ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

ЗАЛАЛСЫЗДАНДЫРЫЛҒАН СҮТ

Құрамындағы лаутулоза мөлшерін анықтау
Жоғары әсерлі сұйықтық хроматографиясын қолданып жасалатын әдіс

МОЛОКО СТЕРИЛИЗОВАННОЕ

Определение содержания лактулозы
Метод с применением жидкостной хроматографии высокого разрешения

ҚР СТ ISO 11868-2013

ISO 11868:2007 Heat-treated milk - Determination of lactulose content - Method using high-performance liquid chromatography (IDT)

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігінің
Техникалық реттеу және метрология комитеті
(Мемстандарт)

Астана

gost.e-ecolog.ru

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

ЗАЛАЛСЫЗДАНДЫРЫЛҒАН СҮТ

Құрамындағы лаутулоза мөлшерін анықтау Жоғары әсерлі сұйықтық хроматографиясын қолданып жасалатын әдіс

ҚР СТ ISO 11868-2013

ISO 11868:2007 Heat-treated milk - Determination of lactulose content - Method using high-performance liquid chromatography (IDT)

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігінің Техникалық реттеу және метрология комитеті (Мемстандарт)

Астана

Алғысөз

1 «Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты» Республикалық мемлекеттік кәсіпорны мен стандарттау жөніндегі 44 «Технолог» техникалық комитеті **ӘЗІРЛЕП ЕНГІЗДІ**

2 Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитеті Төрағасының 2013 жылғы 13 қарашадағы № 526-од бұйрығымен **БЕКІТІЛІП ҚОЛДАНЫСҚА ЕНГІЗІЛДІ**

3 Осы стандарт ISO11868:2007Heat-treatedmilk–Determinationoflactulosecontent – Methodusinghigh-performanceliquidchromatography (Залалсыздандырылған сүт. Лактулоза мөлшерін анықтау. Жоғары әсерлі сұйықтық хроматографиясын қолданып жасалатын әдіс) халықаралық стандартына қатынасы бойынша бірдей.

Осы стандартқа мәтінде курсивпен бөлінген, Мемлекеттік техникалық реттеу жүйесінің құрылу ерекшеліктеріне байланысты редакциялық өзгертулер енгізілді.

ISO 11868:2007Heat-treatedmilk –Determinationoflactulosecontent –Methodusinghigh-performanceliquidchromatography халықаралық стандартын ISO/ТК 34, Тамақ өнімдері техникалық комитеті, ІК 5, Сүт және сүт өнімдер ішкі комитеті мен Халықаралық сүт өнімдері федерациясы (IDF) әзірледі.

Аударма ағылшын тілінен (en)

Сәйкестік дәрежесі – бірдей (IDT)

4 БІРІНШІ ТЕКСЕРУ МЕРЗІМІ 2019 жыл
ТЕКСЕРУ КЕЗЕҢДІЛІГІ 5 жыл

5 АЛҒАШ РЕТ ЕНГІЗІЛДІ

Осы стандартқа енгізілетін өзгерістер туралы ақпарат «Стандарттау жөніндегі нормативтік құжаттар» ақпараттық көрсеткіштерінде жыл сайын, сондай-ақ мәтін өзгерістер мен түзетулер ай сайын басылатын «Ұлттық стандарттар» ақпараттық көрсеткішінде жария етіледі. Осы стандартты қайта қарау (өзгертілу) жою жағдайында, тиісті хабарлар ай сайын басылатын «Ұлттық стандарттар» ақпараттық көрсеткішінде жария етіледі».

Осы стандарт Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігінің Техникалық реттеу және метрология комитетінің рұқсатынсыз ресми басылым ретінде толықтай және бөлшектеліп басылып шығарыла, көбейтіле және таратыла алмайды.

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

ЗАЛАЛСЫЗДАНДЫРЫЛҒАН СҮТ

Құрамындағы лаутулоза мөлшерін анықтау
Жоғары әсерлі сұйықтық хроматографиясын қолданып жасалатын әдіс

Енгізілген күні 2014.07.01

1 Қолданылу саласы

Осы стандарт залалсыдандырылған сүт, майсыздандрылған сүт, ішінара майсыздандырылыған сүт немесе шөлмектерде заласыздандырылған сүттен, жоғары температурамен өңдеу (ЖТӨ) көмегімен әр түрлі сүтті заласыздандыру үшін жоғары әсерлі сұйықтық хроматографиясын қолданып жасалатын әдіспен алынған майы алынбаған сүт құрамындағы лактулоза мөлшерін анықтау әдісін анықтайды

Әдіс лактулоза мөлшерін 200 мг/л-ден 1500 мг/л-ге дейінгі өрісте және залалсыздандырылған сүттің барлық түріне қолданумен сыналған.

Осы стандартта сипатталған әдіс, даулы мәселелер туындаған жағдайларда қолданылуы керек.

2 Терминдер мен анықтамалар

Осы стандартта төменде көрсетілгендергенге сәйкестелген анықтамалармен келесі терминдер қолданылады:

2.1 **Майсызданған, ішінара майсызданған және майы алынбаған сүттер құрамындағы лактулоза мөлшері** (lactulose content of skimmed, partially skimmed or whole milk): Осы стандартта белгіленген процедуралар бойынша анықталған зат массасы

ЕСКЕРТПЕ Лактулоза құрамы сынаманың бір литрінс миллиграмда көрсетіледі.

3 Әдіс мәні

Майлар мен протеиндер сүт сынамасынан шығарылады, әрі қарай ол сүзіледі. Сүзбедегі латулоза мөлшері жоғары әсерлі сұйықтық хроматографиясын (бұдан әрі - ЖӘСХ) әдісімен анықталады. Сынама үшін алынған нәтиже, құрамында лактулоза жоқ, майсыздандырылған сүттен тұратын белгілі мөлшерде лактулоза қосу арқылы стандартты сынамаға арналған нәтижелермен салыстырмалы түрде бағаланады.

4 Реактивтер

Егер басқаша келісілмеген болса «таза анализге арналған» білікті реактивтерді ғана және тазаланбаған немесебаламалы тазаланған су қолданады

4.1 Лактулоза моногидраты

4.2 Лактулоза, тазалығы 99 % кем емес.

4.3 Сынаманы алдын ала өңдеуге арналған ерітінді

Мырыш ацетат дигидратының 91,0 г, фосфорлы вольфрам қышқылының $Zn(CH_3COO)_2{\cdot}2H_2O$, 54,6 г, $H_3[P(W_3O_{10})_4]{\cdot}24H_2O$ және 58,1 мл мұздды (сусыз) сірке қышқылын өлшеуші шыны сауытында 1000 мл суда ерітеді және белгіге дейін сумен жеткізеді.

4.4 Элюэнт

0,45 мкм (5.8 қарау) диаметрлі мембранды сүзбеден ЖӘСХ топтағы суды сүзеді және ерітілген ауаны жою үшін қолданар алдында қайнатады.

Еріген ауаны жою үшін қайнатылған судың орнына, бірдей нәтиже беретін басқа әдістер (мысалға, гелді барботаж) қолданылуы мүмкін.

ЕСКЕРТПЕ Әдетте мұндай әдістер қымбат тұрады.

4.5 Стандартты үлгілер

4.5.1 Лактулозаның стандартты ерітіндісі

0,1 мг дейінгі дәлділікпен 75 мг лактулоза (4.2 қарау) өлшеп 100 мл (5.6 қарау) өлшеуші шыны сауытына өлшеп салады. Суда ерітеді және белгіге дейін сумен жеткізеді.

4.5.2 Төменде көрсетілген әдіс бойынша анықталғанға сәйкес құрамында лактулоза жоқ залалсыздандырылған майсыздандырылған сүт.

Құрамында залалсыздандырылған майсыздандырылған сүтке лактулозаның стандартты ерітіндісіне (8.2 қарау) сәйкес 5; 10; 15 және 20 мл қосу арқылы алынған лактулозаны 1 литрге 250; 500; 750 және1000 мг шамасында залалсыздандырылған майсыздандырылған сүтпен бірдей сынаманы қолданады.

5 Аспаптар мен материалдар

Осы әдісті қолдану үшін келесі зертханалық аспаптарды қолданады:

5.1 Арнайы I топты аналитикалық таразы.

5.2 7 см диаметрлі шыны құйғыш.

5.3 Сүзгіштер:

5.3.1 12,5 см диаметрлі орташа ұсақ тесікті сүзгіш қағаз.

5.3.2 Тесігі 0,45 мкм диаметрлі целлюлоза-ацетатты мембраналар.

5.4 25 мл сыйымдылықты өлшеуші цилиндр.

5.5 0,1 мл бөліндісімен 10 мл сыйымдылығы бар градуирленген тамызғыш.

5.6 50 мл, 10 мл және 1000 мл сыйымдылықты бір белгісі бар өлшеуші шыны сауыты.

5.7 5 мл, 10 мл және 20 мл сыйымдылықты біл белгісі бар тамызғыш.

5.8 Тесік диаметрі 0,45 мкм сүзгішпен шыны сүшгішті құрылғы.

5.9 Тығыны бар 20 мл сыйымдылықты шыны сауыт.

5.10 Ультрадыбысты монша.

5.11 Сулы вакуумдық сорғыш.

5.12 Төменде көрсетілген ЖӘСХ құрылғысы.

5.12.1 Анализ үшін колонка алдына берерге дейін 90 °С ± 2 °С элюент температурасын ұстап тұруға арналған қыздырғыш пен магнитті бұлғаушы.

5.12.2 Колонкадағы қысымының 1 % түскен (1,5 Мпа-ден 4 Мпа дейін) аз пульстаумен 0,3 мл/мин-тен 0,6 мл/мин дейін шығын көөемін беретін сорғыш.

5.12.3 HPX-87 P (Bio-Rad, 30 см × 0,78 см)[1)], немесе 8 % тігілу деңгейімен полистирол-дивинилбензолды сополимерде қорғаныс-сульфатты катионитпен толтырылған колонка. Колонка алды Био – Рад[1)] (H^+-катионитпен толтырылған 3 см × 0,46 см таспа және карбонат-анионитпен толтырылған 3 см × 0,46 см таспа) деозол жүйесінен немесе тиімді эквивалент жүйесінен тұрады.

Колонка алды қызмет ету кезенін ұлғайтады және аналитикалық колонкаларды ұзартады, сонымен қоса проблемаларды азайтады және бөлу қателіктерін айтарлықтай төмендетеді. ЖӘСХ жүйесі орналастыруды жоғалта бастағанда, кедергі негізгі колонкаға жеткенге дейін қолданылған колонка алдын өзгертеді.

5.12.4 Термостатикалық колонка пеші температураны 75 °С ± 1 °С ұстауға қабілетті.

Колонка алды пеш сыртында орнатылуы тиіс. Негізгі колонкаға тартылған пештегі түтік 75 °С дейінгі элюент температурасының қысымы үшін 10 см-ден 15 см дейінгі ұзындықта болуы керек, өзгеше болған жағдайда айтарлықтай жалпы олқылықтар орын алуы мүмкін.

5.12.5 Бүгілу деңгейін көрсететін детектор суда өлшенген бүгілу көрсеткіш бірліктерін 5×10^{-9} кем шу деңгейімен жоғары сезімтел болуы керек.

Ішкі термостат белгіленген базалық сызықтарды алу үшін қажетті бөлме температурасынан жоғары белгіленуі тиіс. Көп жағдайда 35 °С-ден 40 °С дейінгі температура ұсынылады.

ЕСКЕРТПЕ Бүгілу көрсеткішінің жоғары сезімтал мониторингі жылу өзгерістерінің салдарынан базалық сызықтар дрейфімен кедергі жасалады. Базалық сызықтар дрейфін төмендету үшін температураның өзгеруіне жол бермеу мақсатында жайды конлиуионирлеуде ЖӘСХ құрылысын қолдануға кеңес беріледі.

5.12.6 Жоғары шыңының өлшеуге арналған интегратор

Интеграцияның басқару параметрлері (мысалға, шың жалпақтығы, көлбеу қозғалуы, шыңның табалдырық көлемі) мұқият таңдалуы тиіс.

Интегратор лактоза мен лактулоза шыңдарының арасында перпендикулярды түсіретіндей дәрежеде ретке келтірілуі тиіс. (Майсыздандыру сүттегі глюкозаның әр түрлі мөлшерде болу салдарынан дәлсіздікке алып келеді). Интегратор лактулозаның барлық концентрациялары кезінде төмендеу базалық сызыққа дейін жетсе, лактоза және лактулоза шыңдары арасында базалық сызыққа шығар кезде тоқтауы тиіс.

Көптеген интеграторлар автоматты түрде сынақ кезінде интеграция шыңының параметрлеірн өзгертеді. Мүмкіндігіне қарай, бұл функция айтарлықтай қолданысқа жарамды нәтижелерді алу үшін сөнуі тиіс.

ЕСКЕРТПЕ Аспап, өлшеуші ыдыс, реактивтер, аналогиялық метрологиялық сиппаттағы немесе одан да жоғарыларды қолдануға рұқсат беріледі. Қолданыстағы өлшеуші құралдар өлшеу тұтастығын қамтамасыз ету саласындағы заңнамамен сәйкес келуде Қазақстан Республикасының реестріне енгізу және өлшеу құралдарын тексеру, типті бекіту немесе метрологиялық аттестация мақсатында сынақтан өтуге сәйкес келеді.

6 Сынаманы іріктеу

Зерханаға тиісті сынама жіберілуі тиіс. Оған зақым келмеуі керек немесе сақтау немесе жеткізу барасында қандайда бір өзгеріске ұшырамауы керек.

7 Сыналатын сынаманы дайындау

Сынаманы 25 °С ± 5 °С дейін жеткізеді және мұқият араластырады. Егер май біркелкі үлестірілмесе, ақырын 40 °С дейін қыздырылады, тек аудару арқылы араластырады да, тез арада 20 °С ± 2 °С дейін салқындатады.

[1)] НРХ-87 Р (Bio-Rad, 30 см × 0,78 см) және Био – Рад деозолен жүйесі саудалық түрде қол жетімді тиісті құралда қолданылады. Ақпарат осы стандартты қолдану ыңғайлығы үшін келтіріледі және ISO және IDF талаптары болып табылмайды.

Сынамаларды іріктеуді жүзеге асыру осы стандартта көрсетілмеген. Сынаманы іріктеу бойынша ұсыныстар [1] көрсетілген.

Сынаманы ешқандай зақым келтірмей және өзгертпей сақтайды.

8 Әдістеме

8.1 Жұмыс бөлігін даярлау (сынама)

8.1.1 Сыналатын сынамадан 15 мл түтікшемен өлшеп алу (7 бөлімді қарау), 50 мл өлшеуші шыны сауытына салу (5.6 қарау). Өлшеуші цилиндрмен 20 мл су қосу (5.4 қарау) және иірім жасау арқылы араластыру. Сынаманы алдын ала өңдеп алу үшін 5,5 мл ерітіндіні (4.3 қарау) градуирленген түтікгемен қосу (5.5 қарау) және араластыру. Белгіле дейін су қосу және араластыру.

8.1.2 1 сағатқа 25 °С ± 5 °С температурасында қалдыру, сүйзгіш арқылы (5.3.1 немесе 5.3.2 қарау) шыны құйғышты (5.2 қарау) қолданумен сүзу. Бастапқы 5 мл сүзбені алып тастау керек. Сүзбе қалдықтарын таза шыны сауытына жинау.

8.2 Құрамалы сынамаларды дайындау

8.2.1 Жалпы ережелер

Құрамында лактулоза жоқ майсызданған сүттен 15 мл түтікшемен алу (4.5.2), оны 50 мл төрт өлшеуші сауытың әр қайсысына салу.

8.2.2 А құрамалы үлгісі

8.2.2.1 Лактулозасыз (8.2.1) құрамында майсызданған сүт бар 50 мл бірінші өлшеуші сауытқа лактулозаның стандартты ерітіндісін (4.5.1 қарау) түтікшемен 5 мл өлшеу және араластыру.

8.2.2.2 Өлшеуші цилиндрмен 15 мл су қосу (5.4 қарау) және араластыру.

8.2.2.3 Градуирленген түтікшемен (5.5 қарау) алдын ала өңделген сынама үшін (4.3 қарау)5,5 мл ерітінді қосу және араластыру. Белгіге дейін сумен жеткізу және араластыру. 25 °С ± 5 °С температурада 1 сағаттай ерітіндіні ұстағаннан кейін сүзгіш арқылы (5.3.1 немесе 5.3.2 қарау) шыны құйғыш көмегімен (5.2 қарау) сүзбеден өткізу. Сүзбе қалдықтарын таза шыны сауытқа жинау.

8.2.3 В құрамалы үлгісі

Лактулозасыз (8.2.1) құрамында майсызданған сүт бар 50 мл екінші өлшеуші сауытқа лактулозаның стандартты ерітіндісін (4.5.1 қарау) түтікшемен 10 мл өлшеу және араластыру.

Өлшеуші цилиндрмен 10 мл су қосу (5.4 қарау) және араластыру.

8.2.2.3 бойынша жалғастыру

8.2.4 С құрамалы үлгісі

Лактулозасыз (8.2.1) құрамында майсызданған сүт бар 50 мл үшінші өлшеуші сауытқа лактулозаның стандартты ерітіндісін (4.5.1 қарау) түтікшемен 15 мл өлшеу және араластыру.

Өлшеуші цилиндрмен 5 мл су қосу (5.4 қарау) және араластыру.

8.2.2.3 бойынша жалғастыру

8.2.5 D құрамалы үлгі

Лактулозасыз (8.2.1) құрамында майсызданған сүт бар 50 мл төртінші өлшеуші сауытқа лактулозаның стандартты ерітіндісін (4.5.1 қарау) түтікшемен өлшеу.

8.2.2.3. бойынша жалғастыру.

8.3 Хроматографиялық анықтамалар

8.3.1 Сыналатын сынама сүзіндісі (8.1.2-ні қараңыз) мен калибрленген үлгілерді (8.2-ні қараңыз) 3 мл тамшуырмен өлшеп, жеке шыны құтыға (5.9-ды қараңыз) салады. Құтыны су вакуум-сорғыға бекітіп (5.11-ді қараңыз), ультрадыбыстық су моншасында (5.10-ды қараңыз) бөлме температурасында 30 секунд бойы ұстап тұрады да, сүзгіден ерітілген ауаны кетіреді. Көпіруге жол берілмейді.

ЕСКЕРТПЕ Сынамада ауаның болуы лактулозаны ұстап тұру уақытынан кейін теріс шыңның пайыда болуына алып келуі мүмкін.

8.3.2 0,3 мл/мин шығындармен жұмыс істейтін ЖӘСХ аспабына (5.12 қарау) 10 мкл-ден 30 мкл-ге дейін (дәл өлшенген) сүзбе енгізу.

Егер лактулоза құрамы 200 мг/кг сүттен аз болса, шығынды 0,6 мл/мин дейін арттырумен қосылған екі колонконы дәйекті түрде қолданумен анализ жасау қажет.

ЕСКЕРТПЕ Хроматограмма (А қосымшасын қарау) стандартты сынамалар жағдайында да (8.2.2, 8.2.3, 8.2.4 және 8.2.5 қарау) және заласыздандырылған сүтте де 19 минут ұстау уақытымен лактозаның қуатты шәкілден асқан шыңын және 24 минут ұстау уақытындағы лактулозаның минмалды шыңын көрсетеді.

А стандарт үлгісі үшін 5 мм лактулоза шыңының минималды биіктігін қамтамасыз ететін тіркеуші құрылғыны реттеу (плоттер) (8.2.2 қарау). Қолданыстағы колонка мен колонка алдының сапасына байланысты (5.12.3 қарау), лактулозаның дәл бөлетін немесе дәлсіз бөлетін шыңын алу. Лактоза мен лактулоза арасындағы минималды қажетті шешімді анықтау үшін, 50 мл-ге 0,69 г лактоза (4.1 қарау) және 3,75 мг лактулоза (4.2 қарау) құрамды стандартты ерітінді дайындау керек.

Бөлу деңгейін анықтау, R_s, (1) формула бойынша (5 кем болмауы тиіс):

$$R_s = \frac{h_2}{h_v}, \qquad (1)$$

h_2 – лактулоза шыңының биіктігі;

h_V – лактоза және лактулоза шыңдары арасындағы аймақ жалпақтығы.

Келесі сынамаларды арасына алты/он минутты аралықпен енгізу абзал.

8.3.3 Интегратор әр шыңның биіктігін тіркейді, h_1 және h_2; h_1 – бұл лактоза шыңының биіктігі және h_2 – бұл лактулоза шыңының биіктігі.

Егер базалық сызық дрейфі толық шәкілдің 10 % жоғары болса сынама қайтадан енгізілуі тиіс.

Мөлшерлік анықтауға дейін аспап жұмысының бұзылуынан немесеанализ жасалып жатқан сынаманың шығу тегі мен табиғи өзгешеліктері салдарынан кез келген ауытқуларды анықтау үшін хроматограмма түрін анықтау аса маңызды.

Сыналып жатқан сынамадағы лактоза шыңының биіктігі құрамалы үлгілермен салыстырғанда 10 % көбірек ауытқумауы тиіс. Өзгеше жағдайда басқа құрамалы сынамалар дайын болуы қажет.

Үнемі анализ кезінде әр сыналып жатқан сынама топтамасында құрамалы сынамалар болуы тиіс.Әр 10-15 сынаманы қайталап құрамалау.

8.4 Қалпына келтіру

Қажеттілігі туындаған жағдайда стандарттық процедураны толықтыра отырып, қалпына келтіруді жүргізу. Егер сынама құрамында лактулоза мөлшері тең немесе 200 мг/л жоғары болса, қалпына келтіру 99 % кем, анализ қайтадан өткізілуі тиіс.

9 Нәтижедер көрсеткіштері мен есебі

9.1 Калибрлеу

Әр стандартты үлгіні енгізуден және ЖӘСХ аспабымен бөлуден кейін, интегратор келесі шыңдар биіктігін тіркеп отыруы тиіс:

A стандартты үлгісінің лактулоза шыңы биіктігінің сандық мәні – h_{2a};

B стандартты үлгісінің лактулоза шыңы биіктігінің сандық мәні – h_{2b};

C стандартты үлгісінің лактулоза шыңы биіктігінің сандық мәні – h_{2c};

D стандартты үлгісінің лактулоза шыңы биіктігінің сандық мәні – $h_{2\,d}$;

(2) – (5) формуласы бойынша 50 млге миллиграмда A, B, C және D стандарттарында лактулоза концентрациясын $c_{a\text{-}d}$ есептеу (8.2 қарау):

$$c_a = m_L \times 5/100, \quad (2)$$

$$c_b = m_L \times 10/100, \quad (3)$$

$$c_c = m_L \times 15/100, \quad (4)$$

$$c_d = m_L \times 20/100, \quad (5)$$

m_L – стандартты ерітіндідегі лактулоза массасы (4.5.1 қарау).

$h_{2a} - c_a$, $h_{2b} - c_b$, $h_{2c} - c_c$ және $h_{2d} - c_d$; c_a, c_b, c_c және c_d жұптарына арналған ең аз квадраттар әдістері бойынша регрессиясының сықызты регрессиялық анализі – төменде көрсетілген (6) формуладатәуелсіз ауыспалы a және b регрессия коэффициенттерін береді:

$$h_2 = a + b \times c_L \quad (6)$$

h_2 – регрессияда тәуелді ауыспалы болып табылатын лактулоза шыңы биіктігінің сандық мәні;

c_L – регрессияда тәуелсіз ауыспалы болып табылатын 50 млге миллиграмда лактулоз концентрациясының сандық мәні.

9.2 Лактулоза мөлшерін есептеу

Сүт құрамындағы литрде миллиграммен көрсетілген лактулоза мөлшерін есептеу w_L, сыналатын сынамада келесі формула пайдаланылады (7):

$$w_L = \frac{(h_{2s} - a)}{b \times V_s} \times d, \quad (7)$$

где h_{2s} – сыналатын сынаманың лактулоза шыңының биіктігін сандық мәні;

V_s – миллиметрде сыналатын сынама көлемінің сандық мәні (8.1.1 қарау);

d – литрге миллиграммды көрсеткіш алу үшін араластыру коэффициентінің сандық мәні ($d = 10^3$).

10 Нақтылық

10.1 Зертхана аралық сынақтар

Зертхана аралық сынақтар әдістің нақтылығымен В қосымшасы мен [4] көрсетілген. Зертхана аралық сынақтардан алынған мәндер келтірілгендерден басқа, концентрация және матрица өрісіне қолданылуы мүмкін емес.

10.2 Қайталану (Жинақтылық)

Қысқа мерзім ішінде бірдей құрылғыларды қолданы, бір оператор, бір зертханада, бір әдісті қолдана отырып бірдей сынамалардан алынған екі тәуелсіз ұқсас нәтижелер арасындағы абсолюттік айырмашылық 5 % жағдайдан, 47,6 мг/л жоғары болмауы тиіс.

10.3 Жаңғырту

Әр түрлі зертханалрда әр түрлі операторлармен әр түрлі құралдарды пайдалана отырып бірдей сынамада бірдей әдісті қолданудан алынған сынақ нәтижелерінің өзара біркелкілігі арасындағы абсолюттік айырмашылық 5 % жағдайдан, 47,6 мг/л жоғары болмауы тиіс.

11 Сынақ хаттамасы

Сынақ хаттамасы келесілерді белгілеуі тиіс:

a)сынаманы толық идентификациялау үшін қажетті барлық ақпарат;

b) сынаманы іріктеудегі қолданылатын әдіс;

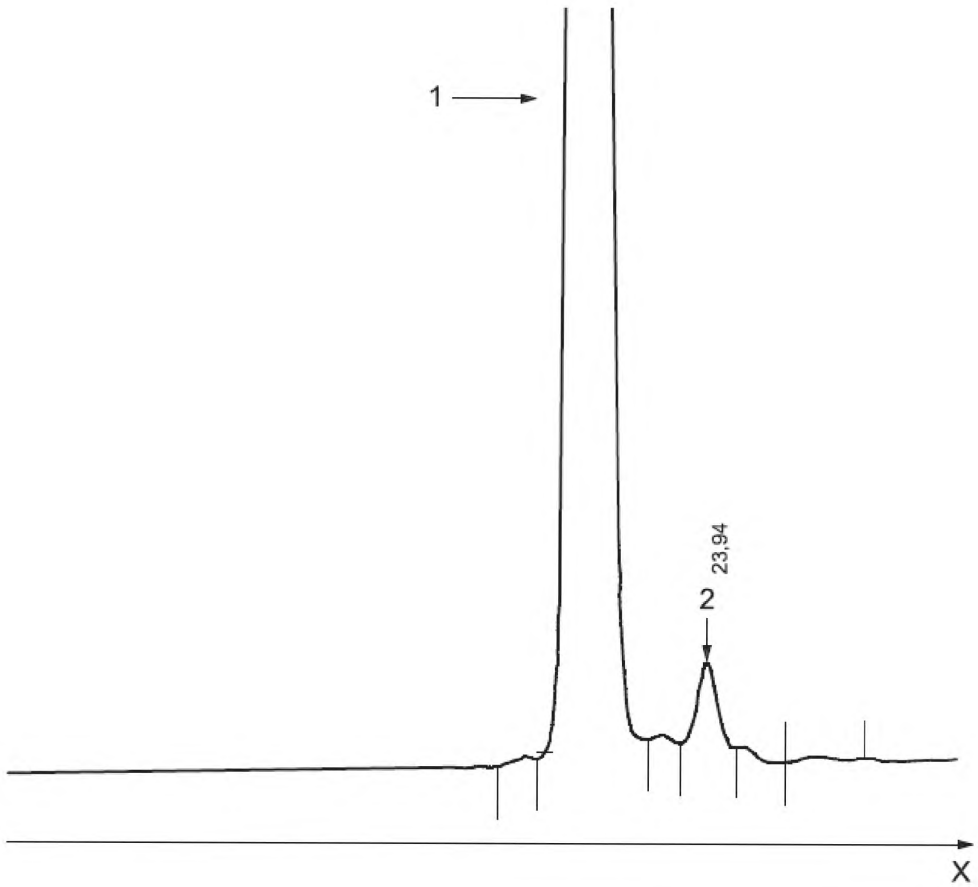
c) рсы стандартқа сілтеме жасай отырып сынақ әдісін пайдалану;

d) сынақтың нәтижесіне әсер етуі мүмкін кез келген рқиғаны нақтылықтарымен бірге, осы стандарта бейнеленбеген немесе қосымша болып табылатынбарлық қызметтік нақтылықтар;

e) сынақтан алынған нәтиже.

А қосымшасы
(ақпараттық)

Хроматограмма мысалы



X – ұстап тұру уақыты, мин; 1– лактоза; 2– лактулоза (750 мг/л сүт).

А.1 сурет

В қосымшасы
(ақпараттық)

Зертхана аралық сынақтардың қорытындылары

Әр түрлі бес елдің тоғыз зертханасында бірігіп өткізілген халықаралық сынақтар, алты сүт сынамаларында жүзеге асты. Алынған нәтижелер [2] және [3] сәйкес статистикалық анализ жасалды және В 1 кестесінде көрсетілген прецизиондық мәліметтерге алып келді.

В.1 кесте – Құрамындағы лаутулоза мөлшерін анықтаудағы зертхана аралық сынақтардың қорытындылары

	Сынама						
	1	2	3	4	5	6	Орта
Ортақ мәні, мг/л	357,07	362,82	376,98	273,09	331,78	331,11	
Ағаттықты жоюдан кейінгі қатысушылар саны[a]	9	9	8	9	9	9	
Қайталану шегі, r (2,8 s_r), мг/л	16,217	20,187	11,521	14,483	14,344	16,509	15,543
Қайталанудың стандартты ауытқуы, s_r, мг/л	5,792	7,210	4,115	5,172	5,123	5,896	5,550
Қайталанудың өзгеріс коэффициенті, %	1,622	1,987	1,091	1,894	1,544	1,781	1,536
Қалпына келтіру шегі, R (2,8 s_r), мг/л	47,737	52,783	49,214	48,091	43,230	44,541	47,599
Қалпына келтірудің стнадарттық ауытқуы, s_r, мг/л	17,049	18,851	17,567	17,175	15,439	15,908	16,998
Қалпына келтірудің өзгеріс коэффициенті, %	4,775	5,196	4,662	6,289	4,653	4,804	5,064

[a] Қайталану мен қалпына келтірудің ортақ мәні және стандартты ауытқулары, [4]-те көрсетілгендей 2-де емес, 3-сынамадағы бір ағаттықтан басқасы есептелінген. Ағаттық мәнін жоюдан кейін алынған қорытындылар бойынша қайтадан сынақты жүзеге асыруға жол берілмейді.

Библиография

[1] ISO 707|IDF 50 Milk and milk products – Guidance on sampling (Сүт және мүт өнімдері. Сынаманы іріктеу бойынша нұсқаулық).

[2] ISO 5725-1 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions (Әдістер мен өлшеу нәтижелерінің нақтылығы (дұрыстылық және прецизиондық) .1-бөлім Жалпы қағидалар мен анықтамалар).

[3] ISO 5725-2 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 (Әдістер мен өлшеу нәтижелерінің нақтылығы (дұрыстылық және прецизиондық) .2-бөлім Қайталануды анықтаудағы негізгі әдіс және өлшеудегі стандартты қалпына келтіру әдісі).

[4] Моттар, Дж. Milk – Determination of lactulose. Bulletin of the International Dairy Federation, 285, 1993, pp. 86-97 (Сүт. Лактулозаны анықтау. Халықаралық сүт федерациясының бюллетені, 285, 1993, 86-97 бет)

ӘӨЖ 637.12.04/.07 **МКС 67.100.10**

Түйін сөздер: сүт, залалсыздандырылған сүт, майсыздандырылған сүт, лаутулоза құрамы, сынамаларды іріктеу, лактулоза шығы, сыналатын сынама, мембралды фильтр, ультрадыбыстық монша.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

МОЛОКО СТЕРИЛИЗОВАННОЕ

Определение содержания лактулозы
Метод с применением жидкостной хроматографии высокого разрешения

СТ РК ISO 11868-2013

ISO 11868:2007 Heat-treated milk - Determination of lactulose content - Method using high-performance liquid chromatography (IDT)

Издание официальное

Комитет технического регулирования и метрологии
Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан
(Госстандарт)

Астана

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН И ВНЕСЕН Республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» и Техническим комитетом по стандартизации 44 «Технолог»

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан от 13 ноября 2013 года за № 526-од

3 Настоящий стандарт идентичен по отношению к международному стандарту ISO 11868:2007 Heat-treated milk – Determination of lactulose content – Method using high-performance liquid chromatography (Молоко стерилизованное. Определение содержания лактулозы. Метод с применением жидкостной хроматографии высокого разрешения).

В настоящий стандарт внесены изменения в связи с особенностями построения Государственного системы технического регулирования, которые выделены по тексту курсивом.

Международный стандарт ISO 11868:2007 Heat-treated milk – Determination of lactulose content – Method using high-performance liquid chromatography разработан Техническим комитетом ISO/TK 34, Пищевые продукты, Подкомитет ПК 5, Молоко и молочные продукты, и Международной федерацией молочной продукции (IDF).

Перевод с английского (en)

Степень соответствия – идентичная (IDT)

4 СРОК ПЕРВОЙ ПРОВЕРКИ 2019 год
ПЕРИОДИЧНОСТЬ ПРОВЕРКИ 5 лет

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему Стандарту публикуется в указателе «Нормативные документы по стандартизации», а текст изменений – в ежемесячных информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (отмены) или замены настоящего Стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе «Национальные стандарты»

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

МОЛОКО СТЕРИЛИЗОВАННОЕ

Определение содержания лактулозы Метод с применением жидкостной хроматографии высокого разрешения

Дата введения 2014.07.01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания лактулозы стерилизованного молока, обезжиренного молока, частично обезжиренного или цельного молока методом высокоэффективной жидкостной хроматографии для различения молока, стерилизованного при помощи высокотемпературной обработки (ВТО), от молока, стерилизованного в бутылках.

Метод испытан в диапазоне содержания лактулозы от 200 мг/л до 1500 мг/л и применим ко всем видам стерилизованного молока.

Метод, описанный в настоящем стандарте, должен использоваться в случае спорных вопросов.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применяется следующий термин с соответствующим определением:

2.1 **Содержание лактулозы в обезжиренном, частично обезжиренном или цельном молоке** (lactulose content of skimmed, partially skimmed or whole milk): Масса вещества, определенная по процедуре, установленной в настоящем стандарте.

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание лактулозы выражается в миллиграммах на литр пробы.

3 Сущность метода

Жиры и протеины удаляются из пробы молока, которая далее фильтруется. Содержание латулозы в фильтрате определяется методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее – ВЭЖХ). Результат, полученный для пробы, оценивается сравнением с результатами для стандартных образцов, состоящих из обезжиренного молока, не содержащего лактулозы, с известным количеством добавленной лактулозы.

4 Реактивы

Применяют только реактивы квалификации «чистый для анализа», если не обусловлено иначе, и бидистиллированную или воду эквивалентной чистоты.

4.1 Моногидрат лактулозы

4.2 Лактулоза, не менее 99 % чистоты.

4.3 Раствор для предварительной обработки пробы

Растворяют 91,0 г дигидрата ацетата цинка, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$, 54,6 г тетракозагидрата фосфорновольфрамовой кислоты, $H_3[P(W_3O_{10})_4] \cdot 24H_2O$, и 58,1 мл ледяной (безводной) уксусной кислоты в воде в мерной колбе на 1000 мл и доводят до метки водой.

4.4 Элюэнт

Фильтруют воду класса ВЭЖХ через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм (см. 5.8) и перед использованием кипятят для удаления растворенного воздуха.

Для удаления растворенного воздуха вместо кипячения воды могут использоваться другие методы, дающие идентичные результаты (например, гелиевый барботаж).

ПРИМЕЧАНИЕ Такие методы, как правило, более дорогостоящие.

4.5 Стандартные образцы

4.5.1 Стандартный раствор лактулозы

Взвешивают, с точностью до 0,1 мг, 75 мг лактулозы (см. 4.2), количественно переносят в мерную колбу на 100 мл (см. 5.6). Растворяют в воде и доводят до метки водой.

4.5.2 Пастеризованное обезжиренное молоко, не содержащее лактулозы в соответствии с определением по методу, установленному ниже.

Используют пробы идентичного пастеризованного обезжиренного молока, содержащего приблизительно 250; 500; 750 и 1000 мг лактулозы на литр, полученные добавлением 5; 10; 15 и 20 мл, соответственно, стандартного раствора лактулозы (см. 8.2) к пастеризованному обезжиренному молоку.

5 Аппаратура и материалы

Для применения настоящего метода используют следующее лабораторное оборудование.

5.1 Аналитические весы, специального класса I.

5.2 Стеклянная воронка, диаметром 7 см.

5.3 Фильтры.

5.3.1 Фильтровальная бумага, среднепористая, диаметром 12,5 см.

5.3.2 Целлюлозно-ацетатные мембраны, с диаметром пор 0,45 мкм.

5.4 Мерный цилиндр, вместимостью 25 мл.

5.5 Градуированная пипетка, вместимостью 10 мл, с ценой деления 0,1 мл.

5.6 Мерные колбы с одной меткой, вместимостью 50 мл, 100 мл и 1000 мл.

5.7 Пипетки с одной меткой, вместимостью 5 мл, 10 мл и 20 мл.

5.8 Стеклянная фильтрационная установка, с диаметром пор фильтра 0,45 мкм.

5.9 Стеклянные колбы, вместимостью 20 мл, с пробкой.

5.10 Ультразвуковая водяная баня.

5.11 Водяной вакуумный насос.

5.12 Оборудование ВЭЖХ, указанное ниже.

5.12.1 Магнитная мешалка и нагреватель, для поддержания температуры элюента 90 °С ± 2 °С до подачи его в предколонку для анализа.

5.12.2 Насос, дающий расход объема от 0,3 мл/мин до 0,6 мл/мин, с пульсацией менее, чем 1 % падения давления в колонке (от 1,5 МПа до 4 МПа).

5.12.3 HPX-87 P (Bio-Rad, 30 см × 0,78 см)[1)], или эквивалентная колонка, заполненная свинец-сульфоновым катионитом на полистирол-дивинилбензольном сополимере со степенью сшитости 8 %. Предколонка состоит из системы деозоления Био – Рад[1)] (кассета, 3 см × 0,46 см, наполненная H^+-катионитом, и кассета, 3 см × 0,46 см, наполненная карбонат-анионитом) или системы эквивалентной эффективности.

Предколонки увеличивают срок службы и длину аналитической колонки, уменьшая проблемы и значительно понижая ошибки разделения. Когда система ВЭЖХ начинает терять разрешение, заменяют использованную предколонку до того, как помехи достигнут основной колонки.

5.12.4 Печь термостатической колонны, способная поддерживать температуру 75 °С ± 1 °С.

Предколонки должны размещаться за пределами печи. Подводящая к основной колонке трубка в печи должна иметь длину от 10 см до 15 см для доведения температуры элюента до 75 °С, иначе могут произойти значительные общие погрешности.

5.12.5 Детектор по показателю преломления, высокочувствительный, с уровнем шума менее 5×10^{-9} единицы показателя преломления, измеренного в воде.

Внутренний термостат должен устанавливаться на температуру выше комнатной, достаточную для получения устойчивой базовой линии. Чаще всего рекомендуется температура от 35 °С до 40 °С.

ПРИМЕЧАНИЕ Высокочувствительный мониторинг показателя преломления затрудняется дрейфом базовой линии вследствие тепловых изменений. Для понижения дрейфа базовой линии, рекомендуется располагать оборудование ВЭЖХ в кондиционированном помещении с целью недопущения изменений температуры.

5.12.6 Интегратор для измерения высоты пика

Параметры управления интеграции (например, ширина пика, смещение наклона, пороговая величина пика) должны выбираться тщательно.

Интегратор должен быть отрегулирован так, чтобы опускать перпендикуляр между пиками лактозы и лактулозы. (Обезжиривание приводит к неточности вследствие присутствия различных количеств глюкозы в молоке). Интегратор должен останавливаться при выходе на базовою линию между пиками лактозы и лактулозы, если снижение достигнет базовой линии, при всех концентрациях лактулозы.

Многие интеграторы автоматически изменяют параметры пиковой интеграции при прогоне. По возможности, эта функция должна отключаться для получения более воспроизводимых результатов.

ПРИМЕЧАНИЕ Допускается использовать аппаратуру, мерную посуду, реактивы, имеющие аналогичные метрологические характеристики или выше. Применяемые средства измерений подлежат испытаниям с целью утверждения типа или метрологической аттестации, поверки средств измерений и внесению в реестр Республики Казахстан в соответствии с законодательством в области обеспечения единства измерений.

6 Отбор проб

В лабораторию должна быть направлена представительная проба. Она не должна быть повреждена или изменена при транспортировке или хранении.

[1)] HPX-87 P (Bio-Rad, 30 см × 0,78 см) и системы деозоления Био – Рад являются примерами подходящего оборудования, доступного коммерчески. Информация приводится для удобства пользователей настоящим стандартом и не является требованием ISO и IDF.

Осуществление отбора проб не указано в настоящем стандарте. Рекомендации по отбору проб указаны в [1].

Хранят пробу таким образом, чтобы не допускать повреждения и изменения.

7 Подготовка испытуемой пробы

Пробу доводят до 25 °С ± 5 °С и тщательно перемешивают. Если жир распределен неравномерно, медленно нагревают до 40 °С, осторожно перемешивают только переворачиванием и быстро охлаждают до 20 °С ± 2 °С.

8 Методика

8.1 Подготовка рабочей части (пробы)

8.1.1 Отмерить пипеткой 15 мл испытуемой пробы (см. Раздел 7), перенести в мерную колбу на 50 мл (см. 5.6). Добавить 20 мл воды мерным цилиндром (см. 5.4) и перемешивать, создавая водоворот. Добавить 5,5 мл раствора для предварительной обработки пробы (см. 4.3) градуированной пипеткой (см. 5.5) и перемешать. Добавить воды до метки и перемешать.

8.1.2 Оставить на 1 час при температуре 25 °С ± 5 °С, профильтровать с использованием стеклянной воронки (см. 5.2) через фильтр (см. 5.3.1 или 5.3.2). Отбросить первые 5 мл фильтрата. Собрать остатки фильтрата в чистый стеклянный сосуд.

8.2 Подготовка калибровочных образцов

8.2.1 Общие положения

Отобрать пипеткой по 15 мл обезжиренного молока, не содержащего лактулозы (см. 4.5.2), перенести в каждую из четырех мерных колб на 50 мл.

8.2.2 Калибровочный образец А

8.2.2.1 Отмерить пипеткой 5 мл стандартного раствора лактулозы (см. 4.5.1) в первую мерную колбу на 50 мл, содержащую обезжиренное молоко без лактулозы (см. 8.2.1), и перемешать.

8.2.2.2 Добавить 15 мл воды мерным цилиндром (см. 5.4) и перемешать.

8.2.2.3 Добавить 5,5 мл раствора для предварительной обработки пробы (см. 4.3) градуированной пипеткой (см. 5.5) и перемешать. Довести до метки водой и перемешать. После выдерживания раствора в течение 1 часа при температуре 25 °С ± 5 °С профильтровать при помощи стеклянной воронки (см. 5.2) через фильтр (см. 5.3.1 или 5.3.2). Отбросить первые 5 мл фильтрата. Собирать остатки фильтрата в чистый стеклянный сосуд.

8.2.3 Калибровочный образец В

Отмерить пипеткой 10 мл стандартного раствора лактулозы (см. 4.5.1) во вторую мерную колбу на 50 мл, содержащую обезжиренное молоко без лактулозы (см. 8.2.1), и перемешать.

Добавить 10 мл воды мерным цилиндром (см. 5.4) и перемешать.

Продолжить по 8.2.2.3.

8.2.4 Калибровочный образец С

Отмерить пипеткой 15 мл стандартного раствора лактулозы (см. 4.5.1) в третью мерную колбу на 50 мл, содержащую обезжиренное молоко без лактулозы (см. 8.2.1), и перемешать.

Добавить 5 мл воды мерным цилиндром (см. 5.4) и перемешать.

Продолжить по 8.2.2.3.

8.2.5 Калибровочный образец D

Отмерить пипеткой стандартный раствор лактулозы (см. 4.5.1) в четвертую мерную колбу на 50 мл, содержащую обезжиренное молоко без лактулозы (см. 8.2.1).

Продолжить по в 8.2.2.3.

8.3 Хроматографическое определение

8.3.1 Отмерить пипеткой 3 мл фильтрата испытуемой пробы (см. 8.1.2) и калибровочных образцов (см. 8.2) в отдельные стеклянные колбы (см. 5.9). Удалить растворенный воздух из фильтрата, прикрепив колбу к водяному вакуум-насосу (см. 5.11) и выдерживая в ультразвуковой водяной бане (см. 5.10) в течение 30 секунд при комнатной температуре. Не допускать пенообразования.

ПРИМЕЧАНИЕ Содержание воздуха в пробе может вызвать появление отрицательного пика после времени удержания лактулозы.

8.3.2 Ввести от 10 мкл до 30 мкл (точно измеренных) фильтрата в аппарат ВЭЖХ (см. 5.12), работающий с расходом 0,3 мл/мин.

Если содержание лактулозы менее 200 мг/кг молока, необходимо выполнить анализ с использованием двух последовательно соединенных колонок, увеличивая расход до 0,6 мл/мин.

ПРИМЕЧАНИЕ Хроматограмма (см. Приложение А) показывает мощный зашкаливающий пик лактозы с временем удерживания 19 минут, как в случае стандартных проб (см. 8.2.2, 8.2.3, 8.2.4 и 8.2.5), так и стерилизованного молока, и относительно малый пик лактулозы с временем удерживания 24 минуты.

Отрегулировать регистрирующее устройство (плоттер), обеспечивающее минимальную высоту пика лактулозы 5 мм для стандартного образца А (см. 8.2.2). В зависимости от качества используемой колонки и предколонки (см. 5.12.3), получить четко разделенный или нечетко разделенный пик лактулозы (см. 5.12.6). Для определения минимально необходимого разрешения между лактозой и лактулозой, приготовить стандартный раствор, содержащий 0,69 г лактозы (см. 4.1) и 3,75 мг лактулозы (см. 4.2) на 50 мл.

Вычислить степень разделения, R_s, (должна быть не менее 5) по формуле (1):

$$R_s = \frac{h_2}{h_v}, \qquad (1)$$

где h_2 – высота пика лактулозы;

h_V – ширина зоны между пиками лактозы и лактулозы.

Рекомендуется шестидесятиминутный интервал между введением последующих проб.

8.3.3 Интегратор регистрирует высоту каждого пика, h_1 и h_2, где h_1 – это высота пика лактозы и h_2 – это высота пика лактулозы.

Проба должна быть повторно введена, если дрейф базовой линии превышает 10 % полной шкалы.

Важно до количественного определения проверить вид хроматограммы для выявления любых аномалий вследствие ухудшения работы аппаратуры или особенностей происхождения и природы анализируемой пробы. При сомнениях повторяют анализ.

Высота пика лактозы в испытуемой пробе не должна отклоняться более, чем на 10 % по сравнению с калибровочными образцами. Иначе должны быть приготовлены другие калибровочные образцы.

Всегда при анализе каждой серии испытуемых проб включать калибровочные образцы. Повторно калибровать каждые 10 – 15 проб.

8.4 Восстановление

При необходимости провести восстановление, дополняя стандартную процедуру. Если в пробах с содержанием лактулозы, равным или превышающим 200 мг/л, восстановление менее 99 %, анализ должен быть повторен.

9 Расчет и выражение результатов

9.1 Калибровка

После введения каждого стандартного образца и разделения аппаратом ВЭЖХ, интегратор должен регистрировать высоту следующих пиков:

h_{2a} – численное значение высоты пика лактулозы стандартного образца A;

h_{2b} – численное значение высоты пика лактулозы стандартного образца B;

h_{2c} – численное значение высоты пика лактулозы стандартного образца C;

h_{2d} – численное значение высоты пика лактулозы стандартного образца D.

Рассчитать концентрацию $c_{a\text{-}d}$ лактулозы в стандартных образцах A, B, C и D (см. 8.2) в миллиграммах на 50 мл по формулам (2) – (5):

$$c_a = m_L \times 5/100, \quad (2)$$

$$c_b = m_L \times 10/100, \quad (3)$$

$$c_c = m_L \times 15/100, \quad (4)$$

$$c_d = m_L \times 20/100, \quad (5)$$

где m_L – масса лактулозы в стандартном растворе (см. 4.5.1).

Линейный регрессионный анализ регрессии по методу наименьших квадратов для пар $h_{2a} - c_a$, $h_{2b} - c_b$, $h_{2c} - c_c$ и $h_{2d} - c_d$, где c_a, c_b, c_c и c_d – независимые переменные, дает коэффициенты регрессии, a и b, в формуле (6):

$$h_2 = a + b \times c_L \quad (6)$$

где h_2 – численное значение высоты пика лактулозы, являющейся зависимой переменной в регрессии;

c_L – численное значение концентрации лактулозы, в миллиграммах на 50 мл, являющейся независимой переменной в регрессии.

9.2 Расчет содержания лактулозы

Рассчитать содержание лактулозы, w_L, выраженное в миллиграммах на литр, в испытуемой пробе, с использованием формулы (7):

$$w_L = \frac{(h_{2s} - a)}{b \times V_s} \times d, \qquad (7)$$

где h_{2s} – численное значение высоты пика лактулозы испытуемой пробы;

V_s – численное значение объема испытуемой пробы, в миллилитрах (см. 8.1.1);

d – численное значение коэффициента разбавления для получения выражения в миллиграммах на литр ($d = 10^3$).

10 Точность

10.1 Межлабораторное испытание

Подробности межлабораторного испытания точности метода приведены в Приложении В и [4]. Значения, полученные в таком межлабораторном испытании, не могут применяться к диапазонам концентрации и матрицам, за исключением приведенных.

10.2 Повторяемость (Сходимость)

Абсолютная разница между двумя независимыми единичными результатами испытаний, полученными с использованием одинакового метода на идентичном испытательном материале в одной лаборатории одним оператором с использованием одинакового оборудования за короткий период времени, может не более, чем в 5 % случаев, превышать 15,6 мг/л.

10.3 Воспроизводимость

Абсолютная разница между единичными результатами испытаний, полученными с использованием одинакового метода на идентичном испытательном материале в разных лабораториях разными операторами с использованием различного оборудования, может не более, чем в 5 % случаев, превышать 47,6 мг/л.

11 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен устанавливать:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;

b) используемый метод отбора проб;

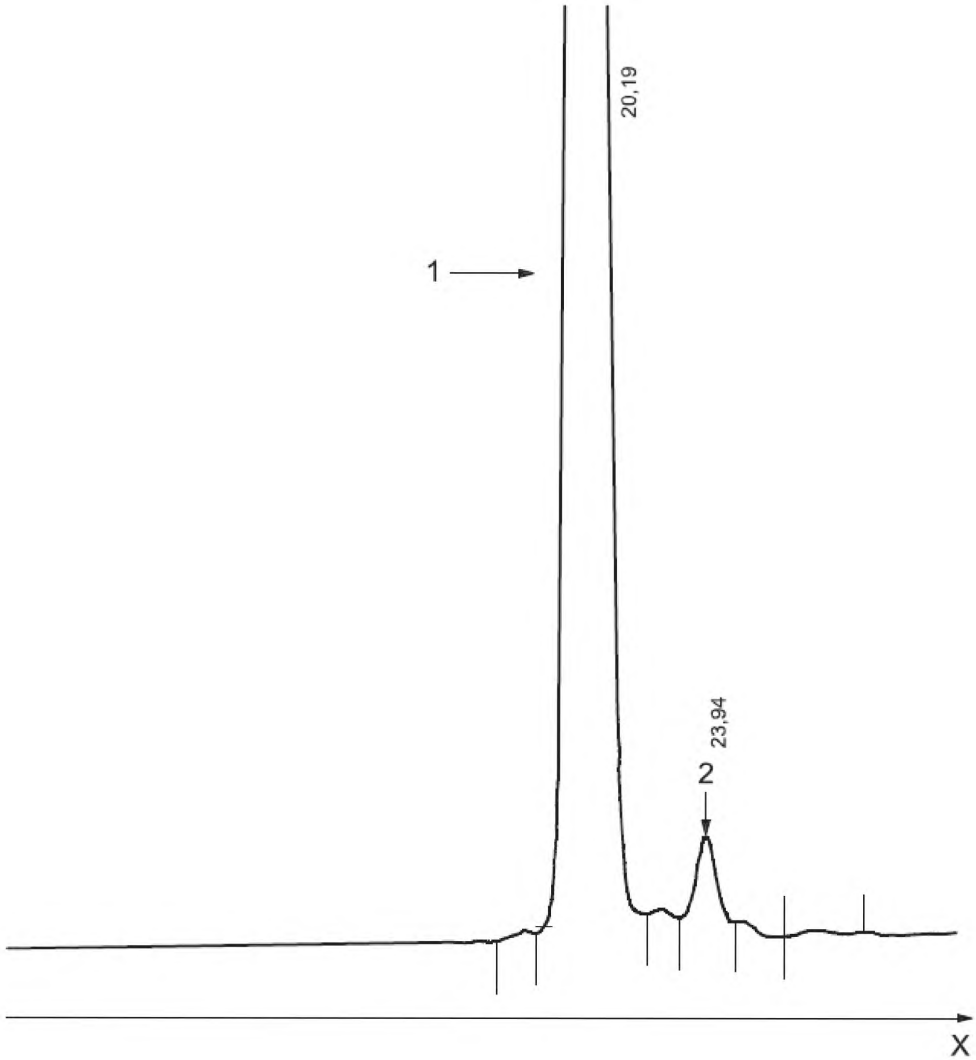
c) использованный метод испытаний, со ссылкой на настоящий стандарт;

d) все рабочие подробности, не описанные в настоящем стандарте, или считающиеся дополнительными, вместе с подробностями любого инцидента, который может повлиять на результаты испытаний;

e) полученный результат испытаний.

Приложение А
(информационное)

Пример хроматограммы



X – время удерживания, мин; 1– лактоза; 2 – лактулоза (750 мг/л молока).

Рисунок А.1

Приложение В
(информационное)

Результаты межлабораторных испытаний

Международное совместное испытание, проведенное девятью лабораториями из пяти различных стран, было выполнено на шести молочных пробах. Полученные результаты подверглись статистическому анализу в соответствии с [2] и [3] и привели к прецизионным данным, приведенным в Таблице В.1.

Таблица В.1 – Результаты межлабораторного испытания на лактулозе

	Проба						
	1	2	3	4	5	6	Среднее
Среднее значение, мг/л	357,07	362,82	376,98	273,09	331,78	331,11	
Количество участников после удаления промахов[a]	9	9	8	9	9	9	
Предел повторяемости, r (2,8 s_r), мг/л	16,217	20,187	11,521	14,483	14,344	16,509	15,543
Стандартное отклонение повторяемости, s_r, мг/л	5,792	7,210	4,115	5,172	5,123	5,896	5,550
Коэффициент изменения повторяемости, %	1,622	1,987	1,091	1,894	1,544	1,781	1,536
Предел воспроизводимости, R (2,8 s_r), мг/л	47,737	52,783	49,214	48,091	43,230	44,541	47,599
Стандартное отклонение воспроизводимости, s_r, мг/л	17,049	18,851	17,567	17,175	15,439	15,908	16,998
Коэффициент изменения воспроизводимости, %	4,775	5,196	4,662	6,289	4,653	4,804	5,064

[a] Средние значения пределов повторяемости и воспроизводимости и стандартных отклонений были рассчитаны, за исключением одного промаха в пробе 3, не 2, как указано в [4]. Не допускается выполнение испытаний снова по результатам, полученным после удаления значений промахов.

Библиография

[1] ISO 707|IDF 50 Milk and milk products – Guidance on sampling (Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб).

[2] ISO 5725-1 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Общие принципы и определения).

[3] ISO 5725-2 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 (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения).

[4] Моттар, Дж. Milk – Determination of lactulose. Bulletin of the International Dairy Federation, 285, 1993, pp. 86-97 (Молоко. Определение лактулозы. Бюллетень международной молочной федерации, 285, 1993, стр. 86-97)

УДК 637.12.04/.07 **МКС 67.100.10**

Ключевые слова: молоко, молоко стерилизованное, обезжиренное молоко, содержание лактулозы, отбор проб, пик лактулозы, испытуемая проба, мембранный фильтр, ультразвуковая водяная баня.

Басуға _____ ж. қол қойылды Пішімі 60х84 1/16
Қағазы офсеттік. Қаріп түрі «KZ Times New Roman»,
«Times New Roman»
Шартты баспа табағы 1,86. Таралымы ____ дана. Тапсырыс ____

«Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты»
республикалық мемлекеттік кәсіпорны
010000, Астана қаласы, Орынбор көшесі, 11 үй,
«Эталон орталығы» ғимараты
Тел.: 8 (7172) 79 33 24

gost.e-ecolog.ru