
**Молоко и молочные продукты.
Определение содержания лактозы с
помощью высокоэффективной
жидкостной хроматографии
(Контрольный метод)**

Milk and milk products — Determination of lactose content by high-performance liquid chromatography (Reference method)
(standards.iteh.ai)

[ISO 22662:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/14d9d44e-40c7-45ba-abd9-37de13844fbc/iso-22662-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/14d9d44e-40c7-45ba-abd9-37de13844fbc/iso-22662-2007>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочные номера
ISO 22662:2007(R)
IDF 198:2007(R)

Отказ от ответственности при работе в PDF

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или смотреть на экране, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на установку интегрированных шрифтов в компьютере, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe — торговый знак Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General Info файла; параметры создания PDF оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами – членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просим информировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22662:2007

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/14d9d44e-40c7-45ba-abd9-37de13844fbc/iso-22662-2007>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO и IDF 2007

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO по адресу ниже или членом ISO в стране регистрации пребывания.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

International Dairy Federation
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Brussels
Tel. + 32 2 733 98 88
Fax + 32 2 733 04 13
E-mail info@fil-idf.org
Web www.fil-idf.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
Предисловие	v
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	1
4 Принцип	1
5 Реактивы	1
6 Аппаратура	2
7 Отбор проб	3
8 Приготовление пробы для испытания	3
9 Методика	4
9.1 Приготовление стандартного раствора	4
9.2 Приготовление пробы для анализа	4
9.3 Приготовление фильтрата	4
9.4 Определение с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC)	5
10 Расчет и выражение результатов	6
10.1 Расчет	6
10.2 Выражение результатов	7
11 Прецизионность	7
11.1 Межлабораторное испытание	7
11.2 Повторяемость	7
11.3 Воспроизводимость	7
12 Протокол испытания	7
Приложение А (информативное)	8
Библиография	10

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член ISO, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные организации, правительственные и неправительственные, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. ISO непосредственно сотрудничает с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам электротехнической стандартизации.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, приведенными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов состоит в подготовке международных стандартов. Проекты международных стандартов, одобренные техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы настоящего документа могут быть объектом патентных прав. ISO не должен нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 22662|IDF 198 разработан Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*, и Международной федерацией молочной промышленности (IDF). Этот стандарт должен быть опубликован совместно ISO и IDF.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/14d9d44e-40c7-45ba-abd9-37de13844fbc/iso-22662-2007>

Предисловие

Международная федерация молочной промышленности (IDF) является всемирной федерацией предприятий молочной отрасли, каждый член которой представлен в ней своим национальным комитетом. Каждый национальный комитет имеет право быть представленным в Постоянных комитетах IDF, осуществляющих техническую работу. IDF сотрудничает с ISO по вопросам разработки стандартных методов анализа и отбора проб молока и молочных продуктов.

Проекты международных стандартов, принятые Рабочими группами и Постоянными комитетами, рассылаются национальным комитетам для голосования. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения не менее 50 % национальных комитетов IDF, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы настоящего документа могут быть объектом патентных прав. IDF не должен нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 22662|IDF 198 подготовлен Международной федерацией молочной промышленности (IDF) и Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*. Этот стандарт должен быть опубликован совместно IDF и ISO.

Вся работа была проведена под руководством совместной ISO-IDF Рабочей группы по *Лактозе и определению лактозы*, Постоянного комитета по *Основным компонентам молока* под руководством руководителя проекта м-ра Р. Куаучи (Канада).

[ISO 22662:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/14d9d44e-40c7-45ba-abd9-37de13844fbc/iso-22662-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/14d9d44e-40c7-45ba-abd9-37de13844fbc/iso-22662-2007>

Молоко и молочные продукты. Определение содержания лактозы с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (Контрольный метод)

1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает контрольный метод определения содержания лактозы в сыром молоке, молоке, подвергнутом тепловой обработке, сухом молоке, а также сырых и пастеризованных сливках.

Данный метод не применим к сквашенному молоку и молоку, в которое были добавлены олигосахариды.

2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные нормативные документы являются обязательными при применении данного документа. Для жестких ссылок применяется только цитированное издание документа. Для плавающих ссылок необходимо использовать самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

ISO 648, *Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной меткой*

ISO 3696, *Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытания*

3 Термины и определения

Применительно к настоящему документу используются следующие термины и определения.

3.1

содержание лактозы

lactose content

массовая доля веществ, определенных в соответствии с методикой, установленной в этом международном стандарте

ПРИМЕЧАНИЕ Массовая доля может быть выражена в процентах.

4 Принцип

К взвешенному объему молока и стандартов лактозы добавляют в качестве внутреннего стандарта [D(+)-мелецитозу]. Добавляют химический реактив (раствор Бигса-Шарто) для осаждения жира и фракций белковых компонентов молока. Перед вводом пробы дважды фильтруют ее, сначала через бумажный фильтр, а затем через нейлоновый фильтр с размером пор 0,45 мкм. Разделяют лактозу и внутренний стандарт на колонке с катионообменной смолой в проводящей форме и определяют с применением дифференциального рефрактометрического детектора или другого подходящего детектора. В качестве подвижной фазы используется вода степени чистоты HPLC.

5 Реактивы

Используют только реактивы признанного качества, если не оговорено иначе.

5.1 Дегазированная вода степени чистоты HPLC.

Фильтруют воду, соответствующую требованиям ISO 3696, степень чистоты 1, полученную на установке для очистки воды (6.9), с применением установки для фильтрования растворителя (6.10). Для улучшения работы насоса и получения постоянной нулевой линии ежедневно дегазируют подвижную фазу, выбирая один из соответствующих способов, например, барботаж с гелием, обработка ультразвуком, вакуумирование или использование встроенной системы дегазации.

5.2 Раствор гидрата D(+)-меллецитозы, $c(C_{18}H_{32}O_{16} \cdot H_2O) = 50$ мг/мл.

Растворяют в воде (5.1) такое количество гидрата D(+)-меллецитозы, чтобы получить конечную концентрацию, эквивалентную концентрации в безводной форме 50 мг/мл.

Раствор D(+)-меллецитозы может храниться при температуре 4 °C не более 1 недели.

5.3 Моногидрат α -лактозы, $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$.

Перед использованием сушат моногидрат α -лактозы при температуре 70 °C в течение 4 ч. Охлаждают ее до комнатной температуры в эксикаторе.

ПРИМЕЧАНИЕ После сушки лактоза остается в форме моногидрата.

5.4 Раствор Бигса-Шиарта (Biggs-Szijarto).

Растворяют 25 г дигидрата ацетата цинка, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ и 12,5 г моногидрата фосфорновольфрамовой кислоты ($W_{12}O_{36} \cdot H_3PO_4 \cdot H_2O$) приблизительно в 100 мл воды степени чистоты HPLC (5.1) в мерной колбе с одной меткой вместимостью 200 мл.

Добавляют 20 мл ледяной уксусной кислоты (CH_3COOH). Разбавляют до метки 200 мл водой степени чистоты HPLC (5.1) и перемешивают. После использования раствор может храниться при температуре 4 °C не более 1 недели.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ — Следует соблюдать рекомендации по охране здоровья и правилам безопасности при хранении и обращении с этими химическими продуктами.

6 Аппаратура

Обычная лабораторная аппаратура и, в частности, следующая.

6.1 Колонка с ионообменной смолой HPLC, длиной 300 мм, внутренним диаметром 7,8 мм, заполненная 8 % сетчатым сополимером на основе катионообменной смолы из полистирола-дивинилбензола в проводящей форме.

6.2 Защитная колонка.

Для продления срока службы колонки с ионообменной смолой заменяют защитную колонку примерно через 200 вводов проб.

6.3 Защитный микродержатель.

6.4 Нагреватель колонки, способный поддерживать постоянную температуру $85 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$.

6.5 Насос HPLC, способный поддерживать скорость потока от 0 мл/мин до 10 мл/мин.

6.6 Автодозатор HPLC.

ПРИМЕЧАНИЕ Также может использоваться и ручной ввод проб.

6.7 Дифференциальный рефрактометрический детектор, высокой чувствительности.

ПРИМЕЧАНИЕ Также могут использоваться и другие детекторы, например, испарительный детектор светорассеяния.

6.8 Программное обеспечение, способное осуществлять автоматический ввод проб, сбор данных, их обработку и контроль хроматографической информации.

6.9 Установка для очистки воды, способная обеспечить воду, соответствующую требованиям к воде степени чистоты 1 по ISO 3696, с электрическим удельным сопротивлением от 10 МОм·см до 18 МОм·см.

6.10 Установка для фильтрования растворителя, включающая источник вакуума, с мембранным фильтром с размером пор 0,45 мкм и диаметром 47 мм.

6.11 Аналитические весы, способные взвешивать с точностью до 1 мг, с возможностью считывания 0,1 мг.

6.12 Водяная баня, способная поддерживать температуру от 38 °С до 40 °С.

6.13 Точное дозирующее устройство, точная автоматическая пипетка или пипетки с одной меткой, соответствующие требованиям ISO 648, класс А, вместимостью 2 мл.

6.14 Фильтровальная воронка, диаметром 75 мм.

6.15 Фильтровальная бумага, диаметром 110 мм, Ватман (Whatman)¹⁾ No 1 или эквивалентная.

6.16 Найлоновый фильтр для шприца, пористостью 0,45 мкм.

ПРИМЕЧАНИЕ Также может использоваться и встроенный фильтр такой же пористости.

6.17 Шприц, с наконечником Люэра, вместимостью 5 мл.

6.18 Пробирки HPLC, с крышками.

6.19 Мерные колбы с одной меткой, вместимостью 10 мл ± 0,02 мл.

ПРИМЕЧАНИЕ Также могут использоваться и колбы вместимостью более 10 мл, принимая во внимание концентрацию.

7 Отбор проб

В лабораторию следует поставлять представительную пробу. Ее не следует подвергать порче или изменению во время транспортировки или хранения.

Отбор проб не рассматривается в методе, установленном в данном международном стандарте. Рекомендуемый метод отбора проб приводится в ISO 707|IDF 50.

8 Приготовление пробы для испытания

В случае жидкого молока и сливок нагревают пробу для испытания в водяной бане (6.12) при температуре от 38 °С до 40 °С. Осторожно перемешивают пробу для испытания, многократно переворачивая склянку. Быстро охлаждают пробу до 20 °С ± 1 °С, осторожно перемешивая ее непосредственно перед взвешиванием пробы для анализа (9.2).

¹⁾ Бумага Whatman является примером подходящего продукта, имеющегося в продаже. Эта информация дается для удобства пользователей данного международного стандарта и не означает одобрения этого продукта со стороны ISO или IDF.

9 Методика

9.1 Приготовление стандартного раствора

9.1.1 В мерную колбу с одной меткой вместимостью 10 мл (6.19) взвешивают с точностью до 1 мг соответствующее количество моногидрата α -лактозы (5.3), чтобы получить концентрацию, эквивалентную концентрации раствора безводной α -лактозы 20 мг/мл.

9.1.2 Растворяют моногидрат α -лактозы (9.1.1) приблизительно в 5 мл воды степени чистоты HPLC (5.1). Добавляют в колбу 2 мл раствора D(+)-меллецитозы (5.2), используемого в качестве внутреннего стандарта. Доводят до метки водой степени чистоты HPLC (5.1) и перемешивают, переворачивая колбу. Выражают конечную концентрацию α -лактозы в миллиграммах безводной формы на миллилитр.

9.1.3 Фильтруют стандартный раствор через гофрированную фильтровальную бумагу (6.15), используя фильтровальную воронку (6.14). Отбирают фильтрат в шприц (6.17). Привинчивают нейлоновый фильтр (6.16) на шприц, а затем переносят каждый фильтрат в пробирку HPLC (6.18). Вводят каждый стандартный раствор дважды в соответствии с требованиями 9.4.2.

Приготовленный таким образом стандартный раствор может использоваться для приготовления трех наборов калибровочных растворов. Используют каждый набор только один раз для калибровки колонки HPLC. Хранят неиспользованные наборы стандартного раствора лактозы при температуре 4 °C не более 1 недели. Перед использованием доводят все охлажденные стандартные растворы до температуры примерно 20 °C.

Для контроля калибровки вводят стандартный раствор в качестве неизвестной пробы перед началом и в конце серии проб для анализа.

9.2 Приготовление пробы для анализа

9.2.1 Проба для испытания жидкого молока

Взвешивают с точностью до 1 мг приблизительно 3 мл подготовленной пробы для испытания (см. Раздел 8) в мерной колбе с одной меткой вместимостью 10 мл (6.19). Продолжают, как указано в 9.3.

9.2.2 Проба для испытания сухого молока

Взвешивают с точностью до 1 мг приблизительно 0,300 г пробы для испытания в мерной колбе с одной меткой вместимостью 10 мл (6.19). Добавляют приблизительно 5 мл воды степени чистоты HPLC (5.1), предварительно нагретой до температуры от 50 °C до 60 °C. Тщательно перемешивают до образования гомогенного раствора. Оставляют полученный таким образом испытательный раствор для охлаждения до температуры 20 °C \pm 1 °C. Продолжают, как указано в 9.3.

9.2.3 Проба для испытания сливок

Взвешивают с точностью до 1 мг приблизительно 1 г подготовленной пробы для испытания (см. Раздел 8) в мерной колбе с одной меткой вместимостью 10 мл (6.19). Продолжают, как указано в 9.3.

9.3 Приготовление фильтрата

Добавляют 2 мл раствора D(+)-меллецитозы (5.2) в качестве внутреннего стандарта и 1,2 мл раствора Бигса-Ширта (5.4) к содержимому колбы, полученному согласно методик 9.2.1, 9.2.2 или 9.2.3 соответственно. Разбавляют до метки водой степени чистоты HPLC (5.1).

Осторожно перемешивают содержимое, переворачивая колбу пять раз. Оставляют постоять при комнатной температуре в течение 10 мин. Повторяют процесс смешивания и выдержки еще два раза.

Фильтруют содержимое колбы через гофрированную фильтровальную бумагу (6.15), используя фильтровальную воронку (6.14). Собирают фильтрат шприцем (6.17). Навинчивают на шприц