образцы. 2023. Т. 19, № 3. С. 145–158. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-3-145-158>

Статья поступила в редакцию 26.01.2023; одобрена после рецензирования 21.02.2023; принята к публикации 25.04.2023.

## MODERN METHODS OF ANALYSIS OF SUBSTANCES AND MATERIALS

Research Article

# On the Development of Metrological Support for the Identification and Quantitative Determination of the Content of Non-infectious Food Allergens of Animal or Plant Protein Origin in Food Products

Olesya E. Pervukhina<sup>1</sup> ✉, Anna S Sergeeva<sup>1</sup> , Maria P. Krasheninina<sup>1</sup>, Valeria V. Studenok<sup>1</sup> , Evgenii S. Mashkov<sup>1</sup>, Pavel A. Petukhov<sup>2</sup>, Valentina N. Maigurova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleev Institute for Metrology, Yekaterinburg, Russia  
✉ pervuhinaoe@uniim.ru

<sup>2</sup>XEMA LLC, Moscow, Russia, e-mail: onco.xema@gmail.ru

**Abstract:** In accordance with TR CU022/2011 «Food products in terms of their labeling», the content of allergens in food products is subject to mandatory control. Work on the creation of a metrological support complex for the identification and quantitative determination of the content of non-infectious food allergens of animal or plant protein origin in food products includes the development and certification of methods for identification and quantitative determination; conducting inter-laboratory comparisons; creation and testing for type approval of reference materials.

Within the framework of this research, work was carried out on the development and certification of methods for identifying and quantifying the content of non-infectious food allergens of plant (gluten, peanuts, nuts, soybeans) and animal (cow's milk, chicken eggs, fish and seafood) protein origin in samples of all kinds of food products and objects related to the requirements for food products, swabs taken from work surfaces during production control using reagent kits for enzyme-linked immunosorbent assay produced by XEMA LLC.

Certification of quantitative analysis methods in accordance with legal requirements in the field of ensuring the uniformity of measurements was conducted using imported reference materials of food allergens. The lowest sensitivity limits (detection limits) of the presence or absence of antigens by allergen protein weight ranged from 0.001 ppb to 5 ppm. The developed methods make it possible to ensure the safety of food products when establishing the conformity of products with the requirements of the legislation on technical regulation.

**Keywords:** food allergy, allergens, measurement technique, test system, enzyme-linked immunosorbent assay

**For citation:** On the development of metrological support for the identification and quantitative determination of the content of non-infectious food allergens of animal or plant protein origin in food products. *Measurement Standards. Reference Materials.* 2023;19(3):145–158. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-3-145-158>.

The article was submitted 26.01.2023; approved after reviewing 21.02.2022; accepted for publication 25.04.2023.

### Введение

Под аллергией сегодня принято понимать проявления повышенной чувствительности иммунной системы организма к аллергену (антигену) при повторном с ним контакте. При пищевой аллергии такая реакция

возникает при употреблении пищевых продуктов, в которых главными аллергенами являются белки, как простые, так и сложные (например, гликопротеины), реже – полипептиды (гаптены), которые, соединяясь с белками пищи, приобретают свойство иммуногенности [1].

Способность пищевого белка выступать в роли аллергена зависит от наличия в его составе «эпитопа». Это участок макромолекулы аллергена, который распознается иммунной системой [1]. Таким образом, эпитоп определяет специфичность и индуцирует антительный ответ [1, 2]. В соответствии с Международным пищевым кодексом<sup>1</sup> [3] к продуктам питания с наиболее выраженными аллергенными свойствами относят: коровье молоко, куриное яйцо, пшеница, арахис, орехи, соевые бобы, рыба и морепродукты (ракообразные и моллюски). Перечисленные продукты составляют так называемую «большую восьмерку аллергенов».

В ответ на употребление этих продуктов могут развиваться как легкой (крапивница), так и тяжелой степени тяжести аллергические реакции, такие как молниеносная и жизнеугрожающая пищевая анафилаксия. В отдельных случаях системная реакция может возникать при минимальном количестве аллергена, к примеру, при вдыхании запаха арахиса или при поступлении аллергенов с грудным молоком. У некоторых пищевых аллергенов есть способность изменять свои антигенные свойства в процессе кулинарной обработки продуктов, при воздействии на них ферментов или, уже при попадании в организм, пищеварительных соков. Так, денатурация белка при нагревании продукта приводит к тому, что одни продукты теряют аллергенность, а другие, напротив, становятся более аллергенными [1, 4–6], например, арахис при обжарке усиливает аллергенность, а некоторые белки коровьего молока и куриного яйца разрушаются и наоборот – теряют это свойство.

При наличии аллергической реакции на какой-либо продукт человеку необходимо обратиться в лечебное учреждение. Далее врач собирает анамнез для уточнения и установления «виновного» пищевого продукта и предлагает пациенту пройти кожные тесты, которые дают быстрый результат при минимуме затрат. Однако получаемые результаты часто являются ложноположительными вследствие перекрестной реактивности [7]. Впоследствии пациент вынужден придерживаться определенной диеты, которая полностью исключает употребление пищи, содержащей аллерген, и покупать продукты, на которых указано отсутствие аллергена. В соответствии с требованиями Технического регламента Таможенного союза ТР ТС 022/2011 «компоненты, в том

числе пищевые добавки, ароматизаторы, биологически активные добавки, употребление которых может вызвать аллергические реакции или противопоказано при отдельных видах заболеваний, указываются в составе пищевой продукции независимо от их количества». Таким образом, наличие аллергенов в составе пищевых продуктов подлежит обязательному контролю. При этом следует также учитывать, что непреднамеренное присутствие аллергена в пищевом продукте может быть результатом перекрестной контаминации аллергена по всей цепочке поставок, в процессах хранения, транспортировки и производственных процессов [8].

С развитием иммунологии совершенствуются методы диагностики пищевых аллергенов в продуктах питания. Особое внимание при разработке метода уделяется чувствительности и специфичности для более точного обнаружения конкретного аллергена. На данный момент существует множество методов анализа, которые можно условно разделить на 4 большие группы: масс-спектрометрия, методы на основе нуклеиновых кислот, биосенсоры и иммуноаналитические [7].

*Масс-спектрометрия* – метод идентификации и исследования веществ, в основе которого лежит ионизация атомов (молекул) в составе вещества и последующая регистрация спектра масс образовавшихся ионов. Существенное отличие масс-спектрометрии от других аналитических спектральных, например, оптических методов состоит в том, что оптические методы детектируют излучение или поглощение энергии молекулами или атомами, а масс-спектрометрия – непосредственно сами частицы вещества [9, 10]. Метод обладает довольно высокой чувствительностью, однако является дорогостоящим из-за стоимости оборудования для проведения анализа.

*Методы на основе нуклеиновых кислот* – аналитические методы, основанные на обнаружении генов, которые кодируют целевой антиген. Эти методы имеют важное преимущество по сравнению с обнаружением антигена, так как идентифицирует ген – более устойчивую молекулу даже после воздействия факторов (высокая температура, ферментация, кислотность и т. д.). Среди этих методов наиболее часто используемым является метод полимеразной цепной реакции – ПЦР [11]. К ограничениям относятся влияние на результат определения термообработки вследствие разрушения обнаруживаемой ДНК, сложности в разграничении разных продуктов (например, яйца и курица содержат одинаковый генетический материал), невозможность обнаружения некоторых аллергенов при низких концентрациях (например, яйцо и молоко).

<sup>1</sup> Codex Alimentarius: International Food Standards. Code of practice on food allergen management for food business operators CXC 80-2020 // Food and Agriculture Organization. URL: [https://www.fao.org/faowhocodexalimentarius/shproxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252FCodex%252FStandards%252FCXC%2B80-2020%252FCXC\\_080e.pdf](https://www.fao.org/faowhocodexalimentarius/shproxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252FCodex%252FStandards%252FCXC%2B80-2020%252FCXC_080e.pdf)

*Биосенсоры* – комбинированные устройства, состоящие из биохимически или биологически активного компонента (биокомпонента фермента, антитела, антигена, микроорганизма, биологической мембраны) и электронного преобразователя. Преимуществом биосенсоров является высокая специфичность биокомпонента, а также его способность осуществлять узнавание без дополнительных затрат энергии (повышения температуры, наложения потенциала и т. д.) [12, 13]. Ограничения использования связаны с медленной скоростью реакции, невысокой воспроизводимостью и стабильностью, трудностью получения биоорганических материалов постоянного состава, чувствительностью к действию высоких и низких температур, бактерицидных загрязнений.

*Иммуноаналитические методы* диагностики основаны на взаимодействии антиген-антитело. Среди иммуноаналитических методов наиболее широко применяемым является иммуноферментный анализ [7] как чувствительный и недорогостоящий метод анализа. Существует конкурентный и неконкурентный методы иммуноферментного анализа. Разница между двумя методами в том, что на первой стадии конкурентного метода присутствует не только сам антиген, но и его аналог, то есть два антигена конкурируют за связывание с антителами. В неконкурентном методе отсутствуют аналог целевого аллергена и конкуренция за связывание с антителом, также этот метод отличается более высокой аналитической чувствительностью и простотой постановки анализа. В настоящее время иммуноферментный анализ является международно признанным и наиболее часто применяемым методом для рутинного выявления аллергенов в пищевых продуктах [3].

ООО «ХЕМА» (г. Москва) разработало наборы реагентов, которые позволяют провести идентификацию и количественное определение содержания неинфекционных пищевых аллергенов белкового растительного и животного происхождения в пробах всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, методом иммуноферментного анализа. Согласно действующему законодательству в области технического регулирования (№ 184–ФЗ О техническом регулировании), оценка соответствия продукции обязательным требованиям должна осуществляться с применением аттестованных методик измерений.

С 2016 года специалисты УНИИМ-филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева» проводят работы по метрологическому обеспечению метода иммуноферментного анализа с использованием имеющейся

инструментальной и эталонной базы [14, 15]. В результате накопленного опыта был разработан единый методический подход к разработке комплекса метрологического обеспечения измерений, проводимых методом иммуноферментного анализа [16], включающего следующие работы: 1) разработка и аттестация методик идентификации и количественного определения; 2) проведение межлабораторных сравнительных (слепых) испытаний; 3) создание и испытание стандартных образцов состава аллергенов в целях утверждения типа. Перечисленные исследования внесли серьезный вклад в обеспечение безопасности пищевой продукции, повышения качества жизни людей и выявления фальсифицированных продуктов, однако по-прежнему актуальной является проблема количественного определения аллергенов.

Целью настоящего исследования является разработка и аттестация методик идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов белкового животного или растительного происхождения в пробах всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля

## Материалы и методы

### Описание метода иммуноферментного анализа

В наборах реагентов ООО «ХЕМА» используется неконкурентный (сэндвич) иммуноферментный метод, обладающий самым высоким уровнем чувствительности и специфичности из-за использования пары совпадающих антител [17]. В лунки микропланшета, на поверхности которых адсорбированы специфические антитела против аллергена, вносят исследуемую пробу. Антиген из пробы связывается с антителами на поверхности лунки. Не связавшийся материал удаляется отмывкой. В лунки вносят вторые антитела к этому же антигену, меченные конъюгатом с пероксидазой. После повторной отмывки активность фермента проявляется добавлением хромоген-субстратной смеси, стоп-раствора и подвергается измерению оптической плотности на спектрофотометре на длине волны 450 нм, бланк спектрофотометра (фоновый раствор) выставляют по нулевому калибратору. Схема неконкурентного (сэндвич) иммуноферментного метода представлена на рис. 1.

Методика измерений массовой доли аллергена в пробах основана на зависимости оптической плотности исследуемого раствора на длине волны 450 нм от массовой доли аллергена. Для построения калибровочной характеристики используются калибровочные

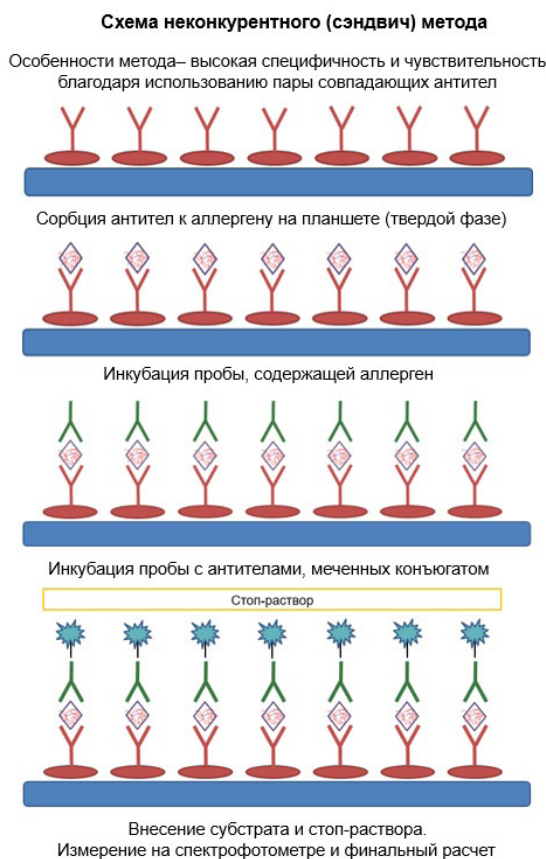


Рис. 1. Схема неконкурентного (сэндвич) иммуноферментного метода

Fig. 1. The scheme of the non-competitive (sandwich) enzyme-linked immunosorbent assay

растворы, содержащие исследуемые аллергены, входящие в набор реагентов производства ООО «ХЕМА». Калибровочный график представляет линейную пропорциональную зависимость, описываемую полиномом первого порядка.

#### **Порядок аттестации методик измерений**

При проведении аттестации методик количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов белкового животного или растительного происхождения в пищевых продуктах (методик измерений) использовалось следующее оборудование: анализатор иммунологический Multiskan FC фирмы Thermo Scientific, весы неавтоматического действия I класса точности CPA225D фирмы Sartorius, лабораторная центрифуга CM 6MT фирмы ELMi, автоматические дозаторы фирмы Biohit, набор мерной посуды.

В качестве образцов для оценивания показателей точности методики измерений содержания глютен

применяли рабочие пробы муки, крупы, отрубей и изделий макаронных. Показатели правильности результатов измерений были оценены расчетно-экспериментальным методом оценки показателей качества методики анализа (в виде характеристики погрешности ее составляющих) по Приложению В РМГ 61–2010.

С целью закрытия области применения методик измерений был проведен анализ групп ОКПД 2 (общероссийский классификатор продуктов по видам экономической деятельности), и в качестве образцов для оценивания были выбраны наиболее характерные представители из каждой группы, заведомо не содержащие или предположительно не содержащие исследуемые аллергены – 34 рабочие пробы, а именно – рабочие пробы пищевых продуктов и продовольственного сырья: ячмень, семена кунжута, рис коричневый, фарш куриный из филе грудки, фарш из говядины, фарш из свинины, креветка варено-мороженая, филе трески мороженое, мидия варено-мороженая, томат консервированный, ананас консервированный, лисички замороженные, молоко безлактозное 0,5% жирности, сыр российский, творог 9% жирности, мука ржаная, отруби овсяные, мука гречневая, галеты мультизлаковые, пирожное бисквитное, крупа кускус, шоколад молочный, яйцо вареное куриное, смесь сухая молочная для питания детей, пудинг шоколадный, изолят сывороточного белка, каша овсяная быстрого приготовления, молоко овсяное, молоко на рисовой основе со вкусом кокоса, молоко миндальное, ароматизатор «Ваниль», пищевая добавка «Сухой животный фермент Клеричи (Clerici) (химозин/пепсин)», крахмал кукурузный, а также смывы с рабочих поверхностей.

Пробы продуктов и продовольственного сырья отбирали в соответствии с ГОСТами на анализируемый вид пищевой продукции, либо иной нормативной и (или) технической документацией по отбору проб, действующей на предприятии. Далее готовили экстракты проб в соответствии с инструкциями к тест-системам, реализующим метод ИФА.

Показатели прецизионности методики измерений оценены по результатам межлабораторного эксперимента с участием пяти лабораторий, организованного в соответствии с ГОСТ Р 5725-2-2002. Оценка показателей правильности количественных методик измерений выполнена с применением метода добавок в соответствии с положениями РМГ 61–2010. Растворы, используемые для введения добавок, готовили путем разбавления точно известной навески импортных референтных материалов пищевых аллергенов:

– чистое вещество состава соевого ингибитора трипсина (Trypsin inhibitor from Glycine max (soybean), Product



Number: T9128, Партия № SLBR5919V) в сухой форме 1,0 г с массовой долей основного вещества 100,00 %, производства фирмы Sigma Aldrich;

– чистое вещество состава суммы казеинов фракций  $\alpha s1$ ,  $\alpha s2$ ,  $\beta$  и  $\kappa$  (Casein from bovine milk – powder, CAS № 9000-71-9, Product Number: C3400, Batch Number: № SLBZ2763) в сухой форме 1,0 г с массовой долей основного вещества 91,23 %, производства фирмы Sigma Aldrich.

Дополнительно, путем проведения эксперимента, были установлены пределы обнаружения методик идентификации неинфекционных пищевых аллергенов белкового животного или растительного происхождения в пробах пищевых продуктов и смывах с рабочих поверхностей.

### Результаты и их обсуждение

В 2018–2022 гг. в рамках продолжения совместных работ ООО «ХЕМА» и УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева» по метрологическому обеспечению контроля качества и безопасности пищевой продукции [14, 15] проведены работы по разработке, аттестации и проверке применимости методики измерений содержания глютена в продуктах переработки зерна методом иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов «ГЛИАДИН-ИФА» производства ООО «ХЕМА», а также подготовлена серия документов под общим названием «Методики идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов белкового растительного и животного происхождения в пробах всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, с помощью наборов реагентов для иммуноферментного анализа производства ООО «ХЕМА».

*Методика измерений содержания глютена в продуктах переработки зерна методом иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов «ГЛИАДИН-ИФА» производства ООО «ХЕМА» разработана в ходе развития документа ГОСТ 33838–2016<sup>2</sup>.*

В соответствии с документом Комиссии Кодекса Алиментариус [18] глютен определяется как белковая фракция пшеницы, ржи, ячменя, овса или их гибридов и производные из этой белковой фракции, которые могут быть непереносимы некоторыми людьми. Глютен состоит из двух фракций – проламинов и глютелинов. Содержание глютена напрямую зависит от содержания фракции проламинов.

Диапазон измерений массовой доли глютена составляет от 2,0 до 100,0 млн<sup>-1</sup> (мг/кг) включительно. Метрологические характеристики методики измерений приведены в табл. 1.

Приложение А содержит методику качественного анализа проб на наличие или отсутствие глютена с помощью иммунохроматографической тест-полоски из набора «ХЕМАТест ГЛЮТЕН» производства ООО «ХЕМА».

«ХЕМАТест ГЛЮТЕН» основан на использовании пары моноклональных антител и позволяет определить глиадин (основной компонент глютена) и связанные с ним проламины (горлеин и секалин), которые составляют около 50 % общего содержания глютена с высокой чувствительностью и специфичностью, в том числе после продолжительной тепловой обработки пищевых продуктов.

Чувствительность «ХЕМАТест ГЛЮТЕН» (предел обнаружения) и диапазон определения в экстракте,

<sup>2</sup> Методика измерений содержания глютена в продуктах переработки зерна методом иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов «ГЛИАДИН-ИФА» производства ООО «ХЕМА» // Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений : официальный сайт. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/16/items/1386259>

Таблица 1. Значения показателей точности, правильности, повторяемости и воспроизводимости методики измерений массовой доли глютена

Table 1. Accuracy, correctness, repeatability and reproducibility values of the gluten mass fraction measurement technique

| Показатель повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_{R\phi}$ , % | Показатель воспроизводимости (относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости единичного результата измерений), $\sigma_{R\phi}$ , % | Показатель правильности (границы относительной неисключенной систематической погрешности измерений при доверительной вероятности $P=0,95$ ), $\pm\delta_{\phi}$ , % | Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности $P=0,95$ ), $\pm\delta_{\phi}$ , % |
|--|--|---|---|
| 10,0   | 15,0   | 6,6   | 30,0  |

подготовленном согласно процедуре, описанной в методике (соотношение масса/объем 1:10), для различных проламинов приведена в табл. 2.

Методики качественного и количественного анализа глютена в продуктах переработки зерна подтвердили свою применимость по результатам межлабораторных сравнительных (сличительных) испытаний по определению показателей качества макаронных изделий, организованных в соответствии с ГОСТ ISO/IEC17043–2013. Начаты работы по разработке стандартного образца [19].

Методика измерений может быть использована для подтверждения соответствия продукции обязательным требованиям, установленным в техническом регламенте Таможенного союза ТР ТС 027/2012.

Первый документ серии «Методики идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов белкового растительного происхождения в пробах всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, с помощью наборов реагентов для иммуноферментного анализа производства ООО «ХЕМА». Часть 1» включает следующие методики качественного и количественного анализа неинфекционных пищевых аллергенов белкового растительного происхождения:

1) *методика качественного скринингового анализа на наличие или отсутствие антигена соевого ингибитора трипсина в исследуемых пробах с помощью набора реагентов «ХЕМАТест Соя»*

Методика распространяется на пробы всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, возникающих в процессе ее производства (изготовления), хранения, перевозки (транспортирования), реализации и утилизации, а также смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, и устанавливает процедуру качественного скринингового анализа исследуемых проб на наличие или отсутствие антигена

соевого ингибитора трипсина с помощью иммунохроматографической тест-полоски из набора «ХЕМАТест Соя» производства ООО «ХЕМА».

Соевые ингибиторы трипсина (далее – СИТ) – это белки, содержащиеся в семенах сои в количестве до 25 % от общей белковой массы [20], которые препятствуют протеканию процессов переваривания пищи за счет подавления активности ферментов трипсина и химотрипсина, вызывая аллергические реакции. Основными, идентифицированными и хорошо изученными являются трипсиновый ингибитор Кунитца, изоформы которого имеют молекулярные массы 20–25 кДа, а также ингибитор Баумана–Бирка с молекулярной массой 8 кДа. Наличие в структуре ингибиторов дисульфидных связей обеспечивает высокую стабильность молекулы при различных воздействиях.

«ХЕМАТест Соя» основан на иммунохроматографическом принципе и использует комбинацию моноклональных антител, которая позволяет обнаруживать СИТ. Целевой антиген связывается специфическими антителами, прикрепленными к окрашенным микрочастицам. Затем этот комплекс мигрирует в тестовую линию, где связывается с другим специфическим антителом, образуя цветную линию, указывающую на положительный результат. Нижний предел обнаружения антигена СИТ в экстракте составляет около 1 мг/кг (ppm), верхний предел обнаружения – около 2000 мг/кг (ppm).

Использование «ХЕМАТест Соя» рекомендовано для проведения качественного скринингового анализа исследуемых проб на наличие или отсутствие антигена СИТ перед применением количественной методики измерений массовой доли СИТ. В случае получения положительного результата делают вывод о том, что антиген СИТ присутствует в исследуемой пробе;

2) *методика измерений массовой доли соевого ингибитора трипсина в пробах всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, методом*

Таблица 2. Характеристики методики качественного определения наличия или отсутствия глютена  
Table 2. Characteristics of the methodology for the qualitative determination of the presence or absence of gluten

| Злак    | Проламин | Предел обнаружения, мг/кг | Диапазон определения, мг/кг |
|---------|----------|---------------------------|-----------------------------|
| пшеница | глиадин  | 2                         | 2–2000                      |
| ячмень  | гордеин  | 2                         | 2–40000                     |
| рожь    | секалин  | 3                         | 3–200000                    |
| овес    | авенин   | 200                       | 200–400000                  |

иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов «Соевый ингибитор трипсина-ИФА» производства ООО «ХЕМА»<sup>3</sup>

Диапазон измерений массовой доли СИТ составляет от 0,5 до 25,0 мкг/кг (ppb) включительно. Предел обнаружения 0,1 мкг/кг (ppb). Метрологические характеристики методики измерений приведены в табл. 3;

3) методика качественного определения наличия или отсутствия неинфекционных пищевых аллергенов белкового растительного происхождения с помощью наборов реагентов производства ООО «ХЕМА»

Номера наборов реагентов производства ООО «ХЕМА», перечень аллергенов с соответствующими целевыми антигенами, а также нижние пределы чувствительности (пределы обнаружения) наличия или отсутствия антигенов (НПЧ) по массе белка аллергена в экстрактах, приготовленных согласно процедуре, описанной в методике, приведены в табл. 4.

Второй документ серии «Часть 2» включает следующие методики качественного и количественного анализа неинфекционных пищевых аллергенов белкового животного происхождения:

1) методика качественного скринингового анализа на наличие или отсутствие антигена молока в исследуемых пробах с помощью набора реагентов «ХЕМАТест Молоко»

Методика распространяется на пробы всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями

<sup>3</sup> Методики идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов белкового растительного происхождения в пробах всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, с помощью наборов реагентов для иммуноферментного анализа производства ООО «ХЕМА». Часть 1 // Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений : официальный сайт. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/16/items/1401610>

к пищевой продукции, возникающих в процессе ее производства (изготовления), хранения, перевозки (транспортирования), реализации и утилизации, а также смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, и устанавливает процедуру качественного скринингового анализа исследуемых проб на наличие или отсутствие антигена молока с помощью иммунохроматографической тест-полоски из набора «ХЕМАТест Молоко» производства ООО «ХЕМА».

«ХЕМАТест Молоко» основан на иммунохроматографическом принципе и использует комбинацию моноклональных антител, которая позволяет обнаруживать антиген молока. Нижний предел обнаружения антигена молока в экстракте составляет около 1 мг/кг (ppm).

Использование «ХЕМАТест Молоко» рекомендовано для проведения качественного скринингового анализа исследуемых проб на наличие или отсутствие антигена молока перед применением количественной методики измерений массовой доли суммы казеинов. В случае получения положительного результата делают вывод о том, что антиген молока присутствует в исследуемой пробе;

2) методика измерений массовой доли суммы казеинов в пробах всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, методом иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов «Молоко-ИФА» производства ООО «ХЕМА»<sup>4</sup>

<sup>4</sup> Методика измерений массовой доли суммы казеинов в пробах всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, методом иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов «Молоко-ИФА» производства ООО «ХЕМА», содержащаяся в документе «Методики идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов белкового животного происхождения в пробах всех видов

Таблица 3. Значения показателей точности, правильности, повторяемости и воспроизводимости методики измерений массовой доли СИТ

Table 3. Accuracy, correctness, repeatability and reproducibility of the technique for measuring the mass fraction of soybean trypsin inhibitor

| Показатель повторяемости (относительное среднее квадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_{r_0}$ , % | Показатель воспроизводимости (относительное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости единичного результата измерений), $\sigma_{R_0}$ , % | Показатель правильности (границы относительной неисключенной систематической погрешности измерений при доверительной вероятности $P=0,95$ ), $\pm\delta_c$ , % | Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности $P=0,95$ ), $\pm\delta$ , % |
|--|--|--|--|
| 13   | 18   | 19   | 40   |



Таблица 4. Характеристики методики качественного определения наличия или отсутствия неинфекционных пищевых аллергенов белкового растительного происхождения  
 Table 4. Characteristics of the methodology for the qualitative determination of the presence or absence of non-infectious food allergens of plant protein origin

| Номер набора | Аллерген         | Целевой антиген   | НПЧ, мг/кг (ppm) |
|--------------|------------------|---|------------------|
| K371P        | Пекан            | <i>Ca i1</i> – специфический фрагмент 2 S альбумина пекана                            | 0,4              |
| K371W        | Грецкий орех     | <i>Jug r4</i> – специфический фрагмент 11 S глобулина грецкого ореха                  | 5,0              |
| K372         | Фундук           | <i>Cor a 9</i> – специфический фрагмент 11 S глобулина фундука                        | 0,003            |
| K373         | Арахис           | <i>Ara h1</i> – 7 S вицилин-подобный глобулин арахиса                                 | 0,005            |
| K374         | Миндаль          | <i>Pru du 6</i> – специфический фрагмент 11 S глобулина миндаля                       | 0,006            |
| K375         | Макадамия        | <i>Mac i1</i> и <i>Mac i2</i> – специфические фрагменты 11 S глобулина макадамии      | 1,0              |
| K376         | Кешью            | <i>Ana o1</i> – специфический фрагмент 11 S легумина кешью                            | 1,0              |
| K377         | Фисташка         | <i>Pis v2</i> – специфический фрагмент 11 S легумина фисташки                         | 1,0              |
| K378         | Бразильский орех | <i>Ber e2</i> – специфический фрагмент 11 S глобулина бразильского ореха              | 1,0              |
| K385         | Люпин            | <i>Lup a5</i> – специфический фрагмент профилина люпина                               | 0,32             |
| K389         | Кунжут           | <i>Ses i2</i> – специфический фрагмент 2 S альбумина кунжута                          | 0,14             |
| K392         | Сельдерей        | <i>Api g1</i> – специфический фрагмент, связанный с патогенезом белок PR-10 сельдерея | 0,4              |
| K395         | Горчица          | <i>Sin a1</i> – специфический фрагмент 2 S альбумина горчицы                          | 0,10             |

Казеинами называют группу белков, входящих в состав коровьего молока наряду с сывороточными белками. Пищевую анафилаксию могут вызывать как сывороточные, так и казеиновые белки. На данный момент аллергенность казеинов не может быть устранена при использовании известных способов: нагревания, химической и ферментативной (например, створаживание) обработки. Казеины подразделяются на фракции  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  и  $\kappa$  (19–25 кДа), соотношение которых относительно постоянно и составляет 37, 13, 37, 13% соответственно. Среди казеинов наибольший вклад в пищевую аллергию вносит  $\beta$ -казеин, состоящий из 209 аминокислот

пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, с помощью наборов реагентов для иммуноферментного анализа производства ООО «ХЕМА». Часть 2 // Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений : официальный сайт. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/16/items/1402514>

и имеющий 12 генетических вариантов: A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2 и I, различающихся по структуре [21, 22].

Массовая доля суммы казеинов, измеряемая по методике, представляет собой суммарное содержание казеинов четырех фракций –  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  и  $\kappa$ .

Диапазон измерений массовой доли суммы казеинов составляет от 0,5 до 25,0 мг/кг (ppm) включительно. Предел обнаружения 0,10 мг/кг (ppm). Коэффициент перекрестно-реагирующих производных соединений (перекрестной чувствительности) суммы казеинов фракций  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  и  $\kappa$  составляет 100%, казеина фракции  $\gamma$  менее 0,1%.

Значения показателей точности в относительной форме методики измерений совпадают со значениями, указанными в табл. 3;

3) методика качественного определения наличия или отсутствия неинфекционных пищевых аллергенов белкового животного происхождения с помощью наборов реагентов производства ООО «ХЕМА»

Номера наборов реагентов производства ООО «ХЕМА», перечень аллергенов с соответствующими целевыми антигенами, а также нижние пределы чувствительности (пределы обнаружения) наличия или отсутствия антигенов (НПЧ) по массе белка аллергена в экстрактах, приготовленных согласно процедуре, описанной в методике, приведены в табл. 5.

В настоящее время специалисты УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева» и ООО «ХЕМА» проводят работы по разработке методик приготовления однородных и стабильных образцов продуктов питания для проведения межлабораторных сравнительных (сличительных) испытаний с целью внедрения (проверки работоспособности) разработанных методик качественного и количественного анализа неинфекционных пищевых аллергенов белкового растительного и животного происхождения. Планируется участие лабораторий различных предприятий пищевой промышленности, а также референтных центров Россельхознадзора и Роспотребнадзора.

На сегодняшний день в ФИФ ОЕИ отсутствуют стандартные образцы состава пищевых аллергенов, необходимых для контроля результатов идентификации и количественного определения. В связи с этим следующим этапом разработки комплекса метрологического обеспечения идентификации и количественного определения содержания пищевых аллергенов станет разработка и проведение испытаний в целях утверждения типа стандартных образцов состава «большой восьмерки аллергенов» [3, 5] как самых надежных способов контроля получаемых результатов.

### Заключение

В ходе проведенного исследования выполнены работы по разработке и аттестации методик идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов белкового растительного (глютен, арахис, орехи, соевые бобы)

и животного (коровье молоко, куриное яйцо, рыба и морепродукты) происхождения в пробах всех видов пищевых продуктов и объектов, связанных с требованиями к пищевой продукции, смывов, отбираемых с рабочих поверхностей при проведении производственного контроля, с помощью наборов реагентов для иммуноферментного анализа производства ООО «ХЕМА».

Для глютена, соевых бобов и коровьего молока предложена следующая схема проведения анализа: 1) качественный скрининговый анализ исследуемых проб на наличие или отсутствие целевого антигена; 2) количественная оценка содержания антигена в пробах с положительным результатом скринингового тестирования. Планируется внедрение данной схемы для остальных пищевых аллергенов.

Установлены пределы обнаружения методик идентификации неинфекционных пищевых аллергенов белкового животного или растительного происхождения в пробах пищевых продуктов и смывах с рабочих поверхностей. Проведена аттестация методик измерений массовой доли соевого ингибитора трипсина и суммы казеинов, содержащихся в разработанных документах, на соответствие требованиям Федерального закона № 102-ФЗ и ГОСТ Р 8.563-2009.

Выявлена необходимость разработки стандартных образцов состава пищевых аллергенов для контроля результатов идентификации и количественного определения.

Разработанные методики идентификации и количественного определения содержания неинфекционных пищевых аллергенов белкового растительного и животного происхождения позволяют обеспечить безопасность пищевой продукции при установлении соответствия продукции требованиям ТР ТС 022/2011 и ТР ТС 027/2012.

**Благодарности:** Это исследование не получало финансовой поддержки в виде гранта от какой-либо

Таблица 5. Характеристики методики качественного определения наличия или отсутствия неинфекционных пищевых аллергенов белкового животного происхождения

Table 5. Characteristics of the methodology for the qualitative determination of the presence or absence of non-infectious food allergens of protein animal origin

| Номер набора | Аллерген     | Целевой антиген                                    | НПЧ, мг/кг (ppm) |
|--------------|--------------|--|------------------|
| K350         | Ракообразные | специфический фрагмент тропомиозина ракообразных   | 0,22             |
| K355         | Моллюск      | специфический фрагмент тропомиозина моллюсков      | 2,0              |
| K363         | Рыба         | специфический фрагмент тропомиозина рыб            | 0,10             |
| K360X        | Яйцо         | специфический фрагмент овальбумина белка яйца птиц | 0,5              |

организации государственного, коммерческого или некоммерческого сектора.

**Acknowledgments:** This research did not receive financial support in the form of a grant from any governmental, for-profit, or non-profit organizations.

**Вклад соавторов:** Первухина О. Е.– разработка замысла исследования, написание чернового варианта статьи, подготовка визуальных материалов; Сергеева А. С.– курирование данных, проверка и редакция текста статьи; Крашенинина М. П.– курирование исследовательской деятельности, проверка и редакция текста статьи; Студенок В. В.– проведение исследовательских работ; Машков Е. С.– проведение исследовательских работ; Петухов П. А.– разработка концепции исследования, разработка методик, предоставление материалов для исследования; Майгурова В. Н.– проведение исследовательских работ, валидация.

**Contribution of the authors:** Pervukhina O. E.– development of the research concept, writing a draft of the article, preparing visual materials; Sergeeva A. S.– data curation, checking and editing the text of the article; Krasheninina M. P.– curating the research activity, revision of the text; Studenok V. V.– research work;

Mashkov E. S.– research work; Petukhov P. A.– development of the research concept, development of methods, provision of materials for research; Maigurova V. N.– research work, validation.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Материал статьи подготовлен на основе доклада, представленного на V Международной научной конференции «Стандартные образцы в измерениях и технологиях» (Екатеринбург, 13–16 сентября 2022 г.). Переводная версия статьи на английском языке планируется к публикации в книге Sobina E. et al. (eds.). Reference Materials in Measurement and Technology. RMMT 2022. Switzerland: Springer, Cham.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest. The material of the article was prepared on the basis of the report presented at the V International Scientific Conference «Reference Materials in Measurement and Technology» (Yekaterinburg, September 13–16, 2022). A translated version of the article in English is planned for publication in the book Sobina E. et al. (eds.). Reference Materials in Measurement and Technology. RMMT 2022. Switzerland: Springer, Cham.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Пищевая аллергия. Диагностика, лечение и профилактика: учебное пособие / Т. С. Лепешкова [и др.]. Екатеринбург: УГМУ, 2021. 113 с.
2. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология. Одесса: Астро-принт, 1999. 603 с.
3. Heggum C. Codex Alimentarius // Encyclopedia of Dairy Sciences (Third edition). 2022, P. 726–736. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00241-5>
4. Пищевая аллергия: клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации. 2018. 50 с.
5. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy / A. Muraro [et al.] // Allergy. 2014. Vol. 69, № 8. P. 1008–25. <https://doi.org/10.1111/all.12429>
6. Liu Q., Lin S., Sun N. How does food matrix components affect food allergies, food allergens and the detection of food allergens? A systematic review // Trends in Food Science & Technology. 2022. Vol. 127. P. 280–290. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.07.009>
7. Recent advances and challenges in food-borne allergen detection / A. Sena-Torralba [et al.] // TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2020. Vol.132. P. 116050. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116050>
8. Allergen quantitative risk assessment within food operations: Concepts towards development of practical guidance based on an ILSI Europe workshop / B. C. Remington [et al.] // Food Control. 2022. Vol. 138. P. 108917. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108917>
9. Илларионова Е. А., Сыроватский И. П. Основы метода масс-спектрометрии. Практическое применение метода: Учебное пособие. Иркутск: ИГМУ, 2021. 49 с.
10. Determination of egg and milk allergen in food products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on signature peptides and isotope-labeled internal standard / S. Fan [et al.] // Food Science and Human Wellness. 2023. Vol.12, № 3. P. 728–736. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.09.006>
11. Advanced DNA- and protein-based methods for the detection and investigation of food allergens / M. Prado [et al.], Ortea I., Vial S., Rivas J., Calo-Mata P., Barros-Velázquez J. // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2016. Vol. 56, № 15. P. 2511–2542. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.873767>
12. Биосенсоры: устройство, классификация и функциональные характеристики / А. А. Карякин [и др.] // Сенсор. 2002. № 1. С. 16–24.
13. Emerging electrochemical biosensing approaches for detection of allergen in food samples: A review / K. Sheng [et al.] // Trends in Food Science & Technology. 2022. Vol. 121. P. 93–104. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.033>
14. Методики идентификации и контроля качества молока и молочных продуктов: особенности разработки и применения в сфере технического регулирования / М. Ю. Медведевских [и др.] // Законодательная и прикладная метрология. 2020. № 4(166). С. 13–16.

15. О разработке метрологического обеспечения измерений содержания микробной трансглутаминазы в пищевых продуктах / М. Ю. Медведевских [и др.] // Эталоны. Стандартные образцы. 2020. Т. 16, № 3. С. 53–62. <https://doi.org/10.20915/2687-0886-2020-16-3-53-62>
16. Студенок В. В., Медведевских М. Ю., Сергеева А. С. Метрологическое обеспечение иммуноферментного анализа. Состояние и перспективы развития // Стандартные образцы в измерениях и технологиях: тезисы докладов IV Междунар. науч. конф., Санкт-Петербург, 1–3 декабря 2020 г. Екатеринбург: УНИИМ, 2020. С. 110–111.
17. Sandwich-type immunosensors and immunoassays exploiting nanostructure labels: A review / Pei X. [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. 2013. Vol. 758, № 3. P. 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.10.060>
18. Codex Alimentarius : Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten. 1979 (adopted 1979; amended 1983 and 2015; revised 2008). CXS118–1979 // ISDI. URL: <https://www.isdi.org/wp-content/uploads/2020/04/CXS-118-1979.pdf>
19. О ходе разработки стандартного образца глютена / М. П. Крашенинина [и др.] // Стандартные образцы в измерениях и технологиях: тезисы докладов III Междунар. науч. конф. Екатеринбург, 11–14 сентября 2018 г. Екатеринбург: УНИИМ, 2018. С. 97–99.
20. Anderson R. L., Wolf W. J. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing // *Journal of Nutrition*. 1995. Vol. 125, № 3. Suppl. P. 581S–588S. [https://doi.org/10.1093/jn/125.3\\_Suppl.581S](https://doi.org/10.1093/jn/125.3_Suppl.581S)
21. Milk allergens, their characteristics and their detection in food: A review / L. Monaci [et al.] // *European Food Research and Technology*. 2006. Vol. 223, № 2. P. 149–179. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0178-8>
22. Swaisgood H. E. Review and update of casein chemistry // *Journal of Dairy Science*. 1993. Vol. 76, № 10. P. 3054–3061. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77645-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77645-6)

## REFERENCE

1. Lepeshkova T. S., Beltiukov E. K., Naumova V. V., Smolenskaia O. G., Tsarkova S. A., Saveleva E. V. et al. food allergy. Diagnosis, treatment and prevention: training manual. Yekaterinburg: UGMU; 2021. 113 p. (In Russ.).
2. Drannik G. N. *Clinical Immunology and Allergology*. Odessa: Astro-print, 1999. 603 p. (In Russ.).
3. Heggum C. Codex Alimentarius. *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Third edition). 2022, P. 726–736. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00241-5>
4. Food allergy: clinical recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2018. 50 p.
5. Muraro A., Werfel T., Hoffmann-Sommergruber K., Roberts G., Beyer K., Bindslev-Jensen C. et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy*. 2014;69(8):1008–25. <https://doi.org/10.1111/all.12429>
6. Liu Q., Lin S., Sun N. How does food matrix components affect food allergies, food allergens and the detection of food allergens? A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*. 2022;127:280–290. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.07.009>
7. Sena-Torralba A., Pallás-Tamarit Y., Morais S., Maquieira A. Recent advances and challenges in food-borne allergen detection. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2020;132:116050. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116050>
8. Remington B. C., Baumert J., Blom W. M., Bucchini L., Buck N. Allergen quantitative risk assessment within food operations: Concepts towards development of practical guidance based on an ILSI Europe workshop. *Food Control*. 2022;138:108917. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108917>
9. Illarionova E. A., Syrovatskii I. P. *Fundamentals of the mass spectrometry method. Practical application of the method: training manual*. Irkutsk: IGMU, 2021. 49 p. (In Russ.).
10. Fan S., Ma J., Liu Z., Ning Y., Cao M., Li Q. et al. Determination of egg and milk allergen in food products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on signature peptides and isotope-labeled internal standard. *Food Science and Human Wellness*. 2023;12(3):728–736. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.09.006>
11. Prado M., Ortea I., Vial S., Rivas J., Calo-Mata P., Barros-Velázquez J. Advanced DNA- and protein-based methods for the detection and investigation of food allergens. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2016; 56(15):2511–2542. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.873767>
12. Kariakin A. A., Ulasova E. A., Vagin M. Iu., Kariakina E. E. Biosensors: device, classification and functional characteristics. *Sensor*. 2002;(1):16–24. (In Russ.).
13. Sheng K., Jiang H., Fang Y., Wang L., Jiang D. Emerging electrochemical biosensing approaches for detection of allergen in food samples: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2022;121:93–104. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.033>
14. Medvedevskikh M. Yu., Medvedevskikh S. V., Sergeeva A. S., Petukhov P. A. Methods of identification and quality control of milk and dairy products: development and application in the field of technical regulation. *Zakonodatel'naya i prikladnaya metrologiya = Legal and Applied Metrology*. 2020;4(166):13–16. (In Russ.).
15. Medvedevskikh M. Yu., Sergeeva A. S., Studenok V. V., Petukhov P. A. Development of metrological assurance of measurement of microbial transglutaminase content in nutritive products. *Measurement Standards. Reference Materials*. 2020;16(3):53–62. (In Russ.). <https://doi.org/10.20915/2687-0886-2020-16-3-53-62>
16. Studenok V. V., Medvedevskikh M. Yu., Sergeeva A. S. Metrological assurance of enzyme multiplied immunoassay. Current stage and development prospects. In: *Reference materials in measurement and technology: Collection of works IV international scientific conference*, 1–3 December 2020, St. Petersburg, Russia. Екатеринбург: УНИИМ; 2020. P. 110–111. (In Russ.).

17. Pei X., Zhang B., Tang J., Liu B., Lai W., Tang D. Sandwich-type immunosensors and immunoassays exploiting nanostructure labels: A review. *Analytica Chimica Acta*. 2013;758(3):1–18. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.10.060>
18. Codex Alimentarius : Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten. 1979 (adopted 1979; amended 1983 and 2015; revised 2008). CXS118–1979. Available at: <https://www.isdi.org/wp-content/uploads/2020/04/CXS-118–1979.pdf>
19. Krasheninina M. P., Sergeeva A. S., Medvedevskikh M. Yu., Miluyshkin A. L., Shatalov I. S. On the development of a certified reference material of gluten. In: *Reference materials in measurement and technology: Collection of works III international scientific conference*, Yekaterinburg, 11–14 September 2018. Yekaterinburg: UNIIM, 2018. P. 97–99. (In Russ.).
20. Anderson R. L., Wolf W. J. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *Journal of Nutrition*. 1995;125(3Suppl): 581S–588S. [https://doi.org/10.1093/jn/125.3\\_Suppl.581S](https://doi.org/10.1093/jn/125.3_Suppl.581S)
21. L. Monaci Tregoa V., van Hengel A. J. et al. Milk allergens, their characteristics and their detection in food: A review. *European Food Research and Technology*. 2006;223(2):149–179. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0178-8>
22. Swaisgood H. E. Review and update of casein chemistry. *Journal of Dairy Science*. 1993;76(10):3054–3061. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77645-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77645-6)

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

ГОСТ ISO/IEC17043–2013 Оценка соответствия. Основные требования к проведению проверки квалификации = Conformity assessment. General requirements for proficiency testing. М.: Стандартиформ, 2013. 40 с.

ГОСТ 8.563–2009 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений = State system for ensuring the uniformity of measurements. Procedures of measurements. М.: Стандартиформ, 2011. 20 с.

ГОСТ Р 5725–2–2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений = Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 2. Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. М.: Издательство стандартов, 2002. 46 с.

ГОСТ 33838–2016 Продукты переработки зерна. Иммуноферментный метод определения глютена = Products of grain processing. Immunoassay method for the determination of gluten. М.: Издательство стандартов, 2002. 46 с.

Об обеспечении единства измерений: Федер. закон Рос. Федерации от 26 июня 2008 г. № 102-ФЗ: принят Гос. Думой Федер. Собрания Рос. Федерации 11 июня 2008 г.: одобрен Советом Федерации Федер. Собр. Рос. Федерации 18 июня 2008 г. (в редакции от 11 июня 2021 г. № 170-ФЗ) // Официальный интернет-портал правовой информации [сайт]. URL: <http://pravo.gov.ru/proxy/ips/?docbody=&firstDoc=1&lastDoc=1&nd=102122832>

О техническом регулировании: Федер. закон Рос. Федерации от 27 декабря 2002 г. № 184–ФЗ: принят Гос. Думой Федер. Собрания Рос. Федерации 15 декабря 2002 г.: одобрен Советом Федерации Федер. Собр. Рос. Федерации 18 декабря 2002 г. (в редакции от 02 декабря 2021 г. № 351-ФЗ) // Рос. газета. 2002. 31 декабря.

РМГ 61–2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки = State system for ensuring the uniformity of measurements. Accuracy, trueness and precision measures of the procedures for quantitative chemical analysis. Methods of evaluation. М.: Стандартиформ, 2013.

ТР ТС 022/2011 Технический регламент Таможенного союза «Пищевая продукция в части ее маркировки» // Законы, кодексы и нормативно-правовые акты Российской Федерации.  
URL: <https://legalacts.ru/doc/reshenie-komissii-tamozhennogo-soiuza-ot-09122011-n-881-o/>

ТР ТС 027/2012 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности отдельных видов специализированной пищевой продукции, в том числе диетического лечебного и диетического профилактического питания» // Электронный фонд актуальных правовых и нормативно-технических документов. URL: <https://docs.cntd.ru/document/902352823>

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Первухина Олеся Евгеньевна** – инженер лаборатории метрологии влагометрии и стандартных образцов УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

Россия, 620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, 4  
e-mail: [pervuhinaoe@uniim.ru](mailto:pervuhinaoe@uniim.ru)

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Olesya E. Pervukhina** – Engineer 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: [pervuhinaoe@uniim.ru](mailto:pervuhinaoe@uniim.ru)



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

Россия, 620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, 4

e-mail: sergeevaas@uniim.ru

Researcher ID: AAE-7942-2021

<https://orcid.org/0000-0001-8347-263>

**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»

Россия, 620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, 4

e-mail: krasheninina\_m@uniim.ru

Researcher ID B-8302-2019

**Студенок Валерия Владимировна** – заместитель заведующего отделом Государственной службы стандартных образцов УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

Россия, 620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, 4

e-mail: studenok@list.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3363-3133>

**Машков Евгений Сергеевич** – инженер лаборатории метрологии влагометрии и стандартных образцов УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

Россия, 620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, 4

**Петухов Павел Александрович** – директор по развитию ООО «ХЕМА»

Россия, 105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, 48,1

e-mail: onco.xema@gmail.ru

**Майгурова Валентина Николаевна** – менеджер клиентского сервиса ООО «ХЕМА»

Россия, 105264, г. Москва, ул. 9-я Парковая, 48,1

e-mail: onco.xema@gmail.ru

**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/0000-0001-8347-263>

**Maria P. Krasheninina** – Cand. Sci. (Eng.), Assistant Scientific Custodian of the GET 173, Scientific Custodian of the GVET 208–1, 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: krasheninina\_m@uniim.ru

Researcher ID B-8302-2019

**Valeriya V. Studenok** – Engineer of the Department of the State Service of Reference Materials, UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleev Institute for Metrology

4 Krasnoarmeyskaya st., Yekaterinburg, 620075, Russia

e-mail: studenok@list.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3363-3133>

**Evgenii S. Mashkov** – Engineer 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

**Pavel A. Petukhov** – Development Director, XEMA LLC

48,1 Parkovaia st., Moscow, 105264, Russia

e-mail: onco.xema@gmail.ru

**Valentina N. Maigurova** – Customer Service Manager, XEMA LLC

48,1 Parkovaia st., Moscow, 105264, Russia

e-mail: onco.xema@gmail.ru