

Министерство сельского хозяйства и продовольствия
Республики Беларусь

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины

**Кафедра технологии производства продукции
и механизации животноводства**

ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ. ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ МОЛОКА

Рекомендовано учебно-методическим объединением по образованию
в области сельского хозяйства в качестве учебно-методического пособия
для студентов учреждений, обеспечивающих получение высшего
образования I ступени по специальности
1-74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза»

Часть 1

Витебск
ВГАВМ
2020

УДК 637.1.03
ББК 36.95
Т38

Рекомендовано учебно-методическим объединением по образованию в области сельского хозяйства в качестве учебно-методического пособия для студентов учреждений, обеспечивающих получение высшего образования I ступени по специальности 1-74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза» (протокол № 82 от 2 октября 2020 года)

Авторы:

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *М. М. Карпеня*;
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *В. Н. Подрез*;
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *Ю. В. Шамич*;
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *К. Л. Медведева*;
ассистент *Т. А. Шаура*

Рецензенты:

доктор сельскохозяйственных наук, профессор *В. А. Медведский*;
кандидат ветеринарных наук, доцент *П. Д. Гурский*

Технология производства молока и молочных продуктов.

Т38 Лабораторный контроль молока : учеб. - метод. пособие для студентов учреждений, обеспечивающих получение высшего образования I ступени по специальности 1-74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза» / М. М. Карпеня [и др.]. – Часть 1. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 76 с.

Учебно-методическое пособие написано в соответствии с учебной программой и тематическим планом для проведения лабораторных и практических занятий по дисциплине «Технология производства молока и молочных продуктов». Включает отбор средних проб молока для исследования, органолептическую оценку молока, определение физико-химических и микробиологических показателей молока, исследование молока на наличие ингибирующих веществ, контроль антибиотиков в молоке, определение соматических клеток в молоке.

УДК 637.1.03
ББК 36.95

© УО «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной
медицины», 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	5
Занятие 1. Техника безопасности при работе в молочной лаборатории. Отбор средних проб молока для исследования. Способы консервирования проб молока	6
Занятие 2. Органолептическая оценка молока. Пороки молока и меры их предупреждения	9
Занятие 3. Определение плотности и группы чистоты молока	16
3.1. Определение плотности молока ареометрическим способом по ГОСТ 3625–84	16
3.2. Определение степени чистоты молока по ГОСТ 8218–89	20
Занятие 4. Определение титруемой кислотности молока	21
Занятие 5. Определение массовой доли жира в молоке	23
5.1. Кислотный метод определения массовой доли жира в молоке по ГОСТ 5867–90	23
5.2. Расчеты, проводимые на основе массовой доли жира в молоке	25
Занятие 6. Определение массовой доли белка в молоке	27
6.1. Определение массовой доли общего белка в молоке методом Кьельдаля по СТБ ISO 8968-1-2008	27
6.2. Определение массовой доли белка в молоке методом формольного титрования по ГОСТ 25179	28
Занятие 7. Определение бактериальной обсемененности молока	31
7.1 Метод определения уровня бактериальной обсемененности сырого молока (редуктазная проба)	31
7.2. Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов КМАФАнМ	33
Занятие 8. Определение массовой доли лактозы в молоке	36
Занятие 9. Определение массовой доли сухого вещества в молоке и сухого обезжиренного молочного остатка	38
9.1. Определение массовой доли сухого вещества в молоке по ГОСТ ISO 6731/IDF 21–2012	38
9.2. Определение сухого вещества в молоке и СОМО расчетным методом..	39
Занятие 10. Определение ингибирующих веществ в молоке	40
10.1. Метод определения ингибирующих веществ с использованием тест-культуры термофильного стрептококка индикатора резазурина	40
10.2. Определение ингибирующих веществ с использованием стандартного диффузионного теста, содержащего в качестве тест-культуры споры <i>Bac. stearothermophilus</i> var. <i>calidolactis</i> и индикатор бромкрезолпурпур (Delvotest T)	42
10.3. Определение ингибирующих веществ с использованием теста, содержащего в качестве тест-культуры споры <i>Bac. stearothermophilus</i> var. <i>calidolactis</i> и индикатор бриллиантовый черный (BRT-inhibitor тест)	43
10.4. Определение соды в молоке по ГОСТ 24065–80	43

10.5. Определение перекиси водорода в молоке по ГОСТ 24067–80	44
Занятие 11. Контроль молока на наличие антибиотиков	45
11.1. Метод с использованием тест-набора «Twinsensor ^{BT} »	46
11.2. Метод с использованием тест-набора «Betastar Combo»	48
11.3. Метод с использованием тест-набора «4sensor ^{BTCS} »	49
11.4. Метод с использованием тест-набора «Betastar 4D»	50
11.5. Метод с использованием тест-набора «PROQUI-TEST 4»	51
Занятие 12. Определение содержания соматических клеток в молоке и выявление коров, больных маститом	54
12.1. Метод определения соматических клеток в молоке на молочноконтрольных пластинках с применением препарата «Беломастин»	55
12.2. Визуальный метод определения соматических клеток по изменению вязкости с применением препарата «Мастоприм» по ГОСТ 23453	55
12.3. Метод выявления молока от коров, больных маститом, с применением препарата «Керба-тест»	56
12.4. Метод выявления молока от коров, больных маститом, с применением препаратов «Димастин» и «Мастидин»	57
12.5. Метод выявления молока от коров, больных маститом, с применением теста «Somaticell CSS Test»	58
12.6. Метод определения количества соматических клеток в молоке с применением вискозиметра по ГОСТ 23453–2014	60
12.7. Метод определения количества соматических клеток с применением микроскопа (СТБ ISO 13366-1 / IDF 148-1-2014) – контрольный метод	62
Занятие 13. Определение термоустойчивости молока по алкогольной пробе (ГОСТ 25228–82)	64
Занятие 14. Определение показателей молока на анализаторах	66
14.1. Анализатор молока Ekomilk-Bond (Ekomilk тип Milkana KAM98–2A)	66
14.2. Анализатор качества молока «Лактан 1–4 М» исполнение 600 УЛЬТРА/240b	68
Занятие 15. Методы определения фальсификации молока	70
Литература	73

ВВЕДЕНИЕ

В Республике Беларусь в настоящее время реконструируется и переоснащается значительное количество молочно-товарных ферм, вводятся новые комплексы с современными доильными залами, что позволит не только увеличить производство, но и улучшить качество молока. Благодаря обновлению производственных мощностей и внедрению современных технологий молочное скотоводство в республике является одной из самых динамично развивающихся и эффективных отраслей животноводства. Уровень рентабельности продаж молока за 2019 год составил 18,8%, а продуктивность молочного стада превысила пяти тысячный рубеж и составила 5039 кг. Валовое производство молока достигло 7,11 млн т, 7 сельскохозяйственных организаций надоили более 10 тыс. кг молока на корову в год, 18 хозяйств – более 9 тыс. кг и 48 предприятий – более 8 тыс. кг.

Необходимо обратить внимание на еще одно преимущество новых технологий. Это возможность производить молоко высокого качества, реализовывать его сортом «экстра», что выгодно из-за разницы в цене производителям, а также переработчикам, которые из качественного молока производят конкурентоспособные на внутреннем и внешнем рынке молочные продукты, а также расширяют их ассортимент. Количество молока, реализованного сортом «экстра» в 2019 году, составило 52,4%. При этом по молочным комплексам промышленного типа реализация молока сортом «экстра» с начала 2020 года составила 72,3%.

Основной целью настоящего учебно-методического пособия является обучить студентов владеть методами лабораторного контроля молока, предусмотренными типовым учебным планом и образовательным стандартом по специальности 1-74 03 04 «Ветеринарная санитария и экспертиза».

ЗАНЯТИЕ 1. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В МОЛОЧНОЙ ЛАБОРАТОРИИ. ОТБОР СРЕДНИХ ПРОБ МОЛОКА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ. СПОСОБЫ КОНСЕРВИРОВАНИЯ ПРОБ МОЛОКА

Цель занятия: изучить правила работы и технику безопасности в молочной лаборатории, научиться проводить отбор средней пробы молока, изучить способы консервирования молока, подготовки его к анализу, проводимому по ГОСТ ISO 707, ГОСТ 26809.1, ГОСТ ISO 2859–1, СТБ 1036, ГОСТ 13928, ГОСТ 26809, ГОСТ 26929.

Приборы, оборудование и реактивы: мутовка, пробоотборник, мензурка, емкость для сбора проб на 200–250 мл, пипетки на 1 и 2 см³, 10%-ный раствор двуххромовокислого калия, 38–40%-ный раствор формалина, 30%-ный раствор перекиси водорода.

Методические указания: во время занятий необходимо соблюдать следующие правила техники безопасности:

1. Категорически запрещается работать без халатов и иметь на рабочем столе посторонние предметы. Рабочее место на двух человек.

2. Выполняя анализы, необходимо соблюдать осторожность, не отвлекать внимание товарищей, не оставлять без присмотра рабочее место. При выполнении анализов следует работать стоя.

3. Во время выполнения заданий строго соблюдать методику: использовать те реактивы и в таких количествах, которые указаны в методических указаниях по выполнению исследований.

4. При разбавлении кислоты заранее отмерить ее количество и воду. Кислоту необходимо приливать небольшими порциями к воде (а не наоборот). Затем смесь тщательно размешивается стеклянной палочкой и охлаждается.

При определении содержания жира кислоту и изоамиловый спирт нужно отмеривать дозатором.

8. Во избежание поломки при центрифугировании в центрифугу надо ставить четное число жирометров и располагать их один против другого.

9. Жирометр необходимо обернуть полотенцем или салфеткой и держать за корпус (расширенную часть), не применяя больших усилий при ввертывании пробок, пробки должны быть эластичными.

5. Запрещается выливать в раковину концентрированные кислоты. Их сливают в специальную посуду с этикетками.

6. Нельзя нагревать легковоспламеняющиеся вещества на открытых электроплитках (горелках). Нельзя нагревать химическую посуду на огне без асбестовой сетки.

7. При несчастных случаях, вызванных термическими ожогами (огонь, пар, горячие предметы), для оказания первой помощи необходимо пораженные места обработать 1–5%-ным раствором перманганата калия.

При химических ожогах концентрированными кислотами или щелочами пораженное место обильно промывают водой, затем прикладывают примочки из 2–3% раствора пищевой соды (при ожогах кислотой) или 5% раствора уксусной

или другой слабой кислоты (при ожогах щелочью). Запрещается: проводить без разрешения преподавателя органолептическую оценку проб молока и молочных продуктов; пить воду из химической посуды; ставить реактивы общего пользования на рабочие столы; выливать в раковину крепкие кислоты и щелочи; ставить ненужные предметы на рабочие столы.

8. По окончании работы необходимо привести рабочее место в порядок (расставить реактивы, приборы, вымыть использованную посуду, а бумагу, фильтры, битую посуду убрать в мусорные ящики).

Взятие средней пробы молока. Средней пробой называют часть продукта, отобранного из всех емкостей или единиц упаковки, представленных на экспертизу. Под средней пробой также понимают часть молока, отобранного от суточного удоя коровы. Чтобы определить качество молока, следует пробу молока брать пропорционально от каждого удоя и лучше в течение двух смежных суток. При оценке качества молока непосредственно в хозяйстве объем объединенной пробы должен составлять $250\text{--}300\text{ см}^3$, при оценке качества молока на молочном заводе – около 1000 см^3 . Для определения кислотности и содержания жира достаточно взять 50 мл молока.

Перед вскрытием емкостей крышки очищают от загрязнений, промывают и протирают. При отборе проб молока следует соблюдать следующую последовательность: сначала отбирают пробы для микробиологических анализов, затем – для определения органолептических показателей и далее – для определения физико-химических показателей молока. Молоко перед отбором проб тщательно перемешивают: в цистернах и танках с помощью механических мешалок – в течение 1–5 минут, во флягах и доильных ведрах – мутовкой 8–10 раз. Из каждой емкости берут среднюю пробу, сливают их в литровую кружку, тщательно перемешивают и берут пробником лабораторный образец.

Точечные пробы молока берут пробоотборником – пластмассовой или металлической луженой трубкой с внутренним диаметром 9 ± 1 мм. Стеклянным пробником пользоваться запрещено. Трубку медленно погружают до дна посуды, закрывают верхнее отверстие большим пальцем руки, вынимают пробник и выливают молоко в подготовленную чистую стеклянную посуду. Из каждой емкости и с каждого удоя отбирается одинаковое количество пробоотборников с молоком. Пробы можно взять также мерными цилиндрами или кружками. Удобно пользоваться мутовками с привинчивающимися к ним мерными черпачками различного объема. Такие мутовки имеют периферический диск из резины, что способствует наилучшей его вибрации и, следовательно, лучшему перемешиванию молока.

При отборе проб от партии молока, находящегося в нескольких емкостях (фляги, цистерны, секции цистерн), из каждой емкости берут пропорциональное количество молока. Пропорциональность отбора пробы соблюдается путем погружения отборника проб в каждую емкость одинаковое количество раз (число точечных проб от каждой единицы тары должно быть одинаковым) либо проведением предварительных расчетов.

Пример. Составить среднюю пробу молока объемом 250 см^3 от партии

продукции массой 6000 кг, находящейся в двух емкостях. Масса молока в одной секции – 2500 кг, в другой – 3500 кг.

1. Определяем количество молока, которое необходимо отобрать от каждого килограмма:

$$300 : 6000 = 0,05 \text{ см}^3.$$

2. Определяем количество молока, которое необходимо отобрать из каждой емкости:

$$2500 \times 0,05 = 125 \text{ см}^3;$$

$$3500 \times 0,05 = 175 \text{ см}^3.$$

Объем средней пробы составит 300 см^3 .

При отборе проб молока от отдельных коров, стада или группы коров среднюю пробу составляют из пропорциональных порций всех суточных удоев.

Отбор стойловой (контрольной) пробы. Стойловая проба – это натуральное молоко, полученное при тех же условиях, что и фальсифицированное, т.е. того же стада, той же группы коров, в ту же дойку и т.д. Эту пробу берут в том случае, когда оспариваются результаты исследований или же возникают сомнения относительно натуральности молока (подозрение на фальсификацию). Контрольную пробу необходимо брать не позднее, чем через двое суток. Среднюю контрольную пробу берут в обычном порядке в количестве не менее 250 мл. Емкости с пробами в присутствии представителя хозяйства опечатывают, охлаждают и направляют на анализ. Разница в показателях содержания жира в стойловой и контролируемой пробах не должна быть более 0,3%.

Консервирование проб молока. Пробы, предназначенные для микробиологического исследования, следует хранить (хотя хранение нежелательно) при температуре 1–4°C не более 4 часов. Пробы для химического анализа тоже можно хранить при температуре, близкой к 0°C, в течение 1–2 суток. При более длительном хранении их консервируют 10%-ным раствором двуххромовокислого калия (хромпиком), 38–40%-ным раствором формалина, 30%-ным раствором перекиси водорода, хлороформом или сулемой.

Пробы молока, законсервированные перекисью водорода, можно использовать в корм животным (пробы с перекисью водорода предварительно нагреть для ее разложения). Консервирование двуххромовокислым калием основано на том, что он является сильным окислителем и разрушает протоплазму микроорганизмов. Формалин обладает сильным бактерицидным действием, он вступает в прочное соединение с белками бактериальных клеток и парализует их жизнедеятельность. Формалин также вступает в реакцию с белками молока, разрушая аминную группу; белок молока переходит в нерастворимое в серной кислоте соединение, поэтому избыточное количество формалина при консервировании затрудняет определение жира. Перекись водорода обладает сильными антиокислительными свойствами. Под действием ферментов молока (пероксидазы и каталазы) этот консервант разлагается с образованием атомарного кислорода, который проникает в бактериальные клетки и вызывает их гибель.

На 100 мл молока добавляют: хромпика (10%-ный) – 1,0 мл; формалина (40%-ный) – 0,1 мл или 3 капли; перекиси водорода (30%-ная) – 0,2 мл или 6

капель. Консервированные пробы молока нельзя исследовать на органолептические показатели, титруемую кислотность, бактериальную обсемененность и биологические свойства.

Подготовка проб к анализу. Пробы молока перед анализом должны иметь температуру $20 \pm 2^\circ\text{C}$, поэтому их необходимо подогреть или охладить и перемешать, перевертывая 4–5 раз плотно закрытые емкости, или перелить 3 раза из одного сосуда в другой. Если при хранении отстоялся плотный слой сливок, емкости перед анализом нагревают до $30\text{--}40^\circ\text{C}$, перемешивают молоко и охлаждают до 20°C .

Задание 1. Определить количество молока, которое необходимо отобрать на утренней, обеденной и вечерней дойках от коровы, если надоено 20 кг молока: утром – 10 кг, в обед – 4 кг, а вечером – 6 кг. Необходимо определить все основные показатели молока.

Задание 2. Как правильно отобрать пробу молока от группы коров, если утром надоено 158 кг, в обед – 129, а вечером – 149 кг?

Задание 3. Составить среднюю пробу молока в количестве 250 см^3 от следующих партий, поступивших на молокозавод: I – 1800 кг, II – 2305 кг, III – 4300 кг, IV – 3900 кг.

Задание 4. Сделать расчет для составления средней пробы молока, поступившего на пункт приемки в автомобильной цистерне, в одном отсеке которого имеется 830 кг, а во втором – 710 кг молока. Для проведения анализа требуется 250 см^3 молока.

Задание 5. Сколько нужно взять 30%-ного раствора перекиси водорода, чтобы консервировать пробу молока объемом 300 см^3 ; сколько 40%-ного раствора формалина требуется для консервирования пробы молока в количестве 500 см^3 ; сколько 10%-ного раствора двуххромовокислого калия нужно затратить, при консервировании 250 см^3 , отобранного для анализа?

Контрольные вопросы: 1. Перечислите основные правила техники безопасности в лаборатории. 2. Как отобрать среднюю пробу молока у отдельных коров и молока, находящегося в разных емкостях? 3. Как долго и при какой температуре можно хранить пробы молока перед анализом? 4. Как долго и при какой температуре можно хранить консервированные пробы? 5. Какие вещества применяются для консервирования проб молока? 6. Какие показатели нельзя определять в консервированных пробах молока?

ЗАНЯТИЕ 2. ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МОЛОКА. ПОРОКИ МОЛОКА И МЕРЫ ИХ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Цель занятия: освоить методику органолептической оценки молока согласно ГОСТ 28283–15 «Молоко коровье. Метод органолептической оценки запаха и вкуса» (арбитражный метод), изучить пороки молока и причины их возникновения.

Приборы, оборудование и реактивы: баня водяная, термометр спиртовой,

колбы или стаканчики вместимостью 100 мл с пришлифованными пробками, цилиндр мерный вместимостью 50–100 мл, фольга алюминиевая.

Методические указания: органолептические показатели оценивают в каждой партии молока. Внешний вид, консистенцию и цвет молока определяют визуально, вкус и запах – органолептически. Допускается проводить оценку вкуса после нагревания пробы не менее 72°С, с последующим охлаждением молока до температуры $(18 \pm 2)^\circ\text{C}$.

В случае разногласий в оценке органолептических показателей анализ проводят по ГОСТ 28283. Данный стандарт распространяется на сырое и термически обработанное коровье молоко, применяется при возникновении разногласий в оценке качества. Оценка запаха и вкуса молока проводит комиссия, состоящая не менее чем из трех испытателей, специально обученных и аттестованных в соответствии с рекомендациями ГОСТ ISO 8586, ГОСТ ISO 3972, ГОСТ ISO 5496 и другими действующими нормативными документами.

Отбор проб проводят не ранее чем через 2 ч после доения. Пробы каждого поставщика зашифровывают.

В чистую сухую колбу с пришлифованной пробкой объемом 100 см³ отбирают 60 ± 5 см³ молока и ставят на водяную баню, температура воды в которой $85 \pm 5^\circ\text{C}$. Уровень воды в водяной бане должен быть выше уровня молока на 1–2 см. Температуру пастеризации контролируют по калиброванному термометру в отдельной колбе с образцом молока. Через 30 с. после достижения температуры 72°С пробы вынимают из водяной бани и охлаждают до $37 \pm 2^\circ\text{C}$. При каждом исследовании сырого молока в одной из проб проверяют эффективность пастеризации в соответствии с ГОСТ 3623.

К органолептическим показателям молока относят цвет, запах, вкус, консистенцию, на основании которых устанавливают наличие тех или иных пороков.

Цвет молока. Его определяют в отраженном дневном свете в стеклянном стаканчике емкостью 100 мл, объем молока в котором должен быть 50–60 мл. Цвет нормального молока здоровых коров белый или слегка желтоватый (кремовый оттенок). Желтоватый оттенок зависит от содержания каротина и липохромов молочного жира.

Консистенция молока. Консистенция нормального молока – однородная, без слизи, хлопьев и нетягучая. Определяют консистенцию при медленном переливании молока (50–60 мл) из стакана в стакан. При этом обращают внимание на стекаемость молока, остаток на стекле. Хлопья белка легко обнаружить на стенках сосуда.

Молоко, не соответствующее требованиям СТБ 1598–2006 года по внешнему виду, цвету и консистенции, органолептической оценке вкуса и запаха, приемке и реализации не подлежит.

Оценку запаха и вкуса молока определяют как непосредственно после отбора проб, так и после их хранения и транспортирования в течение не более 4 ч при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

Анализируемые пробы сравнивают с пробой молока без пороков запаха и

вкуса с оценкой 5 баллов (таблица 1), которую предварительно подбирают.

Запах молока определяют сразу после открывания колбы с пробкой. Затем 20 ± 2 см³ молока наливают в сухой чистый стакан, охлаждают до температуры 20 ± 2 °С и оценивают вкус. Для восстановления вкусовой чувствительности после каждого опробования необходимо ополаскивать ротовую полость водой с температурой 30–40°С.

Таблица 1 – Оценка запаха и вкуса

Запах и вкус	Оценка	Баллы
Чистый, приятный, слегка сладковатый	Отлично	5
Недостаточно выраженный, пустой, без посторонних запахов и привкусов	Хорошо	4
Слабовыраженный нечистый, слабовыраженный кормовой (силоса, корнеплодов и др.), хлевный, липолизный, затхлый, посторонний запах и вкус, слабовыраженный горький, соленый вкус	Удовлетворительно	3
Выраженный нечистый, выраженный кормовой, в т. ч. лука, чеснока, полыни и др. трав, придающих молоку горький вкус и/или специфический запах, выраженный окисленный, хлевный, липолизный, затхлый запах и вкус, соленый вкус	Плохо	2
Горький, прогорклый, плесневелый, гниlostный; запах и вкус нефтепродуктов, лекарственных, моющих, дезинфицирующих средств и др. химикатов	Плохо	1

На основании балльной оценки оформляют экспертный лист. Если расхождение в оценке отдельными экспертами превышает один балл, ее повторяют не ранее чем через 30 мин. Результат повторной оценки является окончательным.

За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое значение результатов оценок, присужденных экспертами. Результат округляют до целого числа.

Обработка результатов. Молоко с оценкой 5 баллов относят к сорту «экстра», высшему и первому сорту в зависимости от других показателей; молоко, получившее 4 балла, относят к высшему и первому сорту. Молоко с оценкой 3 балла и ниже не относят к сортовому, оно признается несоответствующим требованиям СТБ 1598–2006 с изменениями №3.

Для повышения предела достоверности оценки анализируемые пробы сопоставляют с образцами сравнения в целях воспроизведения пороков запаха и вкуса молока (таблица 2).

Таблица 2 – Методы приготовления образцов сравнения для воспроизведения пороков запаха и вкуса

Запах и вкус	Методы приготовления образцов сравнения
1	2
Кормовой	Дистилляционный метод Подозреваемый корм (или силос) и воду, взятые в соотношении 1:2, помещают в колбу, не превышая половины ее объема. Колбу закрывают пробкой с отверстием, в которое вставлена стеклянная трубка. К трубке присоединяют шланг, свободный конец которого опускают в молоко. При нагревании суспензии летучие компоненты с водяным паром перегоняют в 50 см³ молока до четкого воспроизведения дефекта. Экстракционный метод Перемешивают смесь разных объемов корма (или силоса) и воды, фильтруют и количество фильтрата, необходимое для четкого воспроизведения дефекта, добавляют к 50 см³ молока. Метод с использованием химических реактивов 1. Образец сравнения «кормовой» композиции. К 50 см³ молока добавляют при перемешивании 1,0 см³ раствора «кормовой» композиции. 2. Образец сравнения «силосной» композиции. К 50 см³ добавляют при перемешивании 0,6 см³ раствора «силосной» композиции К 50 см³ молока добавляют при перемешивании 0,5 см³ раствора натрия хлористого с массовой долей 10% К 50 см³ молока добавляют при перемешивании 1,0 см³ раствора хинина солянокислого с массовой долей 0,1% К 50 см³ молока добавляют при перемешивании 1 см³ раствора железа сернокислого с массовой долей 0,3% К 250 см³ молока добавляют 0,2 см³ раствора меди сернокислой, с массовой долей 1%, тщательно перемешивают и хранят в холодильнике при 5°C в течение 24–48 ч К 100 см³ молока добавляют микропипеткой 0,02 см³ масляной кислоты, перемешивают Взвешивают в стеклянной бюксе 0,01 г каприновой кислоты и перемешивают с небольшим количеством молока, нагретого до 37±5°C, количественно переносят в колбу вместимостью 200 см³, доводят молоком до метки. Затем в эту колбу микропипеткой последовательно добавляют 0,01 см³ масляной кислоты, 0,01 см³ каприновой кислоты и 0,01 см³ капроновой кислоты, закрывают пробкой и тщательно перемешивают 1. К 50 см³ молока добавляют при перемешивании 2,5 см³ раствора капроновой кислоты с массовой долей 0,5% 2. 50 см³ молока в открытом сосуде помещают в эксикатор, в котором находится соскоб плесени. Оставляют на ночь в холодильнике при температуре 4±2°C. Затем добавляют 0,5 см³ раствора полиспонина с массовой долей 4% и 1,25 см³ раствора капроновой кислоты с массовой долей 0,5% 50 см³ молока в открытом стакане помещают в эксикатор, в котором находится соскоб плесени. Выдерживают сутки в холодильнике при температуре 4±2°C
Соленый	
Горький	
Окисленный (металлический)	
Липолизный	
Прогорклый	
Затхлый	
Плесневелый	

1	2
Соды	К 50 см ³ молока добавляют при перемешивании 0,1 см ³ раствора аммиака с массовой долей 10%
Аммиака	К 50 см ³ молока добавляют при перемешивании 0,5 см ³ фильтрата раствора кальция хлорноватистокислого (хлорной извести) с массовой долей 10%
Дезинфектанты	К 100 см ³ молока добавляют при перемешивании 0,1 см ³ осветительного керосина или бензина, переносят 10 см ³ этой смеси в сосуд с 90 см ³ молока с чистым запахом и вкусом, перемешивают. Процедуру повторяют. Следующее разведение, содержащее 0,001 см ³ керосина и 100 см ³ молока, используют в качестве образца сравнения
Нефтепродуктов	

При проведении органолептической оценки молока могут быть выявлены пороки, существенно снижающие его качество. В таблице 3 приведены основные пороки молока, причины их возникновения и меры предупреждения.

Таблица 3 – Пороки молока и меры их предупреждения

Пороки, отклонения	Причина	Меры предупреждения
1	2	3
Цвет		
Интенсивно желтый	Микроорганизмы, вырабатывающие пигменты (при заболевании коров – желтухой, пироплазмозом, маститом). Корма (зубровка, цветов одуванчика и др.). Медикаменты. Примесь молозива	Профилактические мероприятия, направленные на предохранение коров от заболеваний. Проведение агротехнических мероприятий
Синий и голубой	Пигментообразующие микробы. Туберкулез вымени, мастит. Корма (донник, пролеска, хвощ полевой). Разбавление молока водой, подсытие жира	То же
Красноватый оттенок	Заболевание коров маститом, пироплазмозом и др. Нарушение правил машинного доения. Поедание большого количества лютиковых, молочайных и хвощей. Отравления. Механическое повреждение вымени. Пигментообразующие микроорганизмы	Профилактические мероприятия, направленные на предохранение коров от заболеваний. Соблюдение правил машинного доения, гигиены кормления коров
Запах		
Лекарственный	Применение лекарственных средств с сильным запахом (креолин, карболовая кислота, деготь и т.п.). Попадание дезсредств в молоко	Правильно использовать лечебные и дезинфицирующие средства. Соблюдение правил мойки и дезинфекции молочного оборудования и посуды
Хлевный	Плохое санитарное состояние скотного двора. Попадание в молоко частиц кожных покровов животного, навоза	Содержать скотный двор в хорошем состоянии. Соблюдение санитарно-гигиенических правил получения и первичной обработки молока
Затхлый	Развитие анаэробных микроорганизмов при хранении неохлажденного молока в плотно закрытой емкости	Соблюдать правила хранения молока

1	2	3
Аммиачный	Длительное нахождение молока в незакрытых емкостях на скотном дворе. Хранение в плохо вымытой и не продезинфицированной посуде. Бактерии из группы кишечной палочки	Не допускать попадание микроорганизмов в молоко. Хранение молока в охладителях закрытого типа. Своевременная и тщательная мойка и дезинфекция молочной посуды и оборудования
Кормовой (капустный, редьки, ромашки и др.)	Избыток в рационе капусты и других кормов с резким запахом. Развитие в молоке посторонней микрофлоры	Не допускать скармливание кормов свыше допустимых норм. Соблюдение санитарно-гигиенических правил получения и первичной обработки молока
Масляной кислоты	Скармливание силоса плохого качества	Не скармливать некачественный силос
Ацетоновый	Скармливание некачественного силоса. Ацетонемия	Не скармливать некачественный силос
Дрожжевой, спиртовой	Хранение загрязненного молока при низкой температуре	Соблюдение санитарно-гигиенических правил получения и первичной обработки молока
Гнилостный	Развитие в молоке гнилостной микрофлоры. Скармливание загнивших, плесневых кормов.	Соблюдение гигиены кормления животных. Соблюдение санитарно-гигиенических правил получения молока
Рыбный	Микроорганизмы. Поение водой с водорослями. Пастба на заливных лугах	Соблюдение санитарно-гигиенических правил получения и первичной обработки молока. Соблюдение гигиены поения и кормления животных
Кислый	Хранение молока в недостаточно чистой посуде. Повышенная кислотность молока. Высокая бактериальная обсемененность. Поедание кислых кормов (силос, щавель кислый и др.)	Своевременная и тщательная мойка и дезинфекция молочной посуды и оборудования. Соблюдение санитарно-гигиенических правил получения и первичной обработки молока. Соблюдение гигиены кормления животных
Вкус		
Горький	Молоко стародойных коров, молозиво, медикаменты. Поедание растений, содержащих эфирные масла (полынь, люпин, донник белый и др.). Скармливание порченных кормов. Избыток бобовых в рационе. Попадание микроорганизмов в молоко. Длительное хранение молока при низких температурах. Отравление, заболевания коров	Молозиво и стародойное молоко не сливать в общий надой. Тщательное балансирование рационов. Предупреждение заболеваний. Соблюдение правил доения и первичной обработки молока. Не допускать к скармливанию растения, содержащие эфирные масла
Прогорклый или терпко-солёный	Период запуска или начало лактации. Маститы, аборт, заболевания желудочно-кишечного тракта. Микроорганизмы. Выпас на болотистых пастбищах. Попадание прямых солнечных лучей и высокая температура при хранении молока	Не сливать молозиво и стародойное молоко в общий надой. Предупреждение заболеваний. Соблюдение правил доения и хранения молока
Солёный	Молоко стародойных коров, примесь молозива, мастит, туберкулез вымени	Молозиво и стародойное молоко не сливать в общее. Не допускать заболевания коров

1	2	3
Мыльный	Хранение неохлажденного молока в закрытых флягах. Нейтрализация молока содой. Поедание полевого хвоща	Соблюдать правила хранения молока, не допускать «раскисления» молока содой. Контроль за составом травостоя на пастбищах
Кислый	Хранение молока в недостаточно чистой посуде. Повышенная кислотность молока. Высокая бактериальная обсемененность. Поедание кислых кормов (силос, щавеля кислого и др.)	Своевременная и тщательная мойка и дезинфекция молочной посуды и оборудования. Соблюдение санитарно-гигиенических правил получения и первичной обработки молока. Соблюдение гигиены кормления животных
Привкус отдельных видов кормов (репы, редиса, чеснока, лука, свеклы и т.д.)	Избыток данных кормов в рационе. Выпас на пастбищах с наличием приведенных растений. Микроорганизмы	Не допускать избыток отдельных видов растений в рационе. Контролировать ботанический состав травостоя на пастбищах. Соблюдение санитарно-гигиенических правил получения молока
Металлический привкус	Избыток окиси железа в воде. Действие на молоко прямых солнечных лучей, высокой температуры. Длительное хранение при низкой температуре. Микроорганизмы. Скармливание в избытке свекловичной ботвы, жома, силоса и т.д.	Не допускать перекармливание указанными кормами. Соблюдение правил хранения молока. Обезжелезивание воды
Привкус нефтепродуктов	Скармливание загрязненных нефтепродуктами кормов (силоса, сенажа). Попадание их в молоко	Контроль качества кормов
Рыбный	Скармливание животным рыбной муки	Следить за кормлением
Консистенция		
Водянистая	Туберкулез, катаральное воспаление вымени. Избыток в рационе барды, свеклы. Разбавление молока водой. Однообразное кормление грубыми кормами плохого качества	Соблюдать допустимые нормы кормов, не допускать заболевания коров. Не допускать фальсификацию молока
Слизистая, тягучая	Примесь молозива, ящур, мастит. Посторонняя микрофлора	Не сливать молозиво в общее молоко, не допускать заболевания коров
Пенистая	Скармливание недоброкачественного силоса. Длительное хранение на холоде. Развитие микроорганизмов	Соблюдение правил хранения молока. Не допускать скармливание недоброкачественного силоса
Творожистая	Развитие в молоке микроорганизмов, вырабатывающих сычужный фермент. Мастит. Примесь молозива или стародойного молока. Высокая кислотность	Не допускать маститы. Соблюдение санитарно-гигиенических правил получения и первичной обработки молока

Задание 1. Определите органолептические свойства трех проб молока, полученные данные запишите в таблицу 4 и оформите экспертный лист, содержание которого приведено ниже. Сделайте соответствующие выводы.

Таблица 4 – Органолептические показатели исследуемых проб молока

Показатели	Номер образца		
	№ 1	№ 2	№ 3
Цвет			
Внешний вид и консистенция			
Запах			
Вкус			

Экспертный лист		
Дата оценки: _____		
Фамилия эксперта: _____		
Номер пробы	Запах и вкус молока	Оценка, баллы (по 5-балльной шкале)

Подпись: _____

Примечание: оформляется в печатном виде на листах формата А4

Контрольные вопросы: 1. Как проводится органолептическая оценка молока по ГОСТ 28283-15? 2. Какие пороки консистенции молока вы знаете? Причины их возникновения и меры предупреждения? 3. Какие пороки цвета молока вы знаете? 4. Какие причины пороков запаха молока вы знаете? 5. Какие пороки вкуса молока вы знаете?

ЗАНЯТИЕ 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛОТНОСТИ И ГРУППЫ ЧИСТОТЫ МОЛОКА

Цель занятия: изучить методы и получить практические навыки определения плотности и чистоты молока.

3.1. Определение плотности молока ареометрическим способом по ГОСТ 3625-84

Приборы, оборудование и реактивы: ареометры для молока типа АМ или типа АМТ; ареометры общего назначения типа АОН-1 или типа АОН-2; цилиндры стеклянные для ареометров; термометры ртутные стеклянные лабораторные с диапазоном измерений 0–55°С, ценой деления 0,5 и 1,0°; термометры жидкостные; секундомер механический; баня водяная.

Методические указания: плотность коровьего молока определяют при температуре 20±5°С не ранее, чем через 2 ч после дойки.

Ареометры и необходимая стеклянная посуда должны быть тщательно вы-

мыты моющими растворами, ополоснутыми дистиллированной или кипяченой питьевой водой, а остатки влаги удалены льняной тканью или полотенцем. Затем вся аппаратура должна быть выдержана на воздухе до полного высыхания. При массовых анализах допускается ополаскивание цилиндра молоком, отобранном для очередного определения плотности другой исследуемой пробы молока.

Пробу объемом 0,25 или 0,50 дм³ тщательно перемешивают и осторожно, во избежание образования пены, переливают по стенке в сухой цилиндр, который следует держать в слегка наклонном положении. Если на поверхности пробы в цилиндре образовалась пена, ее снимают мешалкой.

При возникновении разногласий в оценке качества при определении плотности молока применяют ареометрический метод, заключающийся в том, что пробу нагревают до $40 \pm 2^\circ\text{C}$, выдерживают при этой температуре в течение 5 ± 1 мин., затем охлаждают до $20 \pm 2^\circ\text{C}$ и проводят измерения плотности молока ареометрами типа АМ или АТМ.

Цилиндр с исследуемой пробой устанавливают на ровной горизонтальной поверхности и измеряют температуру пробы. Отсчет показаний температуры проводят не ранее, чем через 2–4 мин. после опускания термометра в пробу.

Сухой и чистый ареометр опускают медленно в исследуемую пробу.

Погружают его до тех пор, пока до предполагаемой отметки ареометрической шкалы не останется 3–4 мм, затем оставляют его в свободно плавающем состоянии. Ареометр не должен касаться стенок цилиндра (рисунок 1).

Первый отсчет показаний плотности проводят визуально по верхнему мениску со шкалы ареометра через 3 мин после установления его в неподвижном положении.

После этого ареометр осторожно приподнимают на высоту до уровня балласта в нем и снова опускают, оставляя его в свободно плавающем состоянии. После установления его в неподвижном состоянии проводят второй отсчет показаний плотности (рисунок 2). При отсчете показаний плотности глаз должен находиться на уровне мениска. Отсчет показаний проводят по верхнему краю мениска. Затем измеряют температуру пробы.

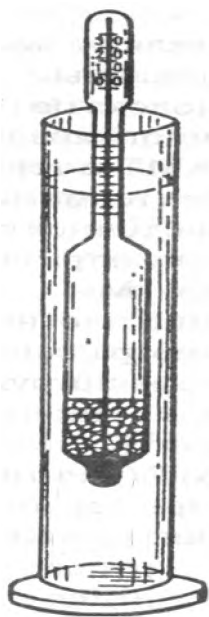


Рисунок 1 – Цилиндр с погруженным в молоко ареометром

Расхождение между повторными определениями плотности (последовательно одно определение за другим в одной и той же пробе) не должно превышать 0,5 кг/м³ для ареометров типов АМ и АТМ и 1,0 кг/м³ – АОН-1, АОН-2.

Обработка результатов. Определяют среднеарифметическое значение результатов показаний температуры и плотности.

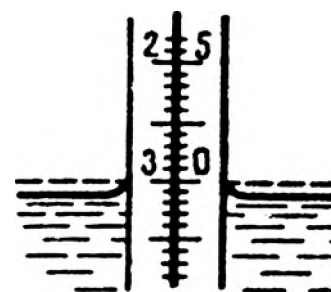


Рисунок 2 – Отсчет показаний плотности молока

Если проба во время определения плотности имела температуру выше или ниже 20°C, то результаты определения плотности при данной температуре должны быть приведены к 20°C в соответствии с таблицами 5 и 6.

Таблица 5 – Показатели плотности коровьего молока, приведенные к 20°C

Плотность молока $\rho_{\text{ср}}^t$, кг/м ³	Плотность, приведенная к 20°C, кг/м ³ , при температуре молока t , °C										
	15,0	15,5	16,0	16,5	17,0	17,5	18,0	18,5	19,0	19,5	20,0
1025,0	1023,4	1023,6	1023,7	1023,9	1024,0	1024,2	1024,4	1024,5	1024,7	1024,8	1025,0
1025,5	1023,9	1024,1	1024,2	1024,4	1024,5	1024,7	1024,9	1025,0	1025,2	1025,3	1025,5
1026,0	1024,4	1024,6	1024,7	1024,9	1025,0	1025,2	1025,4	1025,5	1025,7	1025,8	1026,0
1026,5	1024,9	1025,1	1025,2	1025,4	1025,5	1025,7	1025,9	1026,0	1026,2	1026,3	1026,5
1027,0	1025,4	1025,6	1025,7	1025,9	1026,0	1026,2	1026,4	1026,5	1026,7	1026,8	1027,0
1027,5	1025,9	1026,1	1026,2	1026,4	1026,5	1026,7	1026,9	1027,0	1027,2	1027,3	1027,5
1028,0	1026,4	1026,6	1026,7	1026,9	1027,0	1027,2	1027,4	1027,5	1027,7	1027,8	1028,0
1028,5	1026,9	1027,1	1027,2	1027,4	1027,5	1027,7	1027,9	1028,0	1028,2	1028,3	1028,5
1029,0	1027,4	1027,6	1027,7	1027,9	1028,0	1028,2	1028,4	1028,5	1028,7	1028,8	1029,0
1029,5	1027,9	1028,1	1028,2	1028,4	1028,5	1028,7	1028,9	1029,0	1029,2	1029,3	1029,5
1030,0	1028,4	1028,6	1028,7	1028,9	1029,0	1029,2	1029,4	1029,5	1029,7	1029,8	1030,0
1030,5	1028,9	1029,1	1029,2	1029,4	1029,5	1029,7	1029,9	1030,0	1030,2	1030,3	1030,5
1031,0	1029,4	1029,6	1029,7	1029,9	1030,0	1030,2	1030,4	1030,5	1030,7	1030,8	1031,0
1031,5	1029,9	1030,1	1030,2	1030,4	1030,5	1030,7	1030,9	1031,0	1031,2	1031,3	1031,5
1032,0	1030,4	1030,6	1030,7	1030,9	1031,0	1031,2	1031,4	1031,5	1031,7	1031,8	1032,0
1032,5	1030,9	1031,1	1031,2	1031,4	1031,5	1031,7	1031,9	1032,0	1032,2	1032,3	1032,5
1033,0	1031,4	1031,6	1031,7	1031,9	1032,0	1032,2	1032,4	1032,5	1032,7	1032,8	1033,0
1033,5	1031,9	1032,1	1032,2	1032,4	1032,5	1032,7	1032,9	1033,0	1033,2	1033,3	1033,5
1034,0	1032,4	1032,6	1032,7	1032,9	1033,0	1033,2	1033,4	1033,5	1033,7	1033,8	1034,0
1034,5	1032,9	1033,1	1033,2	1033,4	1033,5	1033,7	1033,9	1034,0	1034,2	1034,3	1034,5
1035,0	1033,4	1033,6	1033,7	1033,9	1034,0	1034,2	1034,4	1034,5	1034,7	1034,8	1035,0
1035,5	1033,9	1034,1	1034,2	1034,4	1034,5	1034,7	1034,9	1035,0	1035,2	1035,3	1035,5
1036,0	1034,4	1034,6	1034,7	1034,9	1035,0	1035,2	1035,4	1035,5	1035,7	1035,8	1036,0

Плотность молока $\rho_{\text{ср}}^t$, кг/м ³	Плотность, приведенная к 20°C, кг/м ³ , при температуре молока t , °C									
	20,5	21,0	21,5	22,0	22,5	23,0	23,5	24,0	24,5	25,0
1025,0	1025,2	1025,3	1025,5	1025,6	1025,8	1026,0	1026,1	1026,3	1026,4	1026,6
1025,5	1025,7	1025,8	1026,0	1026,1	1026,3	1026,5	1026,6	1026,8	1026,9	1027,1
1026,0	1026,2	1026,3	1026,5	1026,6	1026,8	1027,0	1027,1	1027,3	1027,4	1027,6
1026,5	1026,7	1026,8	1027,0	1027,1	1027,3	1027,5	1027,6	1027,8	1027,9	1028,1
1027,0	1027,2	1027,3	1027,5	1027,6	1027,8	1028,0	1028,1	1028,3	1028,4	1028,6
1027,5	1027,7	1027,8	1028,0	1028,1	1028,3	1028,5	1028,6	1028,8	1028,9	1029,1
1028,0	1028,2	1028,3	1028,5	1028,6	1028,8	1029,0	1029,1	1029,3	1029,4	1029,6
1028,5	1028,7	1028,8	1029,0	1029,1	1029,3	1029,5	1029,6	1029,8	1029,9	1030,1
1029,0	1029,2	1029,3	1029,5	1029,6	1029,8	1030,0	1030,1	1030,3	1030,4	1030,6
1029,5	1029,7	1029,8	1030,0	1030,1	1030,3	1030,5	1030,6	1030,8	1030,9	1031,1
1030,0	1030,2	1030,3	1030,5	1030,6	1030,8	1031,0	1031,1	1031,3	1031,4	1031,6
1030,5	1030,7	1030,8	1031,0	1031,1	1031,3	1031,5	1031,6	1031,8	1031,9	1032,1
1031,0	1031,2	1031,3	1031,5	1031,6	1031,8	1032,0	1032,1	1032,3	1032,4	1032,6
1031,5	1031,7	1031,8	1032,0	1032,1	1032,3	1032,5	1032,6	1032,8	1032,9	1033,1
1032,0	1032,2	1032,3	1032,5	1032,6	1032,8	1033,0	1033,1	1033,3	1033,4	1033,6
1032,5	1032,7	1032,8	1033,0	1033,1	1033,3	1033,5	1033,6	1033,8	1033,9	1034,1
1033,0	1033,2	1033,3	1033,5	1033,6	1033,8	1034,0	1034,1	1034,3	1034,4	1034,6
1033,5	1033,7	1033,8	1034,0	1034,1	1034,3	1034,5	1034,6	1034,8	1034,9	1035,1
1034,0	1034,2	1034,3	1034,5	1034,6	1034,8	1035,0	1035,1	1035,3	1035,4	1035,6
1034,5	1034,7	1034,8	1035,0	1035,1	1035,3	1035,5	1035,6	1035,8	1035,9	1036,1
1035,0	1035,2	1035,3	1035,5	1035,6	1035,8	1036,0	1036,1	1036,3	1036,4	1036,6
1035,5	1035,7	1035,8	1036,0	1036,1	1036,3	1036,5	1036,6	1036,8	1036,9	1037,1
1036,0	1036,2	1036,3	1036,5	1036,6	1036,8	1037,0	1037,1	1037,3	1037,4	1037,6

По таблицам в левой крайней графе находят строку со значением $p_{\text{ср}}^t$, а в последующих графах таблиц – температуру t . На пересечении соответствующей строки и графы находят значение плотности молока при 20°C, которое принимается за окончательный результат.

Допускаемое расхождение между результатами определения плотности молока одним типом ареометров в различных условиях (в разное время, в разных местах и разными операторами) не должно превышать 0,8 кг/м³.

Пример. При определении плотности молока отсчет показаний температуры составил $t_1=16,2^\circ\text{C}$ и $t_2=15,7^\circ\text{C}$. Среднеарифметическое значение температуры будет равно $(16,2+15,5) : 2=15,85^\circ\text{C}$. За окончательный результат измерений принимается **16°C**, руководствуясь правилом: если дробная часть среднеарифметического значения температуры равна или менее 0,25°C, то ее не учитывают; если она равна 0,75°C, то ее округляют до единицы; если она более 0,25, но менее 0,75, ее округляют до 0,5.

Отсчет оказания плотности молока составил $p_1=1028,5 \text{ кг/м}^3$ и $p_2=1028,0 \text{ кг/м}^3$. Среднеарифметическое = $(1028,5+1028,0) : 2=1028,25 \text{ кг/м}^3$. За окончательный результат принимают **1028,0 кг/м³**, руководствуясь правилом округления, изложенным выше.

По таблице 5 находим плотность молока, приведенную к 20°C. При температуре 16°C и плотности 1028,0 кг/м³ она составит 1026,7 кг/м³.

Перевод количества молока из объемного исчисления в весовое

Для пересчета количества молока из весового исчисления (кг) в объемное (л) и обратно пользуются показателями фактической или средней плотности молока – 1030 кг/м³. Литры переводят в килограммы умножением количества молока на среднюю плотность, а килограммы в литры – делением количества молока на плотность.

Пример. Провести пересчет 1600 л молока плотностью 1029 кг/м³ в килограммы. Провести пересчет 1600 кг молока плотностью 1029 кг/м³ в литры.

Решение. Для перевода молока из объемного исчисления (л) в весовое (кг):

$$(1600 \text{ л} \times 1029 \text{ кг/м}^3) : 1000 = 1646,4 \text{ кг}$$

Для перевода молока из весового исчисления (кг) в объемное (л):

$$(1600 \text{ кг} : 1029 \text{ кг/м}^3) \times 1000 = 1554,9 \text{ л}$$

Задание 1. Провести определение плотности двух проб молока. Полученные результаты записать в таблицу 6. Сделать соответствующие выводы.

Таблица 6 – Показатели плотности молока

Показатели	Проба №1		Проба №2	
	замер 1	замер 2	замер 1	замер 2
Температура молока, °C				
Показания ареометра, °A				
Плотность молока, °A, кг/м ³				

Задание 2. Определить плотность, если известны показания ареометра и температура молока. Результаты записать в таблицу 7, сделать выводы.

Порядковый номер пробы	Температура молока, °С	Показания ареометра, кг/м ³	Плотность молока	
			кг/м ³	°А
1	17,5	29		
2	22,5	38		
3	25,0	26		
4	15,5	27		
5	20,0	30		

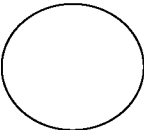
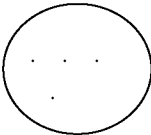
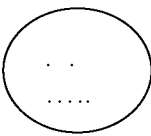
[illegible][illegible]

Аппаратура и материалы: баня водяная, прибор для определения степени чистоты молока; фильтры из полотна иглопробивного термоскрепленного; термометр; посуда мерная на 250 см³.

Фильтр вставляют в прибор гладкой поверхностью кверху. Из объединенной пробы отбирают 250 см³ хорошо перемешанного молока, которое подогревают до температуры 35±5°С и выливают в сосуд прибора. По окончании фильтрования фильтр вынимают и помещают на лист пергаментной или другой непромокаемой бумаги.

Обработка результатов: в зависимости от количества механических примесей на фильтре молоко подразделяют на три группы чистоты путем сравнения фильтра с образцом, представленным в таблице 8.

Таблица 8 – Образцы сравнения для определения группы чистоты молока

Группа чистоты	Образец сравнения	Характеристика
Первая		На фильтре отсутствуют частицы механической примеси. Допускается для сырого молока наличие не более двух частиц механической примеси механических примесей
Вторая		На фильтре имеются отдельные частицы механической примеси (до 13 частиц)
Третья		На фильтре заметный осадок частиц механических примесей (волоски, частицы, корма, песка)

Примечание. Цвет фильтра должен соответствовать цвету молока в соответствии с требованиями НТД. При изменении цвета фильтра молоко, независимо от имеющихся на фильтре механических примесей, относят к третьей группе чистоты.

Задание 1. Определите степень (группу) чистоты в двух пробах молока, полученные результаты запишите в таблицу 9. Сделайте выводы.

Таблица 9 – Показатели степени чистоты молока

Показатели	Проба №1	Проба №2
Характеристика фильтра		
Группа чистоты		

Контрольные вопросы: 1. Сколько молока и какой температуры нужно для определения плотности ареометрическим способом? 2. На чем основан метод определения степени чистоты молока по ГОСТ 8218? 3. Сколько молока и какой температуры нужно для определения группы чистоты? 4. Какой цвет должен иметь фильтр?

ЗАНЯТИЕ 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРУЕМОЙ КИСЛОТНОСТИ МОЛОКА

Цель занятия: приобрести практические навыки по определению титруемой кислотности молока по ГОСТ 3624.

Аппаратура, материалы и реактивы: весы лабораторные 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200; центрифуга по ТУ 27-32-26-77; баня водяная; натрия гидроокись по ТУ 6-09-2540, раствор массовой концентрацией 0,1 моль/дм³; фенолфталеин по ТУ 6-09-5360, 70%-ный спир-

товой раствор массовой концентрации фенолфталеина 10 г/дм^3 ; кобальт сернокислый, раствор массовой концентрации сернокислого кобальта 25 г/дм^3 по ГОСТ 4462; общее лабораторное оборудование.

Методика определения. Метод основан на нейтрализации кислот, содержащихся в продукте, раствором гидроокиси натрия в присутствии индикатора фенолфталеина.

Для приготовления **контрольного эталона** окраски для молока в колбу вместимостью 100 или 250 см^3 отмеривают 10 см^3 молока, 20 см^3 дистиллированной воды и 1 см^3 2,5%-ного раствора сернокислого кобальта. Смесь тщательно перемешивают. Срок хранения эталона не более 8 ч при комнатной температуре.

Для определения кислотности в коническую колбу вместимостью 100–200 см^3 отмеривают пипеткой 10 см^3 исследуемого молока, прибавляют 20 см^3 дистиллированной воды и 3 капли 1%-ного раствора фенолфталеина. Смесь тщательно перемешивают и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия до слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Конец титрования устанавливают с помощью эталона окраски молока. Титруемую кислотность молока в градусах Тернера подсчитывают, умножая на 10 объем щелочи, пошедший на нейтрализацию 10 см^3 молока.

Расхождение между параллельными определениями для молока не должно быть выше $2,6^\circ\text{T}$. За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, округляя результат до второго десятичного знака.

Задание 1. Определите титруемую кислотность трех проб молока, полученные результаты запишите в таблицу 10. Сделайте соответствующие выводы.

Таблица 10 – Показатели титруемой кислотности молока

Показатели	Проба №1		Проба №2	
	замер 1	замер 2	замер 1	замер 2
Количество щелочи, затраченной на титрование молока, см^3				
Титруемая кислотность пробы молока, $^\circ\text{T}$				

Контрольные вопросы: 1. На чем основан метод определения титруемой кислотности молока по ГОСТ 3624? 2. Как готовится эталон окраски молока при определении титруемой кислотности? 3. Какое расхождение между параллельными определениями допускается при определении кислотности? 4. В каких единицах измеряется титруемая кислотность молока?

ЗАНЯТИЕ 5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ЖИРА В МОЛОКЕ

Цель занятия: изучить метод и технику определения массовой доли жира в молоке. Приобрести навыки по определению жира кислотным методом.

5.1. Кислотный метод определения массовой доли жира в молоке по ГОСТ 5867–90

Аппаратура, материалы и реактивы: жиромеры (бутирометры) стеклянные исполнения 1–6, 1–7; пробки резиновые для жиромеров; пипетки; дозаторы для отмеривания изоамилового спирта и серной кислоты; центрифуга; баня водяная; штатив для жиромеров; серная кислота плотностью 1810–1820 кг/м³; спирт изоамиловый плотностью 811–813 кг/м³; вода дистиллированная.

Методика определения: метод основан на выделении жира из молока или молочных продуктов под действием концентрированной серной кислоты и изоамилового спирта с последующим центрифугированием и измерении объема выделившегося жира в градуированной части жиромера.

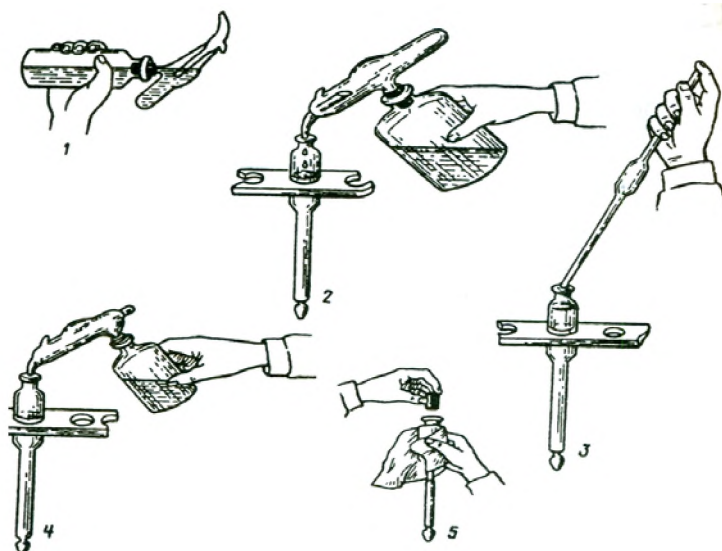


Рисунок 3 – Последовательность заполнения жиромеров:

1 – наполнение автомата серной кислотой; 2 – внесение кислоты в жиромер; 3 – внесение молока; 4 – добавление изоамилового спирта; 5 – закрывание жиромера резиновой пробкой

В два молочных жиромера типов 1–6 или 1–7, стараясь не смочить горло, наливают дозатором по 10 см³ серной кислоты и осторожно, чтобы жидкости не смешивались, добавляют пипеткой по 10,77 см³ исследуемого молока (рисунок 3). Уровень молока в пипетке устанавливают по нижней точке мениска. Молоко из пипетки должно вытекать медленно.

После опорожнения пипетку отнимают от горловины жиромера не ранее чем через 3 с. Выдувание молока из пипетки не допускается. Дозатором добавляют в жиромеры по 1 см³ изоамилового спирта. Уровень смеси в жиромере устанавливают на 1–2 мм ниже основания горловины жиромера, для чего разре-

шается добавлять несколько капель дистиллированной воды. Жиромеры закрывают сухими пробками, вводя их немного более, чем наполовину в горловину жирометров. Жиромеры встряхивают до полного растворения белковых веществ, переворачивая не менее 5 раз так, чтобы жидкости в них полностью перемешались. Устанавливают жиромеры пробкой вниз на 5 мин. в водяную баню при температуре $65 \pm 2^\circ\text{C}$.

Вынув из бани, жиромеры вставляют в стаканы центрифуги градуированной частью к центру. Жиромеры располагают симметрично один против другого. При нечетном числе жирометров в центрифугу помещают жирометр, наполненный вместо молока водой, серной кислотой и изоамиловым спиртом в том же соотношении, что и для анализа. Жиромеры центрифугируют 5 мин. Каждый жирометр вынимают из центрифуги и движением резиновой пробки регулируют столбик жира так, чтобы он находился в градуированной части жиромера. Жиромеры погружают пробками вниз на 5 мин. в водяную баню при температуре $65 \pm 2^\circ\text{C}$. При этом уровень воды в бане должен быть несколько выше уровня жира в жирометре.

Обработка результатов: жиромеры вынимают по одному из водяной бани и быстро производят отсчет жира. При отсчете жирометр держат вертикально, граница жира должна находиться на уровне глаз. Движением пробки устанавливают нижнюю границу столбика жира на нулевом или целом делении шкалы жиромера. От него отсчитывают число делений до нижней точки мениска столбика жира с точностью до наименьшего деления шкалы жиромера (рисунок 4). Граница раздела жира и кислоты должна быть четкой, а столбик жира – прозрачным.



Рисунок 4 – Отсчет показаний жиромера

При наличии «кольца» (пробки) буроватого или темно-желтого цвета, различных примесей в столбике жира или размытой нижней границы измерение проводят повторно.

За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных наблюдений, расхождение между которыми (сходимость) не превышает 0,1%.

Задание 1. Определите массовую долю жира в трех пробах молока. Полученные результаты внесите в таблицу 11. Сделайте выводы.

[illegible][illegible][illegible][illegible]

26

ЗАНЯТИЕ 6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕЛКА В МОЛОКЕ

Цель занятия: изучить различные методы определения массовой доли белка в молоке. Получить практические навыки по определению массовой доли белка в молоке упрощенным методом формольного титрования.

6.1. Определение массовой доли общего белка в молоке методом Кьельдаля по СТБ ISO 8968-1-2008

Аппаратура, материалы и реактивы: водяная баня, колбы Кьельдаля вместимостью 500 или 800 см³, аналитические весы, материал, облегчающий кипение, цилиндры мерные, прибор нагревательный, шкаф вытяжной, колбы, бюретка, аппарат для минерализации, аппарат для перегонки.

Методика определения: в колбу Кьельдаля помещают 5–10 вспомогательных материалов, облегчающих кипение, добавляют 15 г сульфата калия, 1 мл раствора сульфата меди (II), приблизительно $5 \pm 0,1$ мл молока и 25 мл серной кислоты. Осторожно перемешивают. С помощью аппарата для минерализации получают жидкий минерализат, который подлежит перегонке.

Добавляют 75 мл гидроокиси натрия к разбавленному минерализату, осторожно приливая раствор на наклонную поверхность горловины колбы Кьельдаля. Быстро подсоединяют ее к перегонному аппарату. Наконечник трубки выхода конденсата погружают в 50 мл раствора борной кислоты. Энергично вращают колбу Кьельдаля, чтобы перемешать ее содержимое до исчезновения разделенных слоев раствора в колбе. Устанавливают колбу на нагреватель пока не закипит смесь. Продолжают перегонку до тех пор, пока не начнется неравномерное кипение (бурление), и затем немедленно отсоединяют колбу Кьельдаля и выключают нагреватель. Выключают охлаждающую воду. Промывают внутри и снаружи наконечник трубки выхода конденсата водой, сливая ее (воду) в коническую колбу, и смешивают с конденсатом.

Степень перегонки должна быть такова, чтобы собрать приблизительно 150 мл дистиллята перед началом неравномерного кипения (бурления). Общий объем содержимого конической колбы должен составлять приблизительно 200 мл.

Содержимое конической колбы титруют раствором соляной кислоты, используя бюретку. Конечная точка фиксируется при первом появлении розового цвета содержимого. Отметить показания бюретки к ближайшему делению 0,05 мл. С помощью освещенной пластины магнитной мешалки зафиксировать конечную точку.

Выполняют контрольное определение в соответствии с процедурами, описанными выше, испытуемую пробу заменяют на 5 мл воды и около 0,85 г сахарозы. Если изменились значения, полученные при контрольных определениях, необходимо установить причину.

Обработка результатов. Содержание азота в испытуемой пробе W_N рассчитывают, используя следующую формулу:

$$W_N = \frac{1,4007(V_s - V_b)M_r}{m},$$

где W_N – массовая доля азота в пробе, %;

V_s – объем соляной кислоты, используемой в определении, мл, с точностью до 0,05 мл;

V_b – объем соляной кислоты, используемой в контрольном определении, мл, с точностью до 0,05 мл;

M_r – молярность соляной кислоты, выраженная до четвертого знака;

m – масса испытуемой порции, г, с точностью до 0,1 мг;

1,4007 – коэффициент пересчета для выражения содержания азота в массе пробы, %.

Полученный результат выражают с точностью до четвертого знака. Рассчитывают содержание белка в испытуемом образце W_p , используя следующую формулу:

$$W_p = W_N \times 6,38,$$

где W_p – массовая доля белка в пробе, %;

W_N – массовая доля азота в пробе, %;

6,38 – коэффициент для выражения содержания белка по содержанию азота.

Выражают полученные результаты содержания уровня белка до трех десятичных знаков, если требуются дальнейшие расчеты. В случае получения окончательных результатов выразить их до двух десятичных знаков.

Предел допускаемой погрешности результатов измерений составляет не более (за исключением 5% случаев) 0,006% от содержания азота (0,038% от уровня содержания белка).

6.2. Определение массовой доли белка в молоке методом формольного титрования по ГОСТ 25179

Метод основан на свойстве аминокислот белка в присутствии нейтрального формальдегида повышать кислотность молока с образованием моноаминодикарбоновых кислот белков со свободными карбоксильными группами, которые оттитровывают гидроксидом натрия. Количество гидроксида натрия, израсходованного на титрование, прямо пропорционально массовой доле белка в молоке.

Аппаратура, материалы и реактивы: колбы конические вместимостью 100 см³; пипетки вместимостью 20 см³; бюретка вместимостью 25 см³; натрия гидроокись, стандарт-титр, раствор молярной концентрации с (NaOH) = 0,1 моль/дм³; формальдегид, водный раствор с массовой долей формальдегида 30–40% по ТНПА.

Методика определения: данный метод применяется для непастеризованного молока с кислотностью не выше 20°Т. Консервирование проб не допускается. Метод применяется при условии согласования с поставщиками.

Для приготовления **контрольного эталона окраски** к 20 см³ молока добавляют 0,50 см³ водного раствора кобальта сернокислого массовой концентрации 25 г/дм³. Эталон пригоден для работы в течение одной смены. Для лучшего сохранения к эталону можно добавить одну каплю формалина. Во избежание отстоя сливок – эталон рекомендуется периодически перемешивать.

В две конические колбы отмеривают по 20 см³ молока, добавляют 0,25 см³ (10–12 капель) 1%-ного раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия до появления розовой окраски, соответствующей окраске контрольного эталона. К содержимому колб добавляют 5 см³ нейтрализованного 30–40%-ного формалина, перемешивают круговыми движениями и через 1 мин. вторично титруют до появления слабо-розового окрашивания, соответствующего окраске эталона.

Параллельно проводят испытания по нейтрализации водного раствора формальдегида (контрольный опыт). Для приготовления контрольного эталона окраски и проведения контрольного опыта вместо молока берут дистиллированную воду. В колбы, содержащие по 20 см³ воды, добавляют по 10–12 капель спиртового раствора фенолфталеина, по 5 см³ водного раствора формальдегида, перемешивают и через одну минуту титруют 0,1 н. водным раствором гидроксида натрия до появления розовой окраски, соответствующей цвету эталона.

Для определения поправки к результатам измерения массовой доли белка методом формольного титрования проводят одновременное измерение массовой доли белка в одном и том же образце молока методом формольного титрования и методом Кьельдаля (ГОСТ 23327).

Измерения проводят в средней пробе молока, полученной смешиванием равных по массе образцов молока, полученных от разных хозяйств. При этом средняя проба должна быть образована не менее чем от 75% всех хозяйств – сдатчиков молока.

Измерения как по ГОСТ 23327, так и методом формольного титрования проводят в шести повторениях, определяют среднеарифметические значения.

Поправку K , %, вычисляют по формуле:

$$K = XI - X2,$$

где XI – среднеарифметическое значение шести измерений массовой доли белка, полученное по ГОСТ 23327, %;

$X2$ – среднеарифметическое значение шести измерений массовой доли белка, полученное формольным титрованием, %.

Поправку к результатам измерения массовой доли белка методом формольного титрования определяют не реже одного раза в месяц.

Если испытания проводят при искусственном освещении, то для точного определения момента появления окраски используют белый экран, для чего лист чертежной бумаги размером 40 × 40 см сгибают пополам.

Обработка результатов. Массовую долю белка X , %, вычисляют по формуле:

$$X = (V_2 - V_1 - V_0) \times 0,96 + П,$$

где V_1 – количество водного раствора гидроксида натрия, израсходованное на нейтрализацию молока до внесения водного раствора формальдегида, см³;

V_2 – общее количество водного раствора гидроксида натрия, израсходованное на нейтрализацию молока, см³;

V_0 – количество водного раствора гидроксида натрия, израсходованное в контрольном опыте по нейтрализации водного раствора формальдегида, см³;

$П$ – поправка к результатам измерения массовой доли белка методом формольного титрования, %;

0,96 – эмпирический коэффициент, %/см³.

Максимальная допустимая погрешность результата измерений в диапазоне массовой доли белка 2,0–4,0% составляет 0,15% массовой доли белка при доверительной вероятности 0,80 и расхождении между двумя параллельными измерениями не более 0,2% массовой доли белка.

За окончательный результат измерения принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений, округляя результат до второго десятичного знака.

Задание 1. Определите массовую долю белка методом формольного титрования в двух пробах молока. Полученные результаты запишите в таблицу 12. Сделайте соответствующие выводы.

Таблица 12 – Массовая доля белка в исследуемых пробах молока

Показатели	Проба № 1		Проба № 2	
	замер 1	замер 2	замер 1	замер 2
Количество щелочи, затраченное на титрование, см ³				
Массовая доля белка, %				

Контрольные вопросы: 1. В чем заключается сущность определения общего белка в молоке методом Кьельдаля? 2. На чем основан метод определения белка формольным титрованием? 3. Как приготовить эталон по окраске при определении белка в молоке методом формольного титрования? 4. Какой коэффициент используют при определении белка в молоке индикаторным способом?

ЗАНЯТИЕ 7. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ МОЛОКА

Цель занятия: приобрести практические навыки по определению бактериальной обсемененности молока методом выявления редуктазы с индикатором резазурином, ознакомиться с методом подсчета колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), вырастающих на твердой питательной среде, по ГОСТ 32901–2014.

Методические указания: отбор проб для микробиологических анализов проводят перед отбором проб для физико-химических и органолептических анализов, соблюдая общие правила отбора проб по ГОСТ 13928 и ГОСТ 26809.1. Перед отбором проб молоко тщательно перемешивают. Пробы для микробиологических анализов отбирают в стерильную посуду с помощью стерильных приспособлений. Перед вскрытием тары с продукцией крышки очищают от загрязнений, промывают и протирают. Отбор проб проводят в стерильную посуду достаточной вместимости, закрывают стерильными пробками, которые покрывают стерильной бумагой и обвязывают.

Объединенную пробу объемом 500 см³ составляют из точечных проб, отобранных из каждой емкости. Из объединенной пробы, составленной для микробиологического анализа, отбирают молоко в количестве, необходимом для анализа.

Пробу, отправляемую в лабораторию вне данного предприятия, пломбируют или опечатывают, снабжают этикеткой и актом отбора проб, в которых указывают: наименование, сорт и дату производства продукта; место отбора проб; наименование предприятия-изготовителя; объем партии, от которого отобрана проба; идентификационный номер и любую кодовую маркировку партии, из которой отобраны пробы; температуру продукта во время отбора проб; должность лиц, отбравших пробу; перечень показателей, которые должны быть определены в продукте; номер и дату транспортного документа, сопровождающего контролируемую партию продукта, обозначение нормативного документа или технического документа на продукт.

Микробиологические анализы молока проводят не позднее чем через 4 ч с момента отбора проб. Пробы должны храниться и транспортироваться до начала исследования в условиях, обеспечивающих температуру молока 4±2°С, не допуская подмораживания.

7.1. Метод определения уровня бактериальной обсемененности сырого молока (редуктазная проба)

Метод основан на восстановлении резазурина окислительно-восстановительными ферментами, выделяемыми в молоко микроорганизмами. По продолжительности изменения окраски резазурина оценивают бактериальную обсемененность сырого молока.

Аппаратура, материалы, реактивы: редуктазник; водяная баня с термостатом; пробки резиновые конусные; пробирки, пипетки. *Приготовление ос-*

нового раствора резазурино-натриевой соли: 100 ± 1 мг резазурина-натриевой соли переносят в мерную колбу вместимостью 200 см^3 и доводят до метки прокипяченной и охлажденной до $25 \pm 2^\circ\text{C}$ дистиллированной водой. Смесь тщательно перемешивают. Срок хранения основного раствора резазурина-натриевой соли при температуре $4\text{--}10^\circ\text{C}$ не более 30 суток. Рабочий раствор резазурина-натриевой соли готовят разбавлением основного раствора прокипяченной и охлажденной до $25 \pm 2^\circ\text{C}$ дистиллированной водой в соотношении 1:2,5 (например, к 10 см^3 основного раствора прибавляют 25 см^3 воды). Массовая доля резазурина в рабочем растворе 0,014%. Срок хранения рабочего раствора резазурина не более 3 суток при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

Методика определения: пробу с резазурином следует проводить не ранее чем через 2 ч после доения. В пробирки наливают по 1 см^3 рабочего раствора резазурина и по 10 см^3 исследуемого молока, закрывают резиновыми пробками и смешивают путем медленного трехкратного перевертывания пробирок. Пробирки помещают в редуктазник с температурой воды $37 \pm 1^\circ\text{C}$. При отсутствии редуктазника можно использовать водяную баню. Вода в редуктазнике или водяной бане после погружения пробирок с молоком должна быть температурой $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и доходить до уровня жидкости в пробирке или быть немного выше. Во время анализа не допускается попадания прямых солнечных лучей на пробирки с молоком и резазурином. Время погружения пробирок в редуктазник или водяную баню считают началом анализа.

По истечении 1 ч пробирки вынимают из редуктазника и снимают показания. Появления окрашивания молока в этих пробирках после встряхивания не учитывают. Пробирки с молоком, имеющие серо-сиреневую окраску до сиреневой со слабым серым оттенком, оставляют в редуктазнике еще на 30 минут.

Обработка результатов. В зависимости от продолжительности обесцвечивания или изменения цвета молоко относят к одному из классов, указанных в таблице 13.

Таблица 13 – Бактериальная обсемененность молока по редуктазе с резазурином

Класс молока	Продолжительность изменения цвета	Окраска молока	Ориентировочное количество бактерий в 1 см^3 молока, КОЕ
I	Через 1 ч	От серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком	до 500 тыс.
II	Через 1 ч	Сиреневая с розовым оттенком или ярко-розовая	более 500 тыс.

Примечания: 1. Пробы сырого молока через 1,5 ч выдержки с окраской от серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком имеют ориентировочную бактериальную обсемененность менее 300 тыс. 2. Пробы сырого молока через 1 ч выдержки с окраской от бледно-розовой до белой имеют ориентировочную бактериальную обсемененность более 4 млн.

7.2. Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов КМАФАнМ

Метод основан на подсчете колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на твердой питательной среде КМАФАнМ при температуре $30\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 72 ч.

Аппаратура, материалы, реактивы: *приготовление питательной среды для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (среда КМАФАнМ).* В колбу достаточной вместимости помещают необходимое количество сухой питательной среды для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, регламентированное инструкцией производителя. Добавляют 1000 см^3 воды и тщательно перемешивают. Допускается использование дистиллированной воды. Смесь перемешивают, нагревают до полного растворения среды. При наличии осадка фильтруют и устанавливают значение pH $7,0\pm 0,2$. Среду разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре $121\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 15 ± 1 мин.

Приготовление раствора хлористого натрия. В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают $8,50\pm 0,01$ г хлористого натрия. Добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор разливают по 10 см^3 в пробирки, по 93 см^3 в колбы вместимостью 100 см^3 и стерилизуют при температуре $121\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 15 ± 1 мин.

Приготовление разбавленного раствора фосфатного буфера. В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают $1,25\text{ см}^3$ концентрированного раствора фосфатного буфера, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор разливают по 10 см^3 в пробирки, по 93 см^3 в колбы вместимостью 100 см^3 , стерилизуют при температуре $121\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 15 ± 1 мин. и используют для приготовления разведений.

Методика определения. Всю новую посуду кипятят в подкисленной воде (раствор соляной кислоты объемной долей 1–2%) в течение 15 мин., затем ополаскивают в дистиллированной воде.

Вымытую и высушенную посуду стерилизуют в сушильном шкафу при температуре $175\pm 5^\circ\text{C}$ в течение 1 часа или при температуре $160\pm 5^\circ\text{C}$ в течение 2 часов, или в автоклаве при температуре $121\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 30 ± 1 мин. с последующим подсушиванием.

Чашки Петри, пипетки и т.п. стерилизуют завернутыми в бумагу или в металлических пеналах. В конец пипетки предварительно вкладывают кусочек ваты. Резиновые пробки стерилизуют в автоклаве, завернутыми в бумагу.

При отсутствии оборудования для стерилизации допускается использовать посуду и резиновые пробки, прокипяченные в дистиллированной воде непосредственно перед испытанием не менее 30 ± 1 мин. Стерильную посуду хранят в плотно закрывающихся ящиках или ящиках с крышками. Срок хранения стерильной посуды – не более 30 суток.

Отобранные пробы молока тщательно перемешивают. Перед посевом готовят десятикратные разведения продукта в стерильных растворах хлористого натрия или разбавленного фосфатного буфера. Для приготовления разведений готовят все необходимые стерильные материалы и посуду в соответствии со спецификой анализа исследуемого продукта: пробирки с 9 см³ или колбы с 90 см³ растворов хлористого натрия или фосфатного буфера. Из пробы молока отбирают стерильной пипеткой 10 см³ и вносят 90 см³ стерильных растворов хлористого натрия или фосфатного буфера. Получают разведение 1:10. Из первого разведения 1:10 готовят ряд последующих разведений 1:100, 1:1000 и т.д.

Из первого разведения 1:10 готовят последующие 1:100 и т.д., беря 1 см³ предыдущего разведения и добавляя его в пробирку с 9 см³ раствора для разведений. Для приготовления каждого разведения берут новую стерильную пипетку. При посеве на чашки Петри посевной материал вносят от большего разведения к меньшему. В этом случае пользуются одной пипеткой.

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения. Для сырого молока и сливок рекомендуют следующие объемы продукта: 0,001 см³, 0,0001 см³ и 0,00001 см³. Для определения КМАФАнМ выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастет от 15 до 300 колоний.

Каждое разведение должно быть засеяно в количестве 1 см³ в одну чашку Петри с заранее маркированной крышкой и залито 14±1 см³ расплавленной и охлажденной до температуры 40–45°C питательной средой для определения КМАФАнМ. Допускается посев исследуемого продукта на чашки Петри из одного и того же разведения в количестве 1,0 и 0,1 см³.

Сразу после заливки среды содержимое чашки Петри тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала.

Допускается проведение двух параллельных определений, то есть проведение посева каждого разведения на две чашки Петри.

После застывания среды чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат при температуре 30±1°C на 72 ч.

Обработка результатов: количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке, поместив ее вверх дном на темном фоне, пользуясь лупой с увеличением в 4–10 раз (рисунок 5). Каждую подсчитанную колонию отмечают маркером на дне чашки. При подсчете колоний рекомендуется использовать счетчик.

При большом количестве колоний и равномерном их распределении дно чашки Петри делят на четыре и более одинаковых сектора, подсчитывают количество колоний на двух-трех секторах (но не менее чем на 1/3 поверхности чашки), находят среднеарифметическое значение количества колоний и умножают на общее количество секторов всей чашки. Таким образом, находят общее количество колоний, выросших на одной чашке.

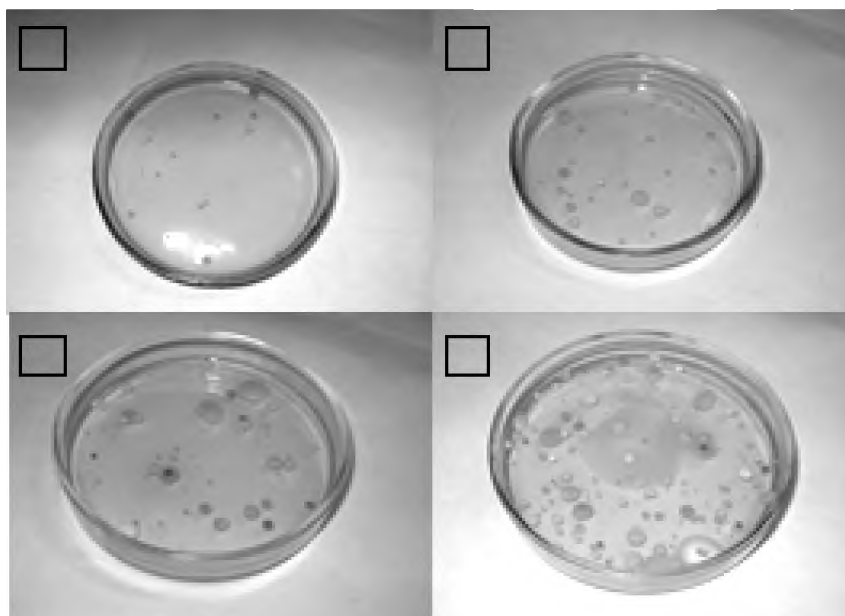


Рисунок 5 – Рост колоний на питательных средах в чашках Петри

КМАФАнМ вычисляют как среднеарифметическое или как средневзвешенное значение.

Среднеарифметическое количество микроорганизмов КМАФАнМ в 1 см³ или 1 г продукта (X) по каждой чашке Петри вычисляют по формуле:

$$X = n \times 10^m,$$

где n – количество колоний, подсчитанных на чашке Петри;

m – количество десятикратных разведений.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое, полученное по всем чашкам.

Задание 1. Определите бактериальную обсемененность по редуктазной пробе в двух образцах молока. Полученные результаты запишите в таблицу 14. Сделайте соответствующие выводы.

Таблица 14 – Показатели бактериальной обсемененности молока

Показатели	Проба № 1		Проба № 2	
	замер 1	замер 2	замер 1	замер 2
Продолжительность изменения цвета, ч				
Характеристика цвета пробы				
Класс молока по бактериальной обсеменности				
Ориентировочное количество бактерий в 1 см ³ молока, КОЕ				

Контрольные вопросы: 1. В чем заключается суть метода определения бактериальной обсемененности по редуктазной пробе? 2. Как проводят определение бактериальной обсемененности с индикатором резазурином? 3. На чем основан метод определения КМАФАнМ? 4. Какой объем сырого молока и сливок рекомендуется для посева при определении КМАФАнМ? 5. Как долго и при какой температуре следует инкубировать посевы, приготовленные из разведений молока при определении КМАФАнМ на твердой питательной среде?

ЗАНЯТИЕ 8. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ЛАКТОЗЫ В МОЛОКЕ

Цель занятия: освоить методику определения лактозы и галактозы в молоке по ГОСТ 31086–2002.

Аппаратура, материалы и реактивы. Весы лабораторные, пипетки, колбы мерные, фильтры бумажные, кюветы фотометрические, спектрофотометр, бумага индикаторная. Раствор сернокислого цинка: 30 г сернокислого цинка растворяют в 100 см³ дистиллированной воды. Раствор гексациано-(II)-феррата калия: 15 г гексациано-(II)-феррата калия растворить в 100 см³ дистиллированной воды. Цитратный буферный раствор: к 2,8 г тринатрийцитрата дигидрата добавить 0,625 сернокислого магния и 0,042 моногидрата лимонной кислоты растворяют в 40 см³ дистиллированной воды. Доводят до pH 6,6 гидроокисью натрия. Доводят дистиллированной водой до 50 см³. Буферный раствор дифосфата калия: 8,3 г дифосфата калия доводят дистиллированной водой до 40 см³ и серной кислотой до pH 8,3. Доливают дистиллированную воду до 50 см³. Раствор НАД: 0,035 г НАД растворяют в 7 см³ цитратного буфера. Суспензия фермента ГЗ: сухой лифолизат β-галактозидазы из *E.coli* 0,005 г суспендируют в 1 см³ раствора аммония сернокислого. Суспензия фермента ГДГ: сухой лифолизат β-галактозодегидрогиназы из *Pseudomonas fluorescens* массой 0,005 г смешивают с 1 см³ раствора аммония сернокислого.

Методика определения. Пробу перемешивают. В колбу на 100 см³ отмеряют 1,0000 г молока и добавляют 50 см³ дистиллированной воды. Перемешивают. В колбу добавляют 1 см³ сернокислого цинка и 1 см³ раствора гексациано-(II)-феррата калия. Перемешивают. Нейтрализуют гидроксидом натрия. Доводят раствор до метки дистиллированной водой и выдерживают 15 мин. при комнатной температуре. Содержимое колбы фильтруют.

Контрольное определение. В кювету спектрофотометра отмеряют 0,20 см³ раствора НАД в цитратном буфере, 0,02 см³ суспензии фермента ГЗ, 1 см³ буферного раствора дифосфата калия и 2,00 см³ дистиллированной воды. Перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 15 мин. Измеряют оптическую плотность ($A_{1К}$) относительно оптической плотности воздуха. В кювету добавляют 0,02 см³ суспензии ГДГ. Перемешивают и оставляют на 30 мин. при комнатной температуре. Измеряют оптическую плотность ($A_{2К}$) относительно оптической плотности воздуха.

Определение свободной галактозы. В кювету отмеряют 0,20 см³ раствора НАД в цитратном буфере, 0,1 см³ прозрачного фильтрата 1 см³ буферного рас-

твора дифосфата калия и 1,90 см³ дистиллированной воды. Перемешивают и выдерживают при комнатной температуре 15 мин. Измеряют оптическую плотность ($A_{1Г}$) относительно оптической плотности воздуха. В кювету добавляют 0,02 см³ суспензии ГДГ, перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 30 мин. Измеряют оптическую плотность ($A_{1Г}$) относительно оптической плотности воздуха.

Определение лактозы. В кювету отмеряют 0,20 см³ раствора НАД в цитратном буфере, 0,1 см³ прозрачного фильтрата, 1 см³ буферного раствора дифосфата калия и 0,02 см³ суспензии ГЗ. Перемешивают и выдерживают при комнатной температуре 15 мин. Затем в кювету добавляют 1,00 см³ буферного раствора дифосфата калия и 1,90 см³ дистиллированной воды. Перемешивают и выдерживают при комнатной температуре 2 мин. Измеряют оптическую плотность ($A_{1Л-Г}$) относительно оптической плотности воздуха. В кювету добавляют 0,02 см³ суспензии ГДГ, перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 15 мин. Измеряют оптическую плотность ($A_{2Л-Г}$) относительно оптической плотности воздуха.

Измерения оптической плотности растворов проводят каждые две минуты до окончания реакции, что выражается в установлении постоянной оптической плотности раствора.

Обработка результатов. Вычисляют изменение оптической плотности растворов, вызванных окислением свободной галактозы ($\Delta A_{Г}$) и окислением свободной галактозы и галактозы, образовавшейся при гидролизе лактозы ($\Delta A_{Л-Г}$):

$$\Delta A_{Г} = (A_{2Г} - A_{1Г}) - (A_{2К} - A_{1К});$$

$$\Delta A_{Л-Г} = (A_{2Л-Г} - A_{1Л-Г}) - (A_{2К} - A_{1К}).$$

Изменение оптической плотности ($\Delta A_{Л}$), вызванное гидролизом лактозы, рассчитывают по формуле:

$$\Delta A_{Л} = \Delta A_{Л-Г} - \Delta A_{Г}.$$

Массовую долю лактозы $W_{Л}$ в пробе (г/100 г) рассчитывают по формуле:

$$W_{Л} = \frac{M_{Л} V_1 V_3 10^{-4}}{\varepsilon d V_2 m} \times \Delta A_{Л},$$

где $M_{Л}$ – молярная масса лактозы 342,30 г/моль; молярная масса моногидрата лактозы 360,31 г/моль;

V_1 – общий объем раствора в кювете, 3,24 см³;

V_3 – объем, полученный при разбавлении пробы в ходе ее подготовки к испытанию 100 см³;

ε – молярный коэффициент поглощения НАДН, дм³·ммоль⁻¹·см⁻¹ (при длине волны 340 нм – 6,3;

d – толщина поглощенного слоя в кювете, см;

V_2 – объем пробы, 0,10 см³;

m – навеска пробы, г.

Массовую долю W_G галактозы в пробе, г/100 г, рассчитывают по формуле:

$$W_G = \frac{M_G V_1 V_3 10^{-4}}{\varepsilon d V_2 m} \times \Delta A_G,$$

где M_G – молярная масса галактозы 180,16 г/моль.

За результат испытаний принимают среднеарифметическое результатов двух параллельных определений, округленное до 0,1 г/100 для лактозы и до 0,05 г/100 для галактозы.

Расхождение между двумя параллельными определениями в одной и той же лаборатории не должно превышать 0,1 г/100 для лактозы и 0,05 г/100 для галактозы.

ЗАНЯТИЕ 9. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ СУХОГО ВЕЩЕСТВА В МОЛОКЕ И СУХОГО ОБЕЗЖИРЕННОГО МОЛОЧНОГО ОСТАТКА

Цель занятия: освоить методику определения сухого вещества в молоке по ГОСТ ISO 6731/IDF 21–2012 и расчетным способом; научиться определять сухой обезжиренный молочный остаток (СОМО).

9.1. Определение массовой доли сухого вещества в молоке по ГОСТ ISO 6731/IDF 21–2012

Аппаратура, материалы и реактивы: весы аналитические, эксикатор, водяная баня; плоскодонная чашка, сушильный шкаф, вода дистиллированная, общелабораторная посуда и оборудование.

Методика определения. Подготовка пробы к анализу включает подогрев до температуры 20–25°C и перемешивание. Если отделились сливки – медленно нагревают до 35–40°C на водяной бане, перемешивают и охлаждают до температуры 20–25°C.

Нагревают чашку вместе с крышкой в сушильном шкафу при температуре 102±2°C не менее 1 часа. Закрывают чашку крышкой и переносят в эксикатор, где охлаждают не менее 30 мин. После охлаждения до комнатной температуры – взвешивают с точностью до 0,001 г. Быстро взвешивают с точностью до 0,001 г от 1 до 5 г молока в подготовленной чашке и наклоняют ее, чтобы равномерно распределить продукт по дну. Помещают чашку без крышки на кипящую водяную баню, чтобы дно чашки максимально нагревалось от пара. Оставляют на 30 мин. Снимают чашку с водяной бани и переносят вместе с крышкой в сушильный шкаф, где высушивают в течение 2 часов при температуре 102±2°C. По истечении 2 часов чашку закрывают крышкой и переносят в эксикатор, где охлаждают до комнатной температуры не менее 30 мин. Далее взвешивают с точностью до 0,001 г.

Повторяют вышеуказанные процедуры до тех пор, пока разность масс между двумя последовательными взвешиваниями не будет превышать 0,001 г. Записывают наименьшую массу.

Обработка результатов: массовую долю сухого вещества (СВ, %) определяют по формуле:

$$CB = \frac{(m_2 - m_0)}{m_1 - m_0} \times 100,$$

где m_0 – масса чашки с крышкой (г);

m_1 – масса чашки, крышки и пробы молока (до нагревания) (г);

m_2 – масса чашки, крышки и высушенной пробы молока (г).

Округляют полученные результаты до 0,01% массовой доли.

9.2. Определение сухого вещества в молоке и СОМО расчетным методом

При расчете содержания сухого вещества необходимо знать плотность молока и содержание в нем жира. Разница между данными, полученными путем расчета по формулам и путем высушивания, может составлять 0,3–0,5 %.

Общая формула расчета сухого вещества в молоке следующая:

$$CB = \frac{(4,9 \cdot Ж + П)}{4} + 0,5,$$

где CB – массовая доля сухого вещества молока, %;

$Ж$ – массовая доля жира, %;

$П$ – плотность молока, °А.

Сухой обезжиренный молочный остаток (СОМО, %) определяют по формуле:

$$СОМО = CB - Ж,$$

где CB – массовая доля сухого вещества в молоке (%);

$Ж$ – массовая доля жира в молоке (%).

Задание 1. Рассчитайте массовую долю сухого вещества в двух пробах молока по формуле, если при анализе установлено, что в пробе № 1 массовая доля жира 4,00%, плотность – 1028 кг/м³, в пробе № 2 массовая доля жира 3,60%, плотность – 1030 кг/м³. Сделайте соответствующий вывод.

Задание 2. Используя данные задания 1, рассчитайте содержание сухого обезжиренного молочного остатка в двух пробах молока. Сделайте вывод.

Контрольные вопросы: 1. Как определяется массовая доля сухого вещества в молоке по ГОСТ ISO 6731/IDF 21–2012? 2. Какая формула применяется для расчета сухого вещества в молоке, если известна его плотность и содержание жира? 3. Как рассчитывают массовую долю СОМО?

ЗАНЯТИЕ 10. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНГИБИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В МОЛОКЕ

Цель занятия: изучить методы выявления ингибирующих веществ в молоке по ГОСТ 23454–2016 и получить практические навыки по определению соды и перекиси водорода в молоке.

10.1. Метод определения ингибирующих веществ с использованием тест-культуры термофильного стрептококка индикатора резазурина

Метод основан на диагностике развития в молоке чувствительной тест-культуры *Streptococcus thermophilus* B19 и восстановлении резазурина окислительно-восстановительными ферментами, выделяемыми в молоко микроорганизмами. Чувствительность метода позволяет обнаружить в молоке содержание пенициллина 0,004 мг/дм³, левомицетина – 5,0 мг/дм³, массовую долю формалина – 0,004%, массовую долю активного хлора – 0,06%, перекиси водорода – 0,005%, надуксусной кислоты – 0,005%, сульфанола – 0,15%, стрептомицина – 10 мг/дм³, тетрациклина – 1 мг/дм³.

Аппаратура, материалы и реактивы: стерилизатор паровой медицинский; термостат жидкостный (редуктазник); баня водяная; термостат; термометры стеклянные жидкостные (не ртутные); весы лабораторные с погрешностью $\pm 0,002$ г; шкаф сушильный; общее лабораторное оборудование и посуда; резазурино-натриевая соль; препарат сухой для контроля определения ингибирующих веществ в молоке (СКИВ); сухая бактериальная закваска *Streptococcus thermophilus* B19; вода дистиллированная; общее лабораторное оборудование и посуда.

Приготовление стерильного обезжиренного молока. Обезжиренное молоко разливают по 100 см³ в колбы вместимостью не менее 200 см³ или по 10 см³ в пробирки вместимостью не менее 20 см³ и стерилизуют при температуре $121 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 10 ± 1 мин.

Приготовление основного раствора резазурина. 0,100 г резазурина-натриевой соли переносят в мерную колбу вместимостью 200 см³ и доводят до метки прокипяченной и охлажденной до $25 \pm 2^\circ\text{C}$ дистиллированной водой. Смесь тщательно перемешивают. Срок хранения основного раствора резазурина-натриевой соли не более 30 суток при температуре 4–10°C.

Приготовление коллекционной тест-культуры. Колбу с 100 см³ обезжиренного стерилизованного молока подогревают до температуры $43 \pm 1^\circ\text{C}$. Порцию сухой бактериальной закваски *Streptococcus thermophilus* B19 вносят в стерилизованное молоко и перемешивают. Термостатируют при температуре $41 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 16–18 ч до образования плотного сгустка, затем охлаждают до температуры $4 \pm 2^\circ\text{C}$. Для приготовления коллекционной тест-культуры в пробирку с 10 см³ стерильного обезжиренного молока вносят 1 петлю культуры и выдерживают в термостате при температуре $41 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 16–18 ч. Коллекционную культуру хранят при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ и пересевают через 10–14 суток. Допускают 3–4 пересадки, затем готовят из сухой тест-культуры.

Приготовление рабочей тест-культуры. Рабочую тест-культуру готовят из коллекционной в пробирках или колбах в зависимости от необходимого количества или из сухого бактериального препарата термофильного молочнокислого стрептококка для определения ингибирующих веществ.

При приготовлении рабочей тест-культуры из коллекционной в пробирку с 10 см³ стерильного обезжиренного молока вносят 1 петлю коллекционной тест-культуры, а в колбу со 100 см³ стерильного обезжиренного молока вносят 0,1 см³ коллекционной тест-культуры или сухой бактериальной закваски на кончике ланцета и выдерживают в термостате при температуре 41±1°С 16–18 ч до образования плотного сгустка. В случае необходимости культуру помещают в холодильник при температуре 4±2°С и используют в течение 24 ч. Непосредственно перед применением рабочую культуру перемешивают путем интенсивного встряхивания.

Приготовление контрольного раствора препарата СКИВ. Для получения контрольного раствора препарата вскрывают флакон с сухим препаратом СКИВ. Во флакон вносят пипеткой 10 см³ дистиллированной воды, подогретой до температуры 50±10°С, закрывают пробкой и встряхивают до полного растворения. Хранению не подлежит.

Отбор проб. Проводят перед отбором проб для физико-химических и органолептических анализов и одновременно с пробой для проведения микробиологических анализов в соответствии с ГОСТ 32901. Объем пробы должен составлять не менее 100 см³. Перед отбором молоко тщательно перемешивают. Оборудование и посуда должны быть чистыми и стерильными. Анализ сырого молока на наличие ингибирующих веществ следует проводить не раньше, чем через 4 ч после дойки.

Методика определения. Проводят два параллельных определения одной пробы молока. При наличии большого количества проб молока анализ проводят сериями (не более 20 пробирок в серии).

В чистые пробирки наливают по 10 см³ исследуемого молока и закрывают сухими стерильными резиновыми пробками. Оставшуюся часть пробы сохраняют до конца анализа при температуре 4±2°С. Одновременно проводят контрольный анализ. Для этого в пробирку наливают 10 см³ восстановленного препарата СКИВ.

Пробирки с исследуемым молоком и контрольной пробой нагревают в водяной бане до 87±2°С с выдержкой 10 мин., затем охлаждают до 46±1°С и стерильной пипеткой вносят 0,5 см³ рабочей тест-культуры.

Содержимое пробирок тщательно перемешивают трехкратным перевертыванием. Затем пробирки выдерживают в течение 75 мин при температуре 45±1°С в жидкостном термостате или водяной бане. В пробирки с исследуемым молоком и контрольной пробой вносят по 1 см³ основного раствора резазурина с температурой 20±2°С, перемешивают путем двукратного переворачивания.

Пробирки с исследуемым молоком и контрольной пробой выдерживают в редуктазнике или водяной бане при температуре 45±1°С в течение 10–15 мин.

Обработка результатов: при отсутствии в исследуемом молоке (и в кон-

трольной пробе) ингибирующих веществ или меньшем, чем предел обнаружения, содержащее пробирок будет иметь розовый с сиреневым оттенком, розовый или белый цвет.

При наличии в молоке ингибирующих веществ содержащее пробирок будет иметь цвет от серо-сиреневого до сиреневого.

10.2. Определение ингибирующих веществ с использованием стандартного диффузионного теста, содержащего в качестве тест-культуры споры *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* и индикатор бромкрезолпурпур (Delvotest T)

Метод основан на изменении окраски агаровой среды со спорами *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* и индикатором бромкрезолпурпур от фиолетовой до желтой при отсутствии в анализируемом молоке ингибирующих веществ и сохранении фиолетовой окраски при их наличии. Чувствительность метода позволяет обнаружить в молоке массовую концентрацию пенициллина – 0,002 мг/дм³, стрептомицина – 0,5 мг/дм³, тетрациклина – 0,07 мг/дм³, левомицетина – 3,5 мг/дм³, массовую долю активного хлора – 0,1%, перекиси водорода – 0,015%, надуксусной кислоты – 0,009%, сульфанола – 0,12%, формалина – 0,002%.

Аппаратура, материалы и реактивы: термостат или баня водяная; термометры стеклянные жидкостные (нертутные); препарат сухой для контроля определения ингибирующих веществ в молоке (СКИВ); стандартный диффузионный тест, включающий укупоренные фольгой ампулы вместимостью 1,0 см³, содержащие смесь агаризованной питательной среды со спорами *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* и индикатором бромкрезолпурпур; общее лабораторное оборудование и посуда.

Методика определения. Тест-набор состоит из набора ампул вместимостью 1,0 см³, содержащих смесь агаризованной питательной среды со спорами *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* и индикатором бромкрезолпурпур.

Необходимое количество ампул маркируют и выдерживают до достижения температуры 20±2°C. Ампулы открывают, проколов фольгу с помощью острого предмета. Специальной пипеткой из комплекта добавляют в ампулу 0,1 см³ анализируемого молока. Для каждой пробы используют отдельную пипетку. Пробирки термостатируют в термостате или водяной бане при температуре 64±2°C в течение 180±5 мин.

Контрольное определение проводят аналогично указанному выше, при этом в ампулу вносят 0,1 см³ препарата СКИВ.

Обработка результатов. Для оценки результатов ампулы извлекают из термостата и определяют цвет их содержимого. Изменение цвета среды на желтый цвет свидетельствует об отсутствии ингибирующих веществ на уровне чувствительности метода. Отсутствие изменения цвета среды или изменение в пределах оттенков фиолетового цвета свидетельствует о присутствии ингибирующих веществ. Изменение цвета среды на сизый цвет свидетельствует о неопределенном результате и требует проведения повторного анализа.

10.3. Определение ингибирующих веществ с использованием теста, содержащего в качестве тест-культуры споры *Bac. stearothermophilus var. calidolactis* и индикатор бриллиантовый черный (BRT-inhibitor test)

Метод основан на изменении окраски агаровой среды со спорами *Bac. stearothermophilus var. calidolactis* и индикатором бриллиантовым черным от фиолетового до желтого цвета при отсутствии в анализируемом молоке ингибирующих веществ и сохранении фиолетовой окраски при их наличии.

Чувствительность метода позволяет обнаружить в молоке массовую концентрацию пенициллина – 0,003 мг/дм³, стрептомицина – 0,6 мг/дм³, тетрациклина – 0,2 мг/дм³, левомицетина – 5,0 мг/дм³, массовую долю активного хлора – 0,12%, перекиси водорода – 0,02%, надуксусной кислоты – 0,01%, сульфанола – 0,12%, формалина – 0,003%.

Аппаратура, материалы и реактивы: термостат или баня водяная; термометры стеклянные жидкостные (нертутные); препарат сухой для контроля определения ингибирующих веществ в молоке (СКИВ); стандартный диффузионный тест, включающий укупоренные фольгой ампулы, содержащие смесь агаризованной питательной среды со спорами *Bac. stearothermophilus var. calidolactis* и индикатором бриллиантовым черным; общее лабораторное оборудование и посуда.

Методика определения. Тест-набор состоит из набора ампул, содержащих смесь агаризованной питательной среды со спорами *Bac. stearothermophilus var. calidolactis* и индикатором бриллиантовым черным.

Отбирают необходимое количество ампул, маркируют и открывают фольгу для внесения пробы анализируемого молока. Специальной пипеткой из комплекта добавляют 0,1 см³ анализируемого молока в ампулу. Для каждой пробы используют отдельную пипетку.

Пробирки помещают в термостат или водяную баню при температуре 64±1°С в течение 150±15 мин.

Контрольное определение проводят аналогично указанному выше, при этом в ампулу вносят 0,1 см³ препарата СКИВ.

Обработка результатов. Для оценки результатов ампулы извлекают из термостата и определяют цвет их содержимого. Изменение цвета среды на желтый цвет свидетельствует об отсутствии ингибирующих веществ на уровне чувствительности метода. Отсутствие изменения цвета среды или изменение в пределах оттенков фиолетового цвета свидетельствует о присутствии ингибирующих веществ. Изменение цвета среды на бурый цвет свидетельствует о неопределенном результате и требует проведения повторного анализа.

10.4. Определение соды в молоке по ГОСТ 24065–80

Метод основан на изменении окраски раствора индикатора бромтимолового синего при добавлении его в молоко, содержащее соду (карбонат или бикарбонат натрия). Минимальное значение определяемой массовой доли соды составляет 0,05%.

Аппаратура, материалы и реактивы: весы лабораторные; штатив; колбы

мерные; пипетки; капельница; пробки; 0,04% спиртовой раствор бромтимолового синего; общее лабораторное оборудование и посуда.

Приготовление раствора бромтимолового синего. Навеску бромтимолового синего массой 0,1 г переносят в мерную колбу вместимостью 250 см³ и доливают до метки этиловым спиртом.

Методика определения. В сухую или сполоснутую дистиллированной водой пробирку, помещенную в штатив, наливают 5 см³ испытуемого молока и осторожно по стенке добавляют 7–8 капель раствора бромтимолового синего. Через 10 мин наблюдают за изменением окраски кольцевого слоя, не допуская встряхивания пробирки. Одновременно ставят контрольную пробу с молоком, не содержащим соду.

Обработка результатов: желтая окраска кольцевого слоя указывает на отсутствие соды в молоке. Появление зеленой окраски различных оттенков (от светло-зеленого до темно-зеленого) свидетельствует о присутствии соды в молоке.

10.5. Определение перекиси водорода в молоке по ГОСТ 24067–80

Метод основан на взаимодействии перекиси водорода с йодистым калием, выделении йода, дающего с крахмалом синее окрашивание. Чувствительность метода составляет 0,001% перекиси водорода.

Аппаратура, материалы и реактивы: весы лабораторные; пипетки; стаканы; колбы; цилиндры; пробирки; кислота серная плотностью 1,830–1,835 г/см³; калий йодистый; крахмал картофельный; вода дистиллированная; общее лабораторное оборудование и посуда.

Приготовление раствора серной кислоты. Цилиндром отмеривают 1 объемную часть серной кислоты и смешивают ее в стакане с 3 объемными частями воды. *Приготовление крахмального раствора йодистого калия.* Навеску крахмала массой 3 г растворяют в стакане в 20 см³ воды и приливают в колбу к 80 см³ кипящей воды. После охлаждения до температуры 18–25°C к крахмальному раствору добавляют навеску йодистого калия массой 3 г, растворенную в 5–10 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят в холодильнике не более 5 суток. Перед проведением анализа раствор проверяют с использованием кипяченого молока.

Методика определения. В пробирку помещают 1 см³ исследуемого молока, не перемешивая, прибавляют две капли раствора серной кислоты и 0,2 см³ крахмального раствора йодистого калия. Через 10 мин. наблюдают за изменением цвета раствора в пробирке, не допуская ее встряхивания.

Обработка результатов: появление в пробирке отдельных пятен синего цвета свидетельствует о присутствии перекиси водорода в молоке.

Задание 1. Проанализируйте четыре пробы молока на содержание в нем соды и перекиси водорода. Полученные результаты запишите в таблицу 15, сделайте соответствующие выводы.

Таблица 15 – Результаты анализа молока на содержание ингибирующих веществ

Проба молока	Описание изменения окраски		Результат
	при определении соды	при определении перекиси водорода	
№ 1			
№2			
№ 3			
№ 4			

Контрольные вопросы: 1. Опишите методику выявления ингибирующих веществ с индикатором резазурином. 2. Расскажите методику определения ингибирующих веществ с использованием стандартного диффузионного теста, содержащего в качестве тест-культуры споры *Bac. stearothermophilus var. calidolactis* и индикатор бромкрезолпурпур. 3. Как определить добавление в молоко перекиси водорода? 4. Каким методом можно выявить соду в молоке?

ЗАНЯТИЕ 11. КОНТРОЛЬ МОЛОКА НА НАЛИЧИЕ АНТИБИОТИКОВ

Цель занятия: изучить иммунологические методы определения антибиотиков в молоке по ГОСТ 32219–2013 и получить практические навыки по их выявлению.

Аппаратура, материалы и реактивы. Термостат, позволяющий поддерживать температуру от 37°C до 66°C с допустимой погрешностью $\pm 0,5^\circ\text{C}$; баня водяная с термостатом; холодильник бытовой; камера морозильная; часы механические; термометр лабораторный стеклянный с диапазоном измерения от 0°C до 100°C ценой деления шкалы 1°C; пипетки вместимостью 0,5 и 1,0 см³; вода дистиллированная; бумага фильтровальная; буфер для восстановления сухой сыворотки Unisensor Dilution Buffer (Unisensor, Бельгия); раствор гидроксида натрия молярной концентрацией 1 моль/дм³; анализатор потенциометрический; тест-наборы для определения наличия антибиотиков:

– тест-набор №1 (тест-набор «Twinsensor^{BT}» (Unisensor, Бельгия) для одновременного определения антибиотиков бета-лактаминового типа и тетрациклиновой группы, включающий пеналы с пластинами микропробирок со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом; индикаторными полосками хроматографической бумаги; пипетками вместимостью 0,2 см³ с наконечниками; контрольные растворы: пробирки или флаконы со смесью сухого молока с массовой концентрацией пенициллина-G 0,004 мкг/г и окситетрациклина 0,01 мкг/г, красителя («Positive Standard»); пробирки или флаконы со смесью сухого молока без антибиотиков и красителя («Negative Standard»);

– тест-набор №2 (тест-набор «Betastar Combo» (Neogen Corporation, США)

для одновременного определения антибиотиков бета-лактаманного типа и тетрациклиновой группы, включающий закрытые крышкой флаконы со специфическими рецепторами, мечеными коллоидным золотом; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетку вместимостью 0,2 см³ с наконечниками;

– тест-набор №3 (тест-набор «4sensor^{BTCS}» (Unisensor, Бельгия) для одновременного определения антибиотиков бета-лактаманного типа, тетрациклиновой группы, левомецетина и стрептомицина, включающий пеналы с пластинами микропробирок со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом; индикаторными полосками хроматографической бумаги; пипетками вместимостью 0,2 см³ с наконечниками; контрольные растворы: пробирки или флаконы со смесью сухого молока с концентрацией пенициллина-G 0,004 мг/кг, окситетрациклина 0,01 мг/кг, стрептомицина 0,2 мг/кг, хлорамфеникола 0,0003 мг/кг и красителя («Positive Standard»); пробирки или флаконы со смесью сухого молока без антибиотиков и красителя («Negative Standard»);

– тест-набор №4 (тест-набор «Betastar 4D» (Neogen Corporation, США)) для одновременного определения антибиотиков бета-лактаманного типа, тетрациклиновой группы, левомецетина и стрептомицина, включающий флаконы; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетки вместимостью 0,2 см³ или 0,3 см³;

– тест-набор №5 (тест-набор «PROQUI-TEST 4» (Proquiga Biotech, SA, Испания)) для одновременного определения наличия антибиотиков бета-лактаманного типа, тетрациклиновой группы, левомецетина и стрептомицина, включающий пеналы с пластинами микропробирок со специфическими рецепторами, мечеными коллоидным золотом; индикаторные полоски хроматографической бумаги; пипетку вместимостью 0,2 см³ с наконечниками (дополнительно).

Для восстановления сухой сыворотки готовят раствор буфера: при температуре 40±2°С буфер разводят в дистиллированной воде в соотношении 1:1. 1,5 г сухой сыворотки добавляют к 8,5 см³ раствора буфера и измеряют значение pH полученного раствора. Если значение менее 6 ед. pH, то кислотность раствора приводят к значению 6–7 ед. pH при помощи гидроксида натрия.

11.1. Метод с использованием тест-набора «Twinsensor^{BT}»

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактаманного типа и тетрациклиновой группы со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционные и контрольную зоны.

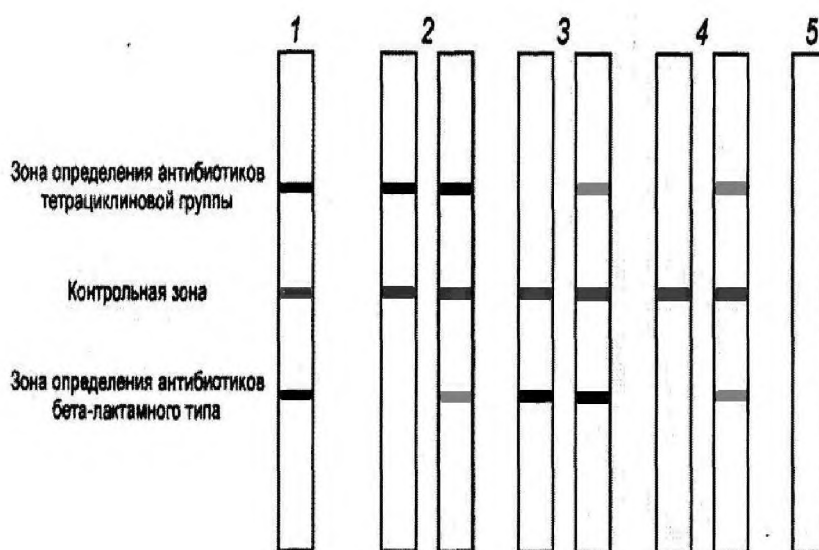
Методика определения. Тест-набор хранят в холодильнике при температуре от 2–8°С не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество пеналов из тест-набора выдерживают при температуре 15–30°С в течение 10 мин. Термостат или водяную баню нагревают до температуры 40±3°С и выдер-

живают при этой температуре не менее 5 мин.

Восстанавливают контрольные растворы «Positive Standard» и «Negative Standard»: в стеклянные пробирки с контрольными растворами пипеткой вносят по 1 см³ дистиллированной воды (0,4 см³ для контрольных растворов в пластиковых флаконах) и перемешивают до образования однородного раствора. Срок хранения восстановленных растворов при температуре 20°C – не более 6 мес. Не допускается повторное замораживание.

Микропробирки помещают в термостат или на водяную баню с температурой 40±3°C. В каждую микропробирку пипеткой с наконечником вносят 0,2 см³ анализируемого молока, перемешивают, наполняя и сливая содержимое с помощью пипетки пять раз для получения однородного раствора, и выдерживают в термостате в течение 3 мин. Для каждой микролунки используют новый наконечник на пипетку. В микропробирки помещают индикаторные полоски хроматографической бумаги и выдерживают в термостате при температуре 40±3°C в течение 3 мин. По истечении времени индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают. Определение с использованием контрольных растворов проводят, как указано выше, при этом в одну микропробирку вносят 0,2 см³ раствора «Positive Standard», в другую – 0,2 см³ раствора «Negative Standard».

Обработка результатов. Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с рисунком 6.



1 – антибиотики отсутствуют; 2 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; 3 – присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы; 4 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы; 5 – недействительный результат

Рисунок 6 – Учет результатов обнаружения антибиотиков с использованием тест-набора «Twinsensor^{BT}»

Зона центральной части индикаторной полоски хроматографической бумаги

является контрольной. Если после проведения определения окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы на индикаторной полоске хроматографической бумаги расположена над контрольной зоной. Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа – под контрольной зоной.

Большая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зоны определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие окрашивания зоны определения антибиотиков свидетельствуют о наличии антибиотиков в анализируемом молоке. При проведении определений с применением контрольных растворов «Positive Standard» и «Negative Standard» обработку результатов проводят, как указано выше.

11.2. Метод с использованием тест-набора «Betastar Combo»

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа и тетрациклиновой группы со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционные и контрольную зоны.

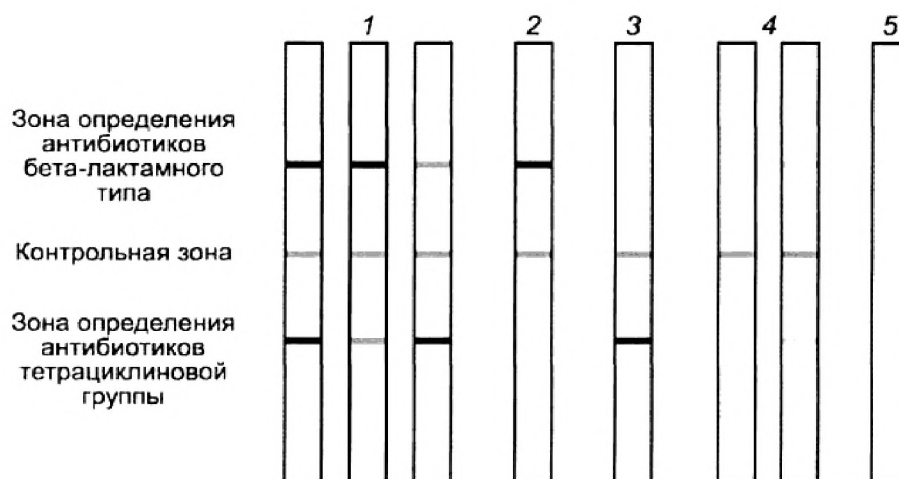
Методика определения. Тест-набор хранят при температуре 2–8°C не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество тест-наборов выдерживают при температуре 15–30°C в течение 10 мин. Термостат или водяную баню нагревают до температуры $37,5 \pm 1^\circ\text{C}$. Флаконы с реагентом встряхивают для осаждения содержимого на дне.

Снимают крышку флакона. Пипеткой с наконечником вносят 0,2 см³ анализируемого молока во флакон, закрывают его крышкой, встряхивают до полного растворения реактива и снимают крышку. Для каждого флакона используют новый наконечник на пипетку.

Флакон помещают в термостат или на водяную баню и выдерживают при температуре $37,5 \pm 1,0^\circ\text{C}$ в течение 5 мин. Во флакон, находящийся в термостате, помещают индикаторную полоску хроматографической бумаги и выдерживают 3 мин. Затем индикаторную полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона и считывают результат.

Обработка результатов: сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с рисунком 7.

Зона центральной части полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения не произошло окрашивания контрольной зоны, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.



1 – антибиотики отсутствуют; 2 – присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы; 3 – присутствуют антибиотики бета-лактадного типа; 4 – присутствуют антибиотики бета-лактадного типа и тетрациклиновой группы; 5 – недействительный результат

Рисунок 7 – Учет результатов обнаружения антибиотиков с использованием тест-набора «Betastar Combo»

Зона определения антибиотиков бета-лактадного типа на полоске хроматографической бумаги расположена над контрольной зоной. Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы – под контрольной зоной.

Большая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие их окрашивания свидетельствует о наличии антибиотиков в анализируемом молоке.

11.3. Метод с использованием тест-набора «4sensor^{BTCS}»

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактадного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционные и контрольную зоны.

Методика определения. Тест-набор хранят при температуре от 2–8°C не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество пеналов из тест-набора выдерживают при температуре 15–30°C в течение 10 мин. Термостат или водяную баню нагревают до температуры 40±3°C и выдерживают при этой температуре не менее 5 мин.

Восстанавливают контрольные растворы «Positive Standard» и «Negative Standard»: в стеклянные пробирки с контрольными растворами пипеткой вносят по 1 см³ дистиллированной воды (0,4 см³ для контрольных растворов в пластиковых флаконах) и перемешивают до образования однородного раствора. Срок хранения восстановленных растворов при температуре 20°C – не более 6 мес. Не допускается повторное замораживание.

Микропробирки помещают в термостат или на водяную баню с температурой 40±3°C. В каждую микропробирку пипеткой с наконечником вносят 0,2 см³ анализируемого молока, перемешивают, наполняя и сливая содержимое с помощью пипетки пять раз для получения однородного раствора, и выдерживают в термостате в течение 5 мин. Для каждой микролунки используют новый наконечник на пипетку. В микропробирки помещают индикаторные полоски хроматографической бумаги и выдерживают в термостате при температуре 40±3°C в течение 5 мин. По истечении времени индикаторные полоски хроматографической бумаги извлекают. Определение с использованием контрольных растворов проводят, как указано выше, при этом в одну микропробирку вносят 0,2 см³ раствора Positive Standard, в другую – 0,2 см³ раствора Negative Standard.

Обработка результатов. Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с рисунком 10.

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы в анализируемом молоке расположена под контрольной зоной первой. Зона определения левомицетина – под контрольной зоной второй. Зона определения стрептомицина – под контрольной зоной третьей. Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа – под контрольной зоной четвертой.

Большая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зоны определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие окрашивания свидетельствуют о наличии антибиотиков в анализируемом молоке. При проведении определений с применением контрольных растворов «Positive Standard» и «Negative Standard» обработку результатов проводят, как указано выше.

11.4. Метод с использованием тест-набора «Betastar 4D»

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактамного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической

бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционные и контрольную зоны.

Методика определения: Тест-набор хранят при температуре от 2–8°C не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество пеналов из тест-набора выдерживают при температуре 15–30°C в течение 10 мин. Термостат или водяную баню нагревают до температуры 40±3°C и выдерживают при этой температуре не менее 5 мин.

Пипеткой вносят 0,3 см³ анализируемого молока во флакон. Флакон помещают в термостат или на водяную баню. Во флакон, находящийся в термостате, помещают индикаторную полоску хроматографической бумаги и выдерживают при температуре 47,5±1°C в течение 10 мин. Затем индикаторную полоску хроматографической бумаги извлекают из флакона и считывают результат.

Обработка результатов. Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий.

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы в анализируемом молоке расположена под контрольной зоной первой. Зона определения левомицетина – под контрольной зоной второй. Зона определения стрептомицина – под контрольной зоной третьей. Зона определения антибиотиков бета-лактаманного типа – под контрольной зоной четвертой.

Большая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует об отсутствии антибиотиков в анализируемом молоке.

Меньшая или равная интенсивность цвета зоны определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие окрашивания свидетельствуют о наличии антибиотиков в анализируемом молоке. При проведении определений с применением контрольных растворов «Positive Standard» и «Negative Standard» обработку результатов проводят, как указано выше.

11.5. Метод с использованием тест-набора «PROQUI-TEST 4»

Метод основан на реакции комплексообразования антибиотиков бета-лактаманного типа, тетрациклиновой группы, левомицетина и стрептомицина со специфическими белковыми рецепторами, мечеными коллоидным золотом, и последующем визуальном выявлении оставшихся свободными меченых рецепторов путем хроматографии на индикаторных полосках хроматографической бумаги, содержащих в виде соответствующих линий реакционные и контрольную зоны.

Методика определения. Тест-набор хранят при температуре от 6±2°C не более 12 мес. Перед началом работы необходимое количество микропробирок извлекают из тест-набора.

Пипеткой вносят 0,2 см³ анализируемого молока в микропробирку, перемешивают с ее содержимым, наполняя и сливая его с помощью пипетки пять раз, до образования розового цвета, и выдерживают в течение 3 мин. Индикаторную полоску хроматографической бумаги помещают в микропробирку на 7–8 мин., затем извлекают, кладут на чистую сухую поверхность и считывают результат.

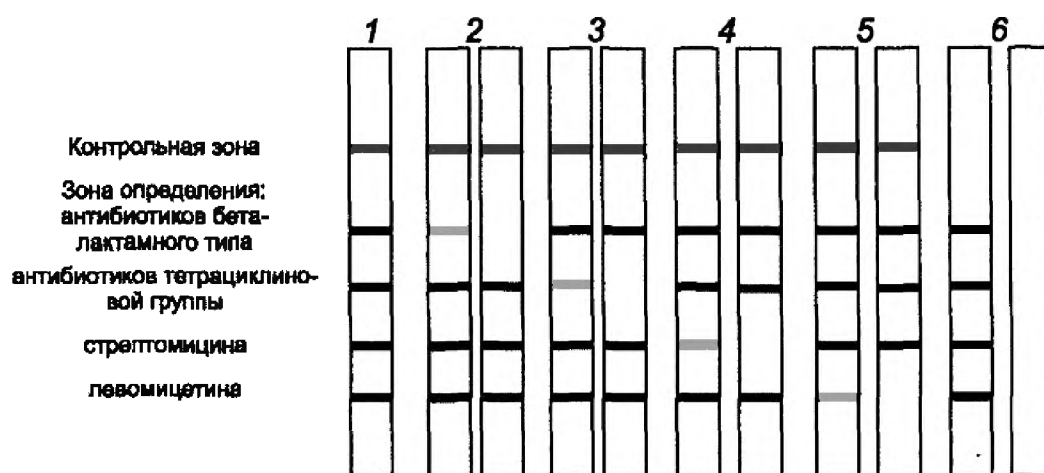
Обработка результатов. Сравнивают интенсивность цвета окрашенных в красный цвет зон, появившихся на индикаторной полоске хроматографической бумаги в виде линий в соответствии с рисунком 8.

Зона верхней части индикаторной полоски хроматографической бумаги является контрольной. Если после проведения определения окрашивания контрольной зоны не произошло, то определение наличия антибиотиков в молоке повторяют с новым тест-набором.

Зона определения антибиотиков бета-лактамного типа на индикаторной полоске хроматографической бумаги расположена под контрольной зоной первой. Зона определения антибиотиков тетрациклиновой группы – под контрольной зоной второй. Зона определения стрептомицина – под контрольной зоной третьей. Зона определения левомицетина – под контрольной зоной четвертой.

Большая интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны свидетельствует о том, что концентрация определяемых антибиотиков в анализируемом молоке менее предела обнаружения.

Меньшая или равная интенсивность цвета зон определения антибиотиков по сравнению с интенсивностью цвета контрольной зоны, а также отсутствие их окрашивания свидетельствуют о том, что концентрация определяемых антибиотиков в анализируемом молоке больше или равна пределу обнаружения.



1 – антибиотики отсутствуют; 2 – присутствуют антибиотики бета-лактамного типа; 3 – присутствуют антибиотики тетрациклиновой группы; 4 – присутствует стрептомицин; 5 – присутствует левомицетин;
6 – недействительный результат

Рисунок 8 – Учет результатов обнаружения антибиотиков с использованием тест-набора «PROQUI-TEST 4»

Таблица 16 – Наименьшие определения антибиотиков в молоке

Наименование антибиотика	Наименьший предел определения антибиотиков с использованием тест-наборов, мг/кг				
	№1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Амоксициллин	0,003	0,002	0,002	0,002	0,003
Ампициллин	0,003	0,002	0,003	0,003	0,003
Бензициллин	0,003	—	0,003	—	—
Гетациллин	0,005	—	0,005	—	—
Дигидрострептомицин	—	—	0,05	—	0,1
Диклоксациллин	0,006	0,002	0,006	0,003	0,003
Доксициклин	0,0025	0,002	0,002	0,002	0,006
Клоксациллин	0,006	0,002	0,006	0,003	0,003
Левомецетин (хлорам-феникол)	—	—	0,003	0,003	0,003
Нафциллин	0,03	0,0075	0,03	0,01	0,01
Оксациллин	0,012	0,003	0,012	0,003	0,003
Оксиитетрациклин	0,0075	0,01	0,007	0,01	0,01
Пенициллин G	0,003	0,002	0,003	0,003	0,0015
Пенициллин V	0,003	—	0,003	—	—
Пиперациллин	0,005	—	0,005	—	—
Прокаин пенициллин	0,003	—	0,003	—	—
Стрептомицин	—	—	0,15	0,2	0,1
Тетрациклин	0,01	0,01	0,01	0,01	0,008
Хлортетрациклин	0,006	0,006	0,005	0,006	0,004
Цефазолин	—	0,015	—	0,02	—
Цефалексин	—	0,4	—	—	—
Цефалоний	0,003	—	0,003	—	—
Цефалониум	0,003	0,003	0,003	0,003	0,004
Цефапирин	—	0,004	—	0,004	0,004
Цефкином	—	0,006	—	0,006	0,005
Цефоперазон	0,003	0,003	0,003	0,004	0,004
Цефтиофур	—	0,05	0,01	0,015	0,01

Задание 1. Проведите анализ трех проб молока на наличие антибиотиков с использованием тест набора «Twinsensor^{BT}». Полученные результаты запишите в таблицу 17.

Таблица 17 – Контроль молока на наличие антибиотиков

№ про-бы	Цвет контрольной зоны	Цвет зоны определения антибиотиков тетрациклиновой группы	Цвет зоны определения антибиотиков бета-лактаманного типа	Оценка результата
1				
2				
3				

Контрольные вопросы. 1. Какие тест-наборы позволяют определить левомицетин? 2. Какие тест-наборы позволяют определить стрептомицин? 3. При какой температуре выдерживают микропробирки при определении антибиотиков с использованием тест-набора «Twinsensor^{BT}»? 4. В каком порядке расположены зоны окрашивания на тест-полосках набора «Betastar Combo»? 5. Какое количество молока необходимо добавить в микропробирку для выявления антибиотиков с применением тест-набора «PROQUI-TEST 4»? 6. Какие антибиотики можно выявить с помощью тест-набора «4sensor^{BTCS}»?

ЗАНЯТИЕ 12. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В МОЛОКЕ И ВЫЯВЛЕНИЕ КОРОВ, БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ

Цель занятия: изучить методы по определению соматических клеток в молоке и получить практические навыки по определению маститов у коров различными способами.

Количество соматических клеток в молоке является показателем здоровья вымени. В результате регенерации клеток и защитных процессов, протекающих в молочной железе, в молоке всегда присутствует некоторое количество соматических клеток. Их содержание не является постоянным и колеблется в четвертях вымени в пределах от нескольких десятков тысяч до 200000 в каждом миллилитре молока. В конце периода лактации содержание соматических клеток повышается, много их и в первых струйках молока.

Уже 200000 соматических клеток в 1 мл молока свидетельствуют о начале развития мастита и если не вести контроль, то их количество может резко возрасти до миллиона. Значительное увеличение количества соматических клеток в молоке указывает на возникновение мастита у коровы. У больных животных снижаются удои, ухудшается качество молока, что приводит к значительным экономическим потерям.

Контроль содержания соматических клеток в молоке рекомендуется проводить:

- раз в месяц в качестве профилактических мер по борьбе с маститами;
- в случае, если приемщик сообщает о высоком количестве соматических клеток в доставленном молоке. Таким образом можно сразу выявить больных коров и не допустить попадание молока от них в общий надой;
- за три недели до запуска коровы, таким образом, чтобы хватило времени на возможное лечение;
- через 10 дней после лечения для контроля над процессом выздоровления;
- при покупке коров;
- через 14 дней после отела.

12.1. Метод определения соматических клеток в молоке на молочно-контрольных пластинках с применением препарата «Беломастин»

Аппаратура, материалы, реактивы: молочно-контрольные пластинки МКП-1 или МКП-2; рабочий раствор «Беломастина» готовят, добавляя к препарату дистиллированную или кипяченую воду в соотношении 1:3. Срок использования рабочего раствора 8 месяцев; весы лабораторные 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г; секундомер; общее лабораторное оборудование.

Методика определения: метод основан на способности «Беломастина» образовывать гель с молоком, содержащим соматические клетки.

В углубление пластинок МКП-1 или МКП-2 (можно использовать пенициллиновые флаконы, пробирки) вносят по $1,0 \text{ см}^3$ рабочего раствора «Беломастина» и 1 см^3 молока, затем перемешивают стеклянной палочкой или путем горизонтального вращения.

Обработка результатов: учет проводят в первые 10–20 секунд.

а) реакционная смесь остается жидкой, однородной – в сборном молоке содержится соматических клеток до 500000 в 1 см^3 .

б) в смеси образуются хлопья или слизистые тяжи - в молоке содержится соматических клеток от 500 000 до 1 000 000 в 1 см^3 .

в) в смеси образуется тягучая слизистая масса или желеобразный сгусток – в молоке содержится соматических клеток более 1 000 000 в 1 см^3 .

12.2. Визуальный метод определения соматических клеток по изменению вязкости с применением препарата «Мастоприм» по ГОСТ 23453

Метод основан на воздействии сульфанола (поверхностно-активного вещества, входящего в состав препарата «Мастоприм») на клеточную оболочку соматических клеток, приводящем к нарушению ее целостности и выходу содержимого клеток во внешнюю среду. При этом изменяется вязкость (консистенция) сырого молока, что оценивается визуально.

Аппаратура, материалы и реактивы. Весы; колбы мерные; пипетки; пластинки молочно-контрольные МКП-1 и МКП-2; термометр; стаканы; палочки стеклянные или пластмассовые; вода дистиллированная; плитка электрическая; секундомер; препарат «Мастоприм».

Приготовление водного раствора препарата «Мастоприм»: 2,5 г препарата вносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доливают до метки дистиллированной водой (или питьевой свежекипяченной водой), нагретой до температуры 30–35°C. Раствор должен быть прозрачным белого цвета. Допускается помутнение и образование незначительного осадка, который растворяется при нагреве до температуры 30–35°C. Раствор перед применением перемешивают. Срок хранения раствора при температуре 10–30°C – 24 часа.

Методика определения: от тщательно перемешанной пробы анализируемого сырого молока пипеткой отбирают 1 см^3 , помещают в луночку пластинки ПМК-1 и добавляют 1 см^3 раствора препарата «Мастоприм».

Сырое молоко с раствором препарата «Мастоприм» интенсивно переме-

шивают стеклянной или пластмассовой палочкой в течение 10 с. Не прекращая интенсивного перемешивания смеси в луночке, поднимают палочку вверх на 5–7 см и визуально оценивают изменение вязкости смеси. Наблюдение ведут не более 60 с.

Обработка результатов: количество соматических клеток в исследуемом молоке устанавливают визуально по изменению вязкости (консистенции) смеси сырого молока с препаратом «Мастоприм» в соответствии с требованиями таблицы 18.

Таблица 18 – Количество соматических клеток в молоке

Характеристика вязкости (консистенции) смеси	Ориентировочное количество соматических клеток в 1 см ³ сырого молока
1	2
Однородная жидкость или слабый сгусток, который слегка тянется за палочкой	Не более 500 тыс.*
От сгустка, тянущегося за палочкой в виде нити, до выраженного сгустка, при перемешивании которого хорошо видна выемка на дне луночки пластинки. Сгусток не вырабатывается палочкой из луночки пластинки	От 500 тыс. до 1 млн
Плотный сгусток, который выбрасывается палочкой из луночки пластинки	Свыше 1 млн

Примечание. *Нижний предел точности визуального метода – 500 тыс. соматических клеток в 1 см³ сырого молока, что соответствует международно признанной границе физиологической нормы и говорит об отсутствии или незначительной примеси (до 6%) маститного молока в сборном. Для определения в сыром молоке меньшего количества соматических клеток и получения конкретных числовых значений необходимо применять инструментальные методы.

12.3. Метод выявления молока от коров, больных маститом, с применением препарата «Керба-тест»

Аппаратура, материалы, реактивы: лопатка для пробы Шальма; препарат «Керба-тест»; секундомер; общее лабораторное оборудование.

Методика определения. Керба-тест позволяет оценить состояние вымени задолго до того, как в молоке появятся хлопья, кровь и водянистость. Проверка должна проводиться только перед доением. Первые три струйки молока сдаивают в специальную кружку из-за высокого содержания в нем микроорганизмов и соматических клеток.

Молоко (около 2 мл) наливают в соответствующие области испытательной чаши (кольцо лопатки для пробы Шальма). Излишнее молоко отливают до линии посредством наклонения испытательной чаши. Подкачивают испытательную жидкость, втягивая ее в верхушку насоса. Вводят нужное количество испытательной жидкости в сектора (кольцо лопатки для пробы Шальма) одним поднятием насоса дозирующей бутылки (1 впрыск). Медленным горизонтальным вращением перемешивают содержимое испытательной чаши. Через 10 с. оценивают результат.

Обработка результатов: количество соматических клеток в исследуемом молоке устанавливают по консистенции молока в соответствии с требованиями таблицы 19.

Таблица 19 – Количество соматических клеток в молоке

Характеристика консистенции содержимого испытательной чашки	Количество соматических клеток в 1 см ³ молока	Наличие мастита
Смесь остается жидкой, без полосок	до 200 тыс.	мастит нет
При медленном наклонении на смеси появляются слегка выраженные полоски, легко распознаваемые на разделительной линии	от 200 тыс. до 500 тыс.	требуется контроль за здоровьем вымени
Смесь становится более густой. В ней ярко выражены полоски	от 500 тыс. до 1 млн	мастит
В смеси отчетливо выражены полоски и сама смесь представляет собой крепкую желатиновую массу. Также может наблюдаться изменение цвета вплоть до красно-синего	свыше 1 млн	тяжелый мастит

12.4. Метод выявления молока от коров, больных маститом, с применением препаратов «Димастин», «Мастидин»

Аппаратура, материалы, реактивы: молочно-контрольные пластинки МКП-1 или МКП-2; рабочий раствор димастина или мастидина, приготовленный на дистиллированной воде; весы лабораторные 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г; секундомер; общее лабораторное оборудование.

Методика определения. Для диагностики скрытого мастита используют пробы с мастидином и димастином. При заболевании вымени титруемая кислотность молока снижается до 6–10°Т, что устанавливают с помощью этих растворов, которые образуют сгусток. В зависимости от реакции среды (рН) молока индикатор изменяет цвет.

В луночки молочно-контрольной пластины наливают по 1 см³ исследуемого молока и по 1 см³ 5% раствора димастина или такое же количество раствора мастидина. Содержимое луночки интенсивно перемешивают при помощи стеклянной палочки 5–15 с., после чего приподнимают палочку вверх и оценивают результат.

Обработка результатов: молоко коров, больных маститом, образует с димастином сгусток ярко-красного (алого, пунцового) цвета. Если появляется сгусток желеподобной консистенции красного или оранжево-красного цвета, то считают, что молоко получено от животного, подозрительного по заболеванию маститом. Молоко здоровых животных остается однородной жидкой консистенции оранжевого цвета.

При использовании мастидина реакцию учитывают главным образом по густоте желе. Положительная реакция – сгусток похож на белок куриного яйца фиолетового или темно-сиреневого цвета. Отрицательная реакция – однородная жидкость или слабый сгусток светло-сиреневого или дымчатого цвета.

12.5. Метод выявления молока от коров, больных маститом, с применением теста «Somaticell CSS Test»

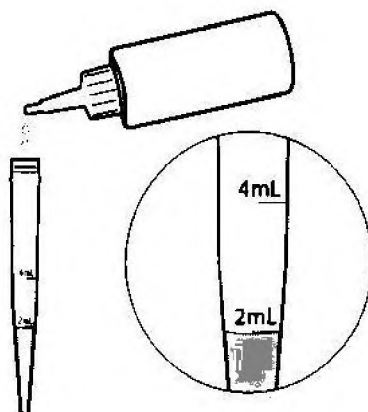
Аппаратура, материалы и реактивы: тест-набор «Somaticell CSS Test», секундомер, общее лабораторное оборудование.

Методика определения. Оптимальная температура исследований молока при помощи данного теста 0–8°C. При исследовании индивидуальных образцов первоначально сдаивают первые струи молока и затем проводят полное доение. Помещают образцы в чистые сухие контейнеры. Перед исследованием перемешивают. Образцы для исследования могут быть отобраны как из каждой четверти вымени отдельно, так и смешиваться, с формированием одной общей пробы.

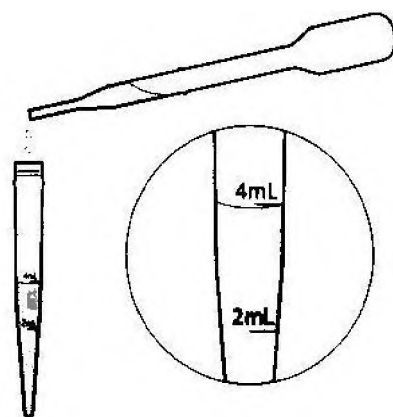
При отборе образцов молока от стада в целом тщательно перемешивают сборное молоко в течение 2–10 минут, затем отбирают образец пипеткой, имеющейся в составе набора.

Для выявления молока от коров, больных маститом, при помощи теста Somaticell CSS Test выполняют следующие действия:

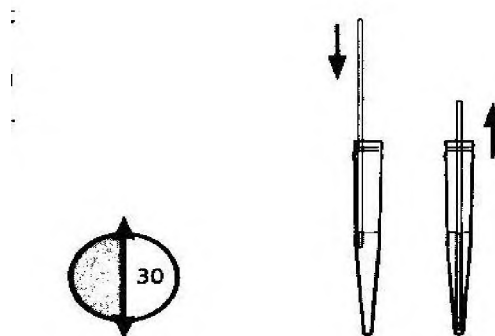
1. Добавляют 2 мл реагента в тест-пробирку.



2. Добавляют 2 мл молока в тест-пробирку с реагентом.



3. Смешивают, медленно двигая палочкой для перемешивания по стенке пробирки вверх-вниз. Повторяют 20 раз в течение 30 секунд. При этом не допускают встряхивания пробирки и не закрывают верхний конец палочки.



4. Плотнo закрывают пробирку прилагаемой крышкой (при этом слышны два щелчка). Переворачивают пробирку отверстием в крышке вниз и сливают жидкость в течение 30 секунд.



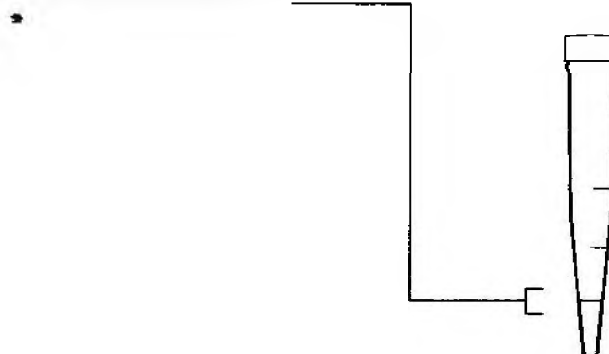
5. Переворачивают пробирку в исходное положение и выдерживают несколько секунд до осаждения жидкости.



6. Считают показания оставшегося молока. Значение напротив уровня молока указывает количество соматических клеток (в тыс.).

Пример: значение 205 = 205 000

соматических клеток/мл



Учет результатов проводят согласно данным, приведенным в таблице 20.

Таблица 20 – Руководство по интерпретации теста Somaticell CSS Test

Количество соматических клеток	Анализ индивидуальных проб молока	Анализ смешанных проб молока
Более 1 000 000	Очень высокая вероятность инфекции (мастит) Ожидаемые потери молока 770 л на корову в год*	Молоко низкого качества Инфекция предполагается более чем у 30% коров в стаде
400 000-1 000 000	Высокая вероятность инфекции Ожидаемые потери молока от 540 до 770 л на корову в год*	Показатель соматических клеток SCC 750000 Инфекция предполагается у 15-30% коров
200 000-400 000	Указание на вероятную инфекцию Ожидаемые потери молока от 360 до 540 л на корову в год*	Показатель соматических клеток SCC 400 000 Инфекция предполагается у 6-14% коров
Менее 200 000	Малая вероятность инфекции Примерно 80% неинфицированных коров имеют показатель соматических клеток SCC менее 200 000	Молоко высокого качества Небольшое количество коров в стаде (6%) могут быть инфицированными

Примечание. * На основании среднегодового надоя 6350-6800 литров на корову.

12.6. Метод определения количества соматических клеток в молоке с применением вискозиметра по ГОСТ 23453–2014

Метод основан на воздействии сульфанола (поверхностно-активного вещества, входящего в состав препарата «Мастоприм») на клеточную оболочку соматических клеток, приводящем к нарушению ее целостности и выходу содержимого клеток во внешнюю среду. При этом изменяется вязкость (консистенция), что оценивают вискозиметром.

Аппаратура, материалы и реактивы: вискозиметр «Соматос» или «Экомилк Скан»; колбы мерные; пипетки; секундомер; весы; стаканы; электроплитка; термометр; палочки стеклянные или пластмассовые; препарат «Мастоприм»; вода дистиллированная.

Приготовление водного раствора препарата «Мастоприм»: 3,5 г препарата вносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доливают до метки дистиллированной водой (или питьевой свежеекипяченной водой), нагретой до температуры 30–35°C. Раствор должен быть прозрачным, белого цвета. Допускается помутнение и образование незначительного осадка, который растворяется при нагреве до температуры 30–35°C. Раствор перед применением перемешивают. Срок хранения раствора при температуре 10–30°C – 24 часа.

Методика определения. Устанавливают температуру сырого молока в пределах 18–22°C.

5 см³ раствора «Мастоприм» и 10 см³ анализируемого сырого молока отбирают пипетками и вносят в сосуд вискозиметра. Анализируемое молоко перед отбором пробы необходимо тщательно перемешать и при необходимости очистить от механических примесей.

Смесь анализируемого молока с раствором препарата «Мастоприм» в сосуде вискозиметра перемешивают в течение 30 ± 10 с в ручном или автоматическом режиме. По окончании перемешивания определяют количество соматических клеток в анализируемом молоке по времени вытекания смеси из капилляра. Продолжительность вытекания определяется вязкостью смеси сырого молока с раствором препарата «Мастоприм», которая коррелирует с исходным содержанием в нем соматических клеток.

Диапазон определения количества соматических клеток при использовании капиллярных вискозиметров составляет от 90 до 1500 тыс. в 1 см^3 сырого молока, и продолжительность вытекания смеси из капилляра колеблется от 12 до 58 с., что указано в таблице 21.

Таблица 21 – Диапазон определения количества соматических клеток

Продолжительность вытекания*, с.	Количество соматических клеток, тыс./ см^3
от 12,0 до 15,0	от 90 до 200
15,0–18,0	200–300
18,0–21,5	300–400
21,5–25,0	400–500
25,0–27,5	500–600
27,5–30,0	600–700
30,0–32,0	700–800
32,0–34,5	800–900
34,5–37,0	900–1000
37,0–40,5	1000–1100
40,5–44,0	1100–1200
44,0–48,5	1200–1300
48,5–53,0	1300–1400
53,0–58,0	1400–1500

Примечание. *Продолжительность вытекания смеси из капилляра вискозиметра диаметром капилляра рабочего сосуда $1,50 \pm 0,05$ мм и длиной капилляра $1,00 \pm 0,05$ мм.

После проведения анализа смеси для каждой анализируемой пробы сырого молока сосуд прибора следует подготовить для проведения следующего анализа согласно процедуре, описанной в инструкции по применению прибора.

Обработка результатов. За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать:

- 1 с. для времени вытекания смеси от 12,0 до 18,0 с.;
- 2 с. – от 18,1 до 25,0 с.;
- 3 с. – от 25,1 до 31,0 с.;
- 4 с. – от 31,1 до 37,0 с.;
- 5 с. – от 37,1 до 46,0 с.;
- 6 с. – от 46,1 до 58,0 с.

Предел допускаемой погрешности результатов измерений составляет 10% в интервале доверительной вероятности $P=0,95$.

12.7. Метод определения количества соматических клеток с применением микроскопа (СТБ ISO 13366-1 / IDF 148-1-2014) – контрольный метод

Аппаратура, материалы и реактивы. Водяная баня, позволяющая поддерживать температуру $65\pm 5^{\circ}\text{C}$ и температуру $35\pm 5^{\circ}\text{C}$; фильтр, устойчивый к применяемым растворам, с размером пор от 10 до 12 мкм; микроскоп с увеличением 500–1000х; микрошприц номинальной вместимостью 0,01 мл с предельно допускаемой погрешностью 2%; предметные стекла с нанесенным контуром размером 20х5 мм или стандартные предметные стекла в комплекте с шаблоном размером 20 х 5 мм; плитка электрическая, позволяющая поддерживать температуру $40\pm 10^{\circ}\text{C}$; фен бытовой.

Предостережение. Тетрахлорэтан – яд. Приготовление и применение красящих растворов необходимо проводить в вытяжном шкафу. Для защиты рук должны использоваться перчатки.

Используют реактивы только требуемой аналитической степени чистоты, дистиллированную и/или дионизированную воду или воду, равноценную по чистоте.

Состав красящего раствора:

Этанол с объемной долей спирта 95%	54,0 мл
Тетрахлорэтан	40,0 мл
Метиленовый голубой	0,6 г
Уксусная кислота ледяная	6,0 мл

В колбе смешивают этанол и тетрахлорэтан. Смесь нагревают на водяной бане до температуры 65°C . Добавляют метиленовый голубой и тщательно перемешивают. Охлаждают в холодильнике до 4°C и затем добавляют уксусную кислоту ледяную. Раствор фильтруют через соответствующий фильтр в герметическую колбу и в ней хранят. Раствор перед использованием обязательно фильтруют.

Методика определения: проба, представленная в лабораторию для исследования, не должна претерпеть изменений в процессе хранения и транспортирования. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в ИСО 707. Если отобранные пробы не были испытаны в течение 6 ч, то их необходимо законсервировать, добавляя борную кислоту. Предельная концентрация борной кислоты должна быть не более 0,6 г на 100 мл пробы. Срок хранения консервированных проб при температуре от 2°C до 6°C – не более 24 ч.

Исследуемую пробу нагревают на водяной бане до температуры 35°C . Тщательно перемешивают и охлаждают до температуры, при которой был градуирован микрошприц, например до 20°C . Из каждой анализируемой пробы готовят и распределяют на предметном стекле минимум два препарата. Стекла моют, сушат чистой фильтровальной бумагой, фламбируют и охлаждают. Микрошприцем отбирают 0,01 мл исследуемой пробы. Наносят на чистое предмет-

ное стекло с контуром размером 20 х 5 мм, затем равномерно заполняют этот контур исследуемой пробой. Мазок полностью высушивают на установленной горизонтально электрической плитке.

Высушенный на стекле мазок опускают в красящий раствор на 10 мин. Сушку осуществляют бытовым феном. Затем препарат промывают водой для удаления излишков краски. Препарат снова сушат и хранят, защищая от пыли. Используя микроскоп, подсчитывают количество клеток на препарате (должно быть не менее 400). В поле микроскопа видно не менее половины и их легко распознать. Количество клеток подсчитывают на вертикальной полоске одной третьей центральной части препарата. Избегают подсчета клеток на участках препарата, расположенных на периферии. Правильность приготовления препарата и достоверность результатов проверяют не реже одного раза в месяц, подсчитывая клетки на различных участках препарата.

Обработка результатов: длина каждого участка, на котором подсчитывают клетки, составляет 5 мм, ширина участка соответствует диаметру поля микроскопа (в миллиметрах). При объеме исследуемого образца 0,01 мл рабочий коэффициент w_f рассчитывают по следующей формуле (12):

$$w_f = \frac{20 \times 100}{d \times b},$$

где d – диаметр поля микроскопа, мм;

b – количество участков, на которых проведен подсчет.

Количество подсчитанных соматических клеток умножают на рабочий коэффициент w_f и получают количество соматических клеток в 1 мм пробы.

Задание 1. Определить количество соматических клеток в трех пробах молока с применением вискозиметра «СОМАТОС». Полученные результаты записать в таблицу 22, сделать соответствующие выводы.

Таблица 22 – Содержание соматических клеток в пробах молока

Номер пробы молока	Показания вискозиметра			
	время вытекания смеси, с.	количество соматических клеток, тыс./см ³	время вытекания смеси, с	количество соматических клеток, тыс./см ³
№1				
№2				
№3				

Задание 2. Провести анализ трех проб молока на мастит с применением препарата «Беломастин». Полученные результаты занести в таблицу 23, сделать выводы.

Таблица 23 – Количество соматических клеток в молоке

Показатели	Номер пробы молока		
	№1	№2	№3
Консистенция смеси			
Ориентировочное содержание соматических клеток, тыс./см ³			

Контрольные вопросы: 1. Перечислите методы выявления молока от коров, больных маститом. 2. Укажите методики определения содержания соматических клеток в молоке. 3. Опишите методику выявления молока от коров, больных маститом, с использованием димастина, мастидина, мастопри-ма, беломастина. 4. Опишите методику определения соматических клеток с использованием вискозиметра. 5. Опишите метод определения соматических клеток с использованием микроскопа.

ЗАНЯТИЕ 13. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРМОУСТОЙЧИВОСТИ МОЛОКА ПО АЛКОГОЛЬНОЙ ПРОБЕ (ГОСТ 25228–82)

Цель занятия: изучить метод определения термоустойчивости молока по алкогольной пробе (ГОСТ 25228–82). Получить практические навыки по применению анализаторов молока различных модификаций.

Метод основан на воздействии этилового спирта на белки, которые полностью или частично денатурируются при смешивании равных объемов молока со спиртом.

Аппаратура, материалы и реактивы: баня водяная; термометр стеклянный ртутный; пипетки; чашки Петри; стаканы; цилиндры мерные; ареометры для спирта; спирт этиловый ректификованный или спирт этиловый синтетический технический; вода дистиллированная.

Приготовление водного раствора этилового спирта. Термоустойчивость молока по алкогольной пробе определяют при помощи водного раствора этилового спирта с объемной долей этилового спирта 68, 70, 72, 75 и 80%.

Водный раствор этилового спирта готовят в соответствии с требованиями таблицы 24.

Объемы этилового спирта и воды при температуре 20°С для получения 1 дм³ водно-спиртового раствора (с учетом сжатия раствора в процессе приготовления).

Таблица 24 – Объемы этилового спирта и воды для получения водно-спиртового раствора

Объемная доля этило- вого спирта в получен- ном раство- ре, %	Объемы этилового спирта и воды при различной объемной доле спирта в исходном растворе, см ³									
	98		97		96		95		94	
	спирт	вода	спирт	вода	спирт	вода	спирт	вода	спирт	вода
68	694	336	701	328	708	319	716	310	723	302
69	704	326	711	317	719	308	726	299	734	290
70	714	315	722	306	729	297	737	288	745	279
71	724	304	732	295	740	287	747	277	755	268
72	735	294	742	285	750	275	758	266	766	257
73	745	283	753	274	760	265	768	255	777	245
74	755	273	763	263	771	253	779	244	787	234
75	765	261	773	252	781	242	789	233	798	223
76	776	251	784	241	792	231	800	221	809	212
77	786	240	794	230	802	220	811	210	819	200
78	796	230	804	219	812	209	821	199	830	189
79	806	218	814	208	823	198	832	187	840	177
80	816	207	825	197	833	187	842	176	851	166
81	827	196	835	186	844	176	853	165	862	154
82	837	186	845	175	854	164	863	154	872	143

После приготовления водного раствора спирта необходимо проверить его плотность или объемную долю спирта ареометрами. Плотность используемых для алкогольной пробы водноспиртовых растворов, кг/м³, при (20,0±0,1)°С должна быть равна:

890,4 для 68%-ной объемной доли спирта;
885,5 для 70%-ной объемной доли спирта;
880,5 для 72%-ной объемной доли спирта;
872,8 для 75%-ной объемной доли спирта;
859,3 для 80%-ной объемной доли спирта.

Результаты измерения плотности или объемной доли водноспиртового раствора не должны отличаться от заданной величины более, чем на половину деления шкалы ареометра или 0,25%-ной объемной доли спирта.

Проведение анализа. В чистую сухую чашку Петри наливают 2 см³ исследуемого молока, приливают 2 см³ этилового спирта требуемой объемной доли, круговыми движениями смесь тщательно перемешивают. Спустя 2 минуты наблюдают за изменением консистенции анализируемого молока.

Обработка результатов. Если на дне чашки Петри при стекании анализируемой смеси молока со спиртом не появились хлопья, считается, что она выдержала алкогольную пробу.

В зависимости от того, какой раствор этилового спирта не вызвал осаждения хлопьев в исследуемом молоке, их подразделяют на группы, указанные в таблице 25.

Таблица 25 – Разделение молока на группы в зависимости от осаждения хлопьев казеина этиловым спиртом

Группа	Объемные доли этилового спирта, %
I	80
II	75
III	72
IV	70
V	68

14. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОКА НА АНАЛИЗАТОРАХ

14.1. Анализатор молока «Ekomilk-Bond» (Ekomilk тип Milkana KAM98–2A)

Работа анализатора основана на принципе изменения параметров ультразвуковых колебаний при прохождении их через пробу молока при двух заданных температурах и последующей обработки измерения по уравнению зависимости изменения скорости и затухания ультразвуковых колебаний от показателей качества (массовой доли жира, белка СОМСО и т.д.)

Анализатор применяется для измерения массовой доли жира, сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО), белка, добавленной воды; плотности (приведенной к 20°C), температуры точки замерзания, кислотности в рН и градусах Тернера, удельной электропроводности в цельном, консервированном, пастеризованном, стерилизованном, концентрированном (сгущенном без сахара) молоке; пробах, изготовленных из сухого молока и сливок. Кроме того, позволяет определить температуру исследуемой пробы.

Аппаратура, материалы и реактивы: анализатор молока; вода дистиллированная; термометр; водяная баня; дистиллированная вода; средство щелочное моющее Eco Day (Лойран М1).

Приготовление 2% раствора Eco Day (Лойран М1): пипеткой добавить 12 мл раствора Eco Day (Лойран М1) в стеклянную тару к 490 мл дистиллированной воды.

Для исследования необходимо 20–25 см³ молока температурой 10–30°C и титруемой кислотностью не более 25°Т. При отстое сливок молоко нагревают на водяной бане до 40–45°C, тщательно перемешивают и охлаждают до 29–30°C. Не допускается использование молока, которое уже было исследовано.

Проведение анализа. 1. Подключить шнур питания к сети переменного тока и включить выключатель сети.

2. Выдержать прибор в течение 10 минут во включенном состоянии для первоочередного подогрева. При смене на индикаторе сообщения «WARM UP» на «EKOMILK» можно приступить к работе.

3. Нажать кнопку «MODE» и выбрать нужный режим работы. Для сырого коровьего молока – «COW MILK 1».

4. Выберите режим «MOTOR CHOICE» (основной режим использования), нажмите кнопку «ОК». При помощи кнопок ▲ или ▼ выберите надпись «ON», нажмите кнопку «ОК». На индикаторе появится надпись «MOTOR TURNED ON».

5. Наполните чистый стаканчик для пробы молоком и разместите его на подставке для стаканчика таким образом, чтобы входной патрубок опустился в пробу молока. *Для определения кислотности pH и проводимости:* аккуратно снять защитный колпачок с pH-электрода. Ополоснуть температурный датчик и электрод дистиллированной водой. Заполнить второй стаканчик тем же самым молоком, что и на основной подставке для пробы на приборе, и подставить под pH электрод.

6. Нажмите один раз кнопку «MODE», на индикаторе появится надпись «COW MILK». Нажмите кнопку «ОК», на индикаторе появится надпись «WORKING» и появятся вертикальные полосы, которые сообщают о том, что идет измерение.

7. Измерение завершено, когда на индикаторе появятся результаты измерения: м.д. жира, м.д. СОМО, плотность (°А), м.д. добавленной воды, число замерзания молока (для определения температуры точки замерзания молока следует число замерзания умножить на (–0,01)), м.д. белка, и молоко сольется в стаканчик. Чтобы видеть второй дисплей с результатами, нажмите кнопку ▼. Для распечатки полученных измерений нажмите кнопку ▲ сразу после появления результатов измерений на дисплее.

8. После окончания работы или при перерывах в работе более 15 минут промыть прибор. При перерывах в работе промывку осуществляют путем проведения «холостого» измерения, заменив молоко дистиллированной водой температурой 40–60°C.

Мойка в конце рабочего дня:

- налить в стаканчик для проб воду температурой 40–60°C и поместить его на подставку для стаканчика;

- нажать кнопку «MODE». Кнопками ▲ или ▼ выбрать опцию «CLEANING». Подтвердить кнопкой «ОК». На дисплее появится сообщение «CYCLES 01» – номер цикла очистки. Выбираем кнопками ▲ или ▼ от 2 до 99 циклов. Когда появится надпись «CLEANING END», промывка водой закончена.

- заполните стаканчик 2% раствором щелочного средства Eco Day (Лойран М1) температурой 25–40°C, установите прибор в режим мойки. Установите количество циклов 20 и нажмите кнопку «ОК».

- заполните стаканчик чистой водой комнатной температуры, установите прибор в режиме «CLEANING». Установите количество циклов 5, нажмите кнопку «ОК». Удалите стаканчик и вылейте воду. Заполните стаканчик чистой водой и повторите эту процедуру 3–4 раза. Промывка завершена.

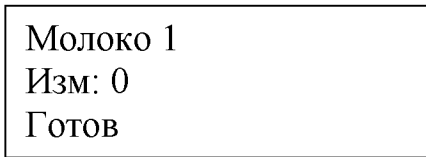
14.2. Анализатор качества молока «Лактан 1–4 М» исполнение 600 УЛЬТРА/240b

Принцип действия анализатора основан на измерении скорости и степени затухания ультразвуковых колебаний при прохождении их в молоке при двух различных температурах.

Анализатор качества молока «Лактан 1–4 М» предназначен для измерения массовых долей жира, белка, СОМО, лактозы, плотности, добавленной воды и температуры в цельном свежем, консервированном, пастеризованном, нормализованном, восстановленном, обезжиренном молоке и молоке длительного хранения.

Для исследования необходимо 25 см³ молока температурой 10–25°C и титруемой кислотностью не более 20°Т. При отстое сливок, молоко нагревают на водяной бане до 40±2°C, тщательно перемешивают путем переливания из сосуда в сосуд не менее трех раз и охлаждают до 20–25°C.

Проведение анализа. 1. Подключите сетевой адаптер к напряжению сети и установите выключатель «Сеть» в положение «Вкл». На дисплее анализатора последовательно появятся наименование анализатора, тип исполнения, серийный номер и основной рабочий экран, надпись на котором соответствует рисунку 9. Прогрейте анализатор в течение 1 минуты.



Молоко 1
Изм: 0
Готов

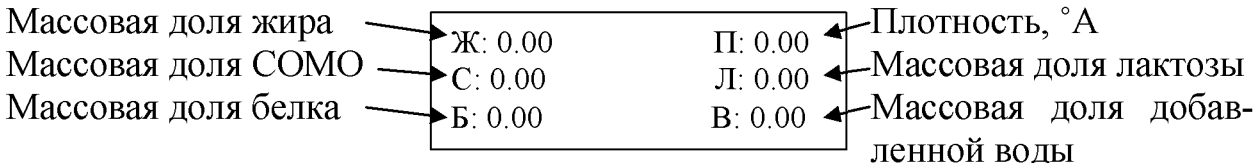
Рисунок 9 – Основной рабочий экран

Перед проведением измерений следует сделать одно измерение для установки анализатора в рабочий режим (первое «установочное» измерение необходимо проводить после каждого включения или перезагрузки анализатора, при измерении можно использовать воду).

2. Налить пробу в стаканчик, повернуть пробозаборник на себя, подставить стаканчик под пробозаборник, опустить пробозаборник.

3. Нажать «ENTER» для старта измерения. Во время измерения на дисплей выводится текущая градуировка, номер текущего измерения и процесс измерения (шкала).

4. После окончания определения проба сливается из измерительного тракта, результаты отображаются на индикаторе (рисунок 10).



Массовая доля жира → Ж: 0.00 П: 0.00 ← Плотность, °А
Массовая доля СОМО → С: 0.00 Л: 0.00 ← Массовая доля лактозы
Массовая доля белка → Б: 0.00 В: 0.00 ← Массовая доля добавленной воды

Рисунок 10 – Отображение результатов измерения на дисплее прибора

5. Для старта нового измерения нажмите кнопку «ENTER».

6. После окончания работы или при перерывах в работе более 1 часа промойте прибор.

При перерывах в работе анализатора более одного часа проводится автоматическая промывка прибора:

- налить в стаканчик промывочный раствор №1, подогретый до температуры 50–60°C, и установить его под пробозаборник, нажать кнопку ►;
- после того, как анализатор сольет промывочный раствор, повторить процедуру с водой, меняя воду до тех пор, пока она не станет прозрачной;
- поставить пустой стаканчик под пробозаборник и нажать кнопку ► в режиме промывки, для удаления из анализатора остатков воды.

После окончания работы проводится полная промывка прибора:

- опустить пробозаборник анализатора в стаканчик с промывочной жидкостью;
- нажать кнопку ►, начнется промывка анализатора;
- сменить промывочный раствор и повторить промывку **три** раза;
- заменить промывочный раствор на чистую воду и продолжить промывку прибора и смену воды до тех пор, пока она не станет прозрачной.

Задание 1. Проведите определение физико-химических показателей в двух пробах молока с использованием приборов «Лактан 1–4 М» и «Ekomilk–Bond», полученные результаты запишите в таблицу 26, сделайте соответствующие выводы.

Таблица 26 – Результаты исследования молока с использованием анализаторов

Параметры	«Лактан 1–4 М»		«Ekomilk–Bond»	
	Проба №1	Проба №2	Проба №1	Проба №2
Массовая доля жира, %				
Массовая доля СОМО, %				
Массовая доля белка, %				
Плотность, °А				
Массовая доля лактозы, %				
Массовая доля добавленной воды, %				
Температура точки заморозания, °С	—	—		
Кислотность, °Т	—	—		

Контрольные вопросы: 1. Спиртовые растворы какой концентрации применяют для определения термоустойчивости молока? 2. Как определить термоустойчивость молока по алкогольной пробе? 3. На чем основан принцип работы анализаторов молока «Лактан 1–4 М» и «Ekomilk–Bond»? 4. Как подготовить к работе и проводить анализ качества молока прибором «Лактан 1–4 М»? 5. Как промывают прибор «Ekomilk–Bond» по окончании работы?

ЗАНЯТИЕ 15. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФАЛЬСИФИКАЦИИ МОЛОКА

Цель занятия: приобрести практические навыки по выявлению фальсифицированного молока и установлению характера фальсификации.

Методические указания: питательная ценность молока зависит от его состава, степени усвояемости и количественного соотношения составных частей. Преднамеренное изменение натуральных свойств молока путем добавления в молоко несвойственных ему веществ или изъятие составных частей (например, жира) считается фальсификацией. Для установления характера и степени фальсификации важно знать физико-химические показатели натурального молока (таблица 27).

Таблица 27 – Изменение физико-химических показателей молока при фальсификации

Вид фальсификации	Показатели			
	плотность, кг/м ³	жир, %	сухое вещество, %	СОМО, %
Средние показатели молока и колебания значений в натуральном молоке	1030 (1027-1032)	3,7 (2,8-4,5)	12,7 (11,0-13,5)	8,7 (8,2-8,9)
Добавление воды	понижается (3 °А на каждые добавленные 10% воды)	понижается	понижается	сильно понижается
Прибавление обезжиренного молока или подсытание сливок	увеличивается	понижается	незначительно понижается	не изменяется
Двойная фальсификация обезжиренным молоком и водой	может не изменяться	сильно понижается	сильно понижается	понижается

Определение добавления в молоко воды. При добавлении в молоко воды понижается содержание всех основных компонентов и показателей молока. Степень фальсификации рассчитывают по формуле:

$$B = \frac{(СОМО - СОМО_1)}{СОМО} \times 100,$$

где В – массовая доля добавленной воды, %;

СОМО – массовая доля сухого обезжиренного молочного остатка стойловой (контрольной) пробы, %;

СОМО₁ – массовая доля сухого обезжиренного молочного остатка исследуемого молока, %.

Косвенно о степени фальсификации молока водой можно судить по плотности, зная, что на каждые 10% добавленной воды плотность молока понижается на 2,5–3°А, при этом используют следующую формулу:

$$B = \frac{(P - P_1)}{P} \times 100,$$

где В – массовая доля добавленной воды, %;

Р – плотность стойловой пробы, °А;

Р₁ – плотность исследуемой пробы, °А.

Определение прибавления обезжиренного молока или подсыпания сливок. При данной фальсификации плотность повышается, массовая доля сухого вещества снижается, а массовая доля СОМО не изменяется или слегка увеличивается. Степень обезжиривания молока находят по формуле:

$$O = \frac{(Ж - Ж_1)}{Ж} \times 100,$$

где О – степень обезжиривания молока, %;

Ж – массовая доля жира в стойловой пробе, %;

Ж₁ – массовая доля жира в исследуемой пробе, %.

Установление двойной фальсификации. При добавлении воды и обезжиренного молока снижается массовая доля сухого вещества, СОМО, жира, а плотность не изменяется или незначительно отклоняется в зависимости от соотношения добавленных компонентов. В этом случае фальсификацию определяют по массовой доле сухих обезжиренных веществ (менее 8,2%), а массовую долю добавленной воды и обезжиренного молока находят по формулам:

$$Д = 100 - \frac{Ж_1}{Ж} \times 100,$$

где Д – массовая доля добавленной воды и обезжиренного молока, %;

Ж₁ – массовая доля жира в исследуемой пробе, %;

Ж – массовая доля жира в стойловой пробе, %.

$$B = 100 - \frac{СОМО_1}{СОМО} \times 100,$$

где В – массовая доля добавленной воды, %;

СОМО₁ – массовая доля сухого обезжиренного молочного остатка в исследуемом молоке, %;

СОМО – массовая доля сухого обезжиренного молочного остатка в стойловой пробе, %.

Массовую долю обезжиренного молока определяют по формуле:

$$O = D - B,$$

где О – массовая доля добавленного обезжиренного молока;

Д – массовая доля добавленной воды и обезжиренного молока, %;

В – массовая доля добавленной воды.

Задание 1. Определить характер фальсификации в пробах молока, имеющих следующие показатели: плотность – $1025,0 \text{ кг/м}^3$, массовая доля жира – 3,34%. В стойловой (контрольной) пробе: плотность – $1029,0 \text{ кг/м}^3$, массовая доля жира – 3,67%.

Задание 2. Определить характер фальсификации в пробах молока, имеющих следующие показатели: плотность – $1036,0 \text{ кг/м}^3$, массовая доля жира – 3,2%. В стойловой пробе: плотность – $1028,6 \text{ кг/м}^3$, массовая доля жира – 3,82%.

Задание 3. Определить характер фальсификации в пробах молока, имеющих следующие показатели: плотность – $1026,3 \text{ кг/м}^3$, массовая доля жира – 3,57%. В стойловой пробе: плотность – $1029,5 \text{ кг/м}^3$, массовая доля жира – 4,03%.

Задание 4. Определите характер фальсификации в пробах молока, имеющих следующие показатели: плотность – $1026,6 \text{ кг/м}^3$, массовая доля жира – 3,55%. В стойловой пробе: плотность – $1028,8 \text{ кг/м}^3$, массовая доля жира – 3,87%.

Задание 5. Определить характер фальсификации в пробах молока, имеющих следующие показатели: плотность – $1027,3 \text{ кг/м}^3$, массовая доля жира – 3,50%. В стойловой пробе: плотность – $1027,8 \text{ кг/м}^3$, массовая доля жира – 3,83%.

Контрольные вопросы: 1. Как изменяются показатели молока (плотность, массовая доля жира, сухого вещества и СОМО) при добавлении воды, обезжиренного молока или при двойной фальсификации? 2. Как определить степень фальсификации молока водой? 3. Как определить степень фальсификации цельного коровьего молока обезжиренным молоком? 4. Как установить степень двойной фальсификации?

ЛИТЕРАТУРА

1. Карпеня, М. М. Технология производства молока и молочных продуктов : учебное пособие для студентов учреждений высшего образования по специальностям «Ветеринарная санитария и экспертиза», «Технология хранения и переработки животного сырья» / М. М. Карпеня, В. И. Шляхтунов, В. Н. Подрез. – Минск : Новое знание ; Москва : ИНФРА-М, 2014. – 409 с.
2. Карпеня, М. М. Технология производства молока и молочных продуктов : учебное пособие для студентов учреждений высшего образования по специальностям «Ветеринарная санитария и экспертиза», «Технология хранения и переработки животного сырья» / М. М. Карпеня, В. И. Шляхтунов, В. Н. Подрез. – Минск : Новое знание ; Москва : ИНФРА-М, 2015. – 409 с.
3. Карпеня, М. М. Молочное дело : учебное пособие для студентов вузов по специальности «Зоотехния» / М. М. Карпеня, В. И. Шляхтунов, В. Н. Подрез. – Минск : ИВЦ Минфина, 2011. – 253 с.
4. Технология молока и молочных продуктов : учебник для студентов вузов, обучающихся по специальности «Технология молока и молочных продуктов» направления подготовки дипломированных специалистов «Технология сырья и продуктов животного происхождения» / Г. Н. Крусь [и др.] ; ред. А. М. Шалыгина. – Москва : КолосС, 2008. – 455 с.
5. Шингарева, Т. И. Санитария и гигиена молока и молочных продуктов : учебное пособие для студентов вузов / Т. И. Шингарева. – Минск : ИВЦ Минфина, 2007. – 330 с.
6. Экспертиза молока и молочных продуктов. Качество и безопасность. Ч. 1 / Н. И. Дунченко [и др.] ; под общ. ред. В. М. Позняковского. – Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2007. – 477 с.
7. Экспертиза молока и молочных продуктов. Качество и безопасность. Ч. 2 / Н. И. Дунченко [и др.] ; под общ. ред. В. М. Позняковского. – Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2007. – 477 с.

ТНПА

1. Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Ч. 1. Молоко, молочные, молочные составные и молоко содержащие продукты : ГОСТ 26809.1–2014. – Введ. 01.01.2016. – Москва : Стандартинформ, 2015. – 10 с.
2. Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Ч. 2. Масло из коровьего молока, спреды, сыры и сырые продукты, плавленые сыры и плавленые сырные продукты : ГОСТ 26809.2–2014. – Введ. 01.01.2016. – Москва : Стандартинформ, 2015. – 14 с.
3. Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу : ГОСТ 26809–86. – Введ. 01.01.1987. – Москва : Издательство стандартов, 1986. – 9 с.
4. Молоко коровье. Метод органолептической оценки запаха и вкуса : ГОСТ 28283–15. – Введ. 07.01.2017. – Минск : Госстандарт, 2016. – 8 с.

5. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности : ГОСТ 3624–92. – Введ. 01.01.1994. – Москва : Стандартинформ, 2009. – 7 с.
6. Молоко и молочные продукты. Методы определения жира : ГОСТ 5867–90. – Введ. 01.09.1991. – Москва : Издательство стандартов, 1990. – 12 с.
7. Молоко и молочная продукция. Методы определения содержания спор мезофильных анаэробных микроорганизмов : ГОСТ 32012–2012. – Введ. 01.07.2014. – Москва : Стандартинформ, 2013. – 14 с.
8. Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа : ГОСТ 32901–2014. – Введ. 01.09.2016. – Москва : Стандартинформ, 2015. – 28 с.
8. О безопасности молока и молочной продукции : ТРТС 033/2013. – Введ. 01.05.2014. – Минск : Госстандарт, 2015. – 92 с.
9. О безопасности пищевой продукции : ТРТС 021–2011. – Введ. 09.12.2011. – Минск : Госстандарт, 2015. – 150 с.

Учебное издание

**Карпеня Михаил Михайлович,
Подрез Виталий Николаевич,
Шамич Юлия Владимировна и др.**

**ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА МОЛОКА
И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ.
ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ МОЛОКА**

Учебно-методическое пособие

Часть 1

Ответственный за выпуск В. Н. Подрез
Технический редактор О. В. Луговая
Компьютерный набор М. М. Карпеня, Т. А. Шаура
Компьютерная верстка и корректор Е. В. Морозова

Подписано в печать 30.11.2020. Формат 60×84 1/16.
Бумага офсетная. Ризография.
Усл. печ. л. 4,75. Уч.-изд. л. 4,03. Тираж 100 экз. Заказ 2097.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной медицины».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/ 362 от 13.06.2014.
ЛП №: 02330/470 от 01.10.2014 г.
Ул. 1-я Доватора, 7/11, 210026, г. Витебск.
Тел.: (0212) 51-75-71.
E-mail: rio_vsavm@tut.by
<http://www.vsavm.by>

