ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 72617— 2026

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение содержания пищевой добавки низин Е234 методом биологического анализа

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2026

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Обществом с ограниченной ответственностью «Бавар+» (ООО «Бавар+»), Ассоциацией «Технологическая Платформа БиоТех2030» (Ассоциация «ТП БиоТех2030»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 326 «Биотехнологии»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 апреля 2026 г. № 354-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2026

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Сущность метода 2
5 Требования безопасности 3
6 Условия проведения испытаний 3
7 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы 3
8 Подготовка к испытанию 5
9 Проведение испытаний 9
10 Обработка результатов 9
11 Метрологические характеристики и контроль точности 11
12 Оформление результатов 12
13 Контроль качества результатов измерений 12
Приложение А (рекомендуемое) Рекомендуемый депозитарий для тест-штамма, используемого для выполнения испытаний 13
Приложение Б (рекомендуемое) Форма таблицы регистрации результатов 14
Приложение В (рекомендуемое) Специфичность метода биологического анализа 16
Библиография 17

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение содержания пищевой добавки низин Е234 методом биологического анализа

Food products. Determination of food additive nisin E234 content by biological analysis

Дата введения — 2026—09—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения массовой доли пищевой добавки низин (Е234) с использованием биологического анализа диффузии в агар в отдельных видах пищевой продукции (мг/кг): зрелых сырах (кроме сыров с плесенью и сыров в рассоле); плавленых, творожных и сливочных сырах (тип «маскарпоне»); пудингах из манной крупы или тапиоки и подобных продуктах.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.004 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.005 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.2.007.0 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.4.009 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2493 Реактивы. Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный. Технические условия

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4198 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 17206 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 17299 Спирт этиловый технический. Технические условия

ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26669 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов

ГОСТ 27025 Реактивы. Общие указания по проведению испытаний

Издание официальное

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 31904 Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических испытаний

ГОСТ ISO 7218 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ ISO 11133 Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред

ГОСТ OIML R 76-1 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р 55878 Спирт этиловый технический гидролизный ректификованный. Технические условия

ГОСТ Р 58144 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ Р 70152 Качество воды. Методы внутреннего лабораторного контроля качества проведения микробиологических и паразитологических исследований

ГОСТ Р 70295 Глюкоза кристаллическая. Технические условия

ГОСТ Р ИСО 5725-6 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по [1], [2], [3], а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **низин:** Смесь природных близкородственных антимикробных полипептидов, вырабатываемых штаммами *Lactococcus lactis* subsp. *lactis.*

Примечание — Основным вариантом низина, синтезируемым *Lactococcus lactis* subsp. *lactis,* является низин А.

3.2 **пищевая добавка низин (Е234):** Стандартизированная форма низина, вырабатываемая в виде сухого концентрата, содержащего: чистое вещество низин, не менее 22,5 мкг/мг (биологическая активность не менее 900 МЕ/мг); наполнитель хлористый натрий, не менее 50 %, а также остаточные продукты ферментации: белки и углеводы.

Примечание — Биологическая активность низина измеряется в международных единицах (МЕ), одна МЕ низина эквивалентна 0,025 мкг чистого вещества низина, удельная биологическая активность которого составляет 40 000 МЕ/мг.

3.3 **содержание пищевой добавки низин (Е234) в пищевой продукции:** Количество (мг) пищевой добавки низин (Е234), которое использовано при производстве 1 кг пищевой продукции (мг/кг).

Примечание — Количественные уровни содержания пищевой добавки низин (Е234) в пищевой продукции (мг/кг) должны соответствовать установленным гигиеническим нормативам применения [1].

4 Сущность метода

Проводится кислотная экстракция низина из образцов пищевой продукции. Содержание низина в экстрактах определяется методом диффузии в агар из лунок с тест-культурой *Heyndrickxia coagulans,*

штамм ВКПМ В-15356, путем сравнения зон задержки роста тест-культуры в результате ингибирующего действия низина, содержащегося в экстрактах и растворах стандартного образца, в линейном диапазоне логарифмической зависимости размеров зон угнетения роста тест-штамма от концентрации чистого вещества низина в калибровочном диапазоне 0,625—10 МЕ/см^3 в единицах биологической активности.

Величину массовой доли пищевой добавки низин (Е234) в испытуемом образце пищевого продукта (мг/кг) определяют путем пересчета значений, полученных в единицах биологической активности (МЕ), в единицы массы (мг) с учетом удельной биологической активности низина.

5 Требования безопасности

5.1 Требования безопасности при работе в микробиологической лаборатории и соблюдение надлежащей лабораторной практики для микробиологических лабораторий при исследовании пищевых продуктов — по ГОСТ ISO 7218.

5.2 Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021, работа с химическими реактивами должна проводиться в вытяжном шкафу. При выполнении испытаний следует соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007; содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных требованиями ГОСТ 12.1.005.

5.3 Требования электробезопасности при работе с электроприборами — по ГОСТ 12.1.019 и ГОСТ 12.2.007.0, а также требования, изложенные в технической документации на используемые приборы.

5.4 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения ГОСТ 12.4.009.

5.5 К проведению анализа допускаются лица, имеющие специальное образование по профилю выполняемых работ, прошедшие инструктаж по соблюдению требований биологической безопасности, освоившие выполнение предусмотренных методикой операций и прошедшие обучение приемам работы с оборудованием.

6 Условия проведения испытаний

При подготовке и проведении испытаний должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды (20 ± 5) °С;
- относительная влажность воздуха не более 80 %.

Частоту переменного тока и напряжение в сети поддерживают в соответствии с инструкцией по эксплуатации средств измерений и вспомогательного оборудования.

7 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

При проведении испытаний используются следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы:

- дозатор механический одноканальный с переменным объемом от 0,02 до 0,2 см^3 с допустимой относительной погрешностью дозирования не более ±(2,0—1,5) %, с одноразовыми наконечниками;
- дозатор механический одноканальный с переменным объемом от 0,1 до 1 см^3 с допустимой относительной погрешностью дозирования не более ±(2,0—1,5) %, с одноразовыми наконечниками;
- дозатор механический одноканальный с переменным объемом от 1 до 5 см^3 с допустимой относительной погрешностью дозирования не более ±1,0 %, с одноразовыми наконечниками;
- весы специального (I) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с поверочным интервалом не более 1 мг и действительной ценой деления d не более 0,1 мг;
- весы неавтоматического действия высокого (II) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой погрешности взвешивания не более ±0,01 г;
- колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 50, 100, 250, 1000 см^3 по ГОСТ 1770;
- pH-метр или анализатор потенциометрический, погрешность измерений не более pH ±0,1;
- стандартный образец мутности бактериальных взвесей, соответствующий 10 МЕ;
- термометр с диапазоном измерения от 0 °С до 75 °С и точностью ±1 °С;

- цилиндры мерные 100, 250 $см^3$ по ГОСТ 1770 или импортные;
- электронный штангенциркуль, обеспечивающий точность измерения до 0,1 мм;
- баня водяная, позволяющая поддерживать температуру (40…65) °С с точностью ±1 °С;
- бокс биологической защиты класса II;
- вортекс лабораторный для пробирок;
- ванна ультразвуковая;
- гомогенизатор лабораторный для получения однородных смесей и эмульсий (или фарфоровые ступки с пестиками);
- мешалка магнитная;
- облучатель бактерицидный;
- плита электрическая (кроме инфракрасных и индукционных);
- стерилизатор паровой, обеспечивающий режим стерилизации при температуре (121 ± 1) °С;
- термостат, позволяющий поддерживать рабочую температуру в диапазоне 40 °С — 55 °С с точностью ±1 °С;
- центрифуга настольная с устанавливаемым относительным центробежным ускорением (ОЦУ/RFS) не менее 2700 g;
- холодильник, позволяющий поддерживать рабочую температуру 2 °С — 8 °С.
- шкаф (стол) лабораторный;
- шкаф сушильный стерилизационный, позволяющий поддерживать температуру (160 ± 5) °С;
- зонд-тампоны ватные стерильные;
- колбы конические термостойкие вместимостью 250, 500 $см^3$;
- палочки стеклянные;
- пробирки полипропиленовые центрифужные с завинчивающимися крышками вместимостью 15 $см^3$;
- пробирки полипропиленовые центрифужные с завинчивающимися крышками вместимостью 50 $см^3$;
- пробирки стеклянные типов П1-16-150, П2-16-150 и центрифужные П-1-10 по ГОСТ 25336;
- петля бактериологическая или одноразовые стерильные;
- пипетки серологические градуированные вместимостью 1, 2, 5, 10 $см^3$ стеклянные по ГОСТ 29227 или импортные;
- пипетки серологические градуированные из полимерного материала, вместимостью 1, 2, 5, 10 $см^3$, стерильные;
- пинцет;
- пробойник (просечка) для формирования лунок в агаре диаметром 7 мм (например, типа ПЛ-7);
- спиртовки лабораторные;
- стаканы стеклянные вместимостью 100, 250, 500 $см^3$;
- столик специальный с горизонтальным уровнем;
- флаконы стеклянные термоустойчивые с винтовыми пластиковыми крышками вместимостью 100 $см^3$;
- чашки биологические (Петри) стеклянные или одноразовые из полимерных материалов, диаметром 90—100 мм;
- чашки биологические (Петри) (кюветы) стеклянные или одноразовые из полимерных материалов, круглые диаметром не менее 150 мм или квадратные размером 245 × 245 мм;
- агар микробиологический по ГОСТ 17206 или импортный;
- вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144;
- глюкоза кристаллическая по ГОСТ Р 70295 или импортная;
- дрожжевой экстракт, сухой;
- калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный, х.ч., по ГОСТ 2493 или импортный;
- калий фосфорнокислый однозамещенный, х.ч., по ГОСТ 4198 или импортный;
- кислота соляная, концентрированная, х.ч., по ГОСТ 3118 или импортная;
- натрия гидроокись (гидроксид натрия), х.ч., по ГОСТ 4328 или импортная;
- натрий хлористый, х.ч., по ГОСТ 4233 или импортный;
- пептон соевый, сухой;
- спирт этиловый, 96 %-ный по ГОСТ 17299 или ГОСТ Р 55878;
- стандарт-титр кислота соляная 0,1 моль/$дм^3$ (0,1 н.);
- твин-80;

- триптон, сухой;
- триптон-соевый агар с дрожжевым экстрактом (ТСАДЭ), сухой;
- триптон-соевый бульон с дрожжевым экстрактом (ТСБДЭ), сухой;
- ферментативный гидролизат казеина, сухой;
- стандартный образец (СО), вторичный стандартный образец (ВСО) или стандартный образец предприятия (СОП) (стандартизированный концентрат) низина, с содержанием чистого вещества низина не менее 25 мкг/мг (соответствует биологической активности не менее 1000 МЕ/мг), что подтверждено сертификатом анализа на данную партию;
- тест-культура *H. coagulans* штамм ВКПМ В-15356.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования и посуды, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов, по качеству не ниже указанных, за исключением тест-культуры, рекомендуемый депозитарий для которой представлен в приложении А.

Питательные среды и реагенты должны соответствовать нормативным документам или документам производителя. Приготовление и контроль качества питательных сред осуществляют в соответствии с ГОСТ ISO 11133.

8 Подготовка к испытанию

8.1 Отбор и подготовку проб пищевой продукции проводят в соответствии с ГОСТ 31904, ГОСТ 26669, ГОСТ ISO 7218.

В лабораторию следует поставлять представительную пробу. Она не должна быть подвержена порче или изменению во время транспортирования или хранения.

Для исследования отбирают образцы, в составе которых отсутствует лизоцим, в отношении которого тест-культура H. coagulans штамм ВКПМ В-15356 проявляет чувствительность (приложение В).

Примечание — Лизоцим сохраняет биологическую активность в экстрактах после термической обработки в кислых и щелочных условиях (см. 8.9.1 и 8.9.2).

8.2 Подготовку лабораторной посуды осуществляют по ГОСТ ISO 7218

Подготавливают стерильные стеклянные пробирки, стерильные стеклянные чашки Петри, стерильные стеклянные пипетки.

Для выполнения разведений растворов низина подготавливают стеклянные центрифужные пробирки вместимостью 10 $см^3$, для этого чистые пробирки обрабатывают кипячением в дистиллированной воде в течение не менее 10 мин, после высушивают.

8.3 Приготовление 1 н раствора соляной кислоты

Готовят из стандарт-титра 0,1 н соляной кислоты (HCl) путем разбавления стандарт-титра (фиксанала) в дистиллированной воде до конечного объема 100 $см^3$. В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 40—50 $см^3$ дистиллированной воды, после количественно переносят содержимое ампулы стандарт-титра, перемешивают, доводят дистиллированной водой до конечного объема 100 $см^3$ и тщательно перемешивают.

Готовый раствор хранят в плотно закрытой стеклянной колбе или склянке. При приготовлении раствора следует соблюдать требования ГОСТ 27025.

8.4 Приготовление 0,1 н раствора соляной кислоты

Готовят из стандарт-титра 0,1 н соляной кислоты (HCl) путем разбавления стандарт-титра (фиксанала) в дистиллированной воде до конечного объема 1000 $см^3$. Для этого в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ вносят 400—500 $см^3$ дистиллированной воды, после количественно переносят содержимое ампулы стандарт-титра, перемешивают, доводят дистиллированной водой до конечного объема 1000 $см^3$ и тщательно перемешивают.

Готовый раствор хранят в плотно закрытой стеклянной колбе или склянке. При приготовлении раствора следует соблюдать требования ГОСТ 27025.

8.5 Приготовление 0,02 н раствора соляной кислоты

Готовят из 0,1 н раствора HCl (см. 8.4) путем разбавления в пять раз в дистиллированной воде, раствор готовят в необходимом количестве.

Готовый раствор хранят в плотно закрытой стеклянной колбе или склянке. При приготовлении раствора следует соблюдать требования ГОСТ 27025.

8.6 Приготовление изотонического раствора хлористого натрия

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают (8,5 ± 1) г хлористого натрия. Добавляют дистиллированную воду и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор разливают по 100 $см^3$ в колбы или флаконы соответствующей вместимости, укупоривают и автоклавируют при (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин.

Готовый стерильный изотонический раствор допускается хранить до 3 мес при температуре 2 °С — 8 °С.

8.7 Приготовление калий-фосфатного буфера

Навески калия фосфорнокислого двузамещенного 3-водного 0,12 г и калия фосфорнокислого однозамещенного 6,664 г растворяют в 1000 $см^3$ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 $см^3$, контролируют pH, значение pH = 5,1—5,2.

Раствор используют для приготовления агаризованной питательной среды для анализа низина (см. 8.11.2).

При необходимости калий-фосфатный буфер автоклавируют при температуре (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин и хранят в защищенном от света месте до 3 мес при температуре 2 °С — 8 °С.

8.8 Приготовление 5 н раствора гидроокиси натрия

Навеску 20 ± 0,1 г сухой гидроокиси натрия растворяют при перемешивании в объеме 50—70 $см^3$ дистиллированной воды в стеклянном термостойком стакане до полного растворения и охлаждают до комнатной температуры. После раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят дистиллированной водой до метки, тщательно перемешивают.

Готовый раствор хранят в плотно закрытой стеклянной колбе или склянке. При приготовлении растворов следует соблюдать требования ГОСТ 27025.

8.9 Подготовка экстрактов сыров зрелых, плавленых, мягких и сливочных, пудингов из манной крупы или тапиоки

С поверхности образца сыра при необходимости удаляют покрытие. Образец при необходимости предварительно измельчают в необходимом количестве

8.9.1 Приготовление экстрактов А

Навеску образца (20 ± 0,1) г вносят в емкость для гомогенизации, добавляют 60 $см^3$ 0,1 н раствора соляной кислоты (см. 8.4), нагревают в водяной бане до температуры (40 ± 1) °С, после гомогенизируют в гомогенизаторе или вручную в фарфоровой ступке.

Гомогенизированную пробу (суспензию) охлаждают до комнатной температуры. В суспензии измеряют pH, при необходимости доводят до pH 2,0 ± 0,1 раствором 1 н соляной кислоты (см. 8.3). Полученную суспензию переносят в мерный цилиндр и доводят объем до 100 $см^3$ раствором 0,02 н соляной кислоты (см. 8.5), переливают в стеклянный стакан и тщательно перемешивают. Таким образом получают суспензию с концентрацией 0,2 $г/см^3$.

Подготовленную суспензию в количестве 10 $см^3$ переносят в две пластиковые центрифужные пробирки вместимостью 15 $см^3$, которые устанавливают в ультразвуковой ванне (УЗ-ванна) таким образом, чтобы уровень воды был на 5—10 мм выше уровня суспензии в пробирках. УЗ-обработку проводят в течение 10 мин, после чего суспензию охлаждают до температуры 2 °С — 4 °С.

Охлажденную суспензию центрифугируют при центробежном ускорении 2700 g в течение 15 мин при температуре не выше 4 °С (при отсутствии центрифуги с охлаждением допускается проводить центрифугирование при комнатной температуре с предварительным охлаждением проб в холодильнике до температуры 2 °С — 4 °С. Из обеих пробирок отбирают среднюю водную фазу в объеме 4—6 $см^3$, переносят в чистую стеклянную пробирку, получая объединенную пробу, перемешивают.

Для анализа полученный экстракт А разводят экстрактом Б, полученным из того же образца (см. 8.9.2), в два раза в двух параллельных разведениях, для этого в каждую из двух подготовленных стеклянных центрифужных пробирок вносят по 1 $см^3$ экстракта Б (см. 8.9.2) и экстракта А, перемешивают. Далее для исследования используют экстракты А без разведения ($Э_А1$) и разведенные в два раза ($Э_А2$).

Для получения результата количественного анализа выполняют два параллельных определения, для этого проводят анализ для двух отдельно взятых навесок образца пищевого продукта (А и Б).

8.9.2 Приготовление экстракта Б

Навеску образца (40 ± 0,1) г вносят в емкость для гомогенизации, добавляют 120 $см^3$ дистиллированной воды, нагревают в водяной бане до температуры (40 ± 2) °С, после гомогенизируют в гомогенизаторе или вручную в фарфоровой ступке.

Гомогенизированную пробу (суспензию) охлаждают до комнатной температуры. В суспензии устанавливают pH 11 ± 0,1 раствором 1 н гидроокиси натрия (см. 8.8). Полученную суспензию прогревают при (75 ± 1) °С в течение 30 мин, после охлаждают до комнатной температуры.

В суспензии устанавливают pH 2,0 ± 0,1 раствором 1 н соляной кислоты (см. 8.3). Затем суспензию переносят в мерный цилиндр и доводят объем до 200 $см^3$ раствором 0,02 н соляной кислоты (см. 8.5), переливают в стеклянный стакан и тщательно перемешивают, после чего охлаждают до температуры 2 °С — 4 °С. Таким образом получают суспензию с концентрацией 0,2 $г/см^3$.

Охлажденную суспензию центрифугируют при центробежном ускорении 2700 g в течение 15 мин при температуре не выше 4 °С (при отсутствии центрифуги с охлаждением допускается проводить центрифугирование при комнатной температуре с предварительным охлаждением проб в холодильнике до температуры 2 °С — 4 °С). Из пробирок отбирают среднюю водную фазу в объеме не менее 150 $см^3$, переносят в чистый стеклянный стакан и перемешивают.

Полученный экстракт Б ($Э_Б$) используют для приготовления стандартных растворов (см. 8.10.2) и разведения испытуемых проб (см. 8.9.1).

8.10 Подготовка стандартных растворов низина

В процессе приготовления растворов низина используют мерные колбы, подготовленные стеклянные центрифужные пробирки, автоматические дозаторы, вортекс для перемешивания, не допускается воздействие прямых солнечных лучей на растворы низина.

При дозировании отбор и выдачу доз необходимо проводить в соответствии с регламентом, установленным для дозаторов конкретного типа. Перед началом основного дозирования необходимо смочить наконечник путем неоднократного забора и сброса жидкости.

Перемешивание растворов проводят при минимальных режимах, обеспечивающих перемешивание, повышенная аэрация растворов может приводить к инактивации низина.

8.10.1 Приготовление основного стандартного раствора низина с содержанием стандартизованного концентрата низина 1,0 $мг/см^3$

Основной стандартный раствор (ОРС) низина 1,0 $мг/см^3$ готовят из стандартизованного концентрата низина (СО или ВСО) с содержанием чистого вещества низина не менее 25 мкг/мг (биологическая активность не менее 1000 МЕ/мг), допускается использование стандартного образца предприятия низина (СОП). Навеску (250 ± 0,1) мг сухого стандартизованного концентрата низина растворяют в 0,02 н растворе HCl в мерной колбе вместимостью 250 $см^3$, раствор термостатируют при (55 ± 1) °С в течение 1 ч, после охлаждают до комнатной температуры в защищенном от света месте.

Таким образом получают ОРС с содержанием 1,0 $мг/см^3$ чистого вещества низина, что соответствует биологической активности низина не менее 1000 $МЕ/см^3$. ОСР используют в течение дня, хранению не подлежит.

8.10.2 Стандартные растворы низина для калибровочной кривой

Стандартные растворы низина готовят из ОРС путем разведения в экстракте Б, полученном из исследуемого образца пищевого продукта после термической обработки. Растворы (С2—С5) готовят в двух повторностях (параллельные разведения) (С2.1/С2.2—С5.1/С5.2).

Стандартный раствор С1 с концентрацией 0,01 $мг/см^3$ (биологическая активность 10 $МЕ/см^3$) готовят следующим образом: 1 $см^3$ ОРС (см. 8.10.1) вносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доливают до метки экстрактом Б (см. 8.9.2), тщательно перемешивают. Далее готовят стандартные растворы С2—С5 по схеме, приведенной в таблице 1.

Таблица 1 — Схема приготовления стандартных растворов низина

Обозначение раствора	Фактор разбавления *F*	Концентрация низина в стандартных растворах, c_{st}		Соотношение		
		по сухому веществу, мг/см ^{3}	по биологической активности*, МЕ/см^3	Растворы низина		Экстракт Б
				Обозначение	Объем, см^3	Объем, см^3
С1	100	0,01	10	ОРС	1	99
С2	200	0,005	5,0	С1	1	1
С3	400	0,0025	2,5	С2	1	1
С4	800	0,00125	1,25	С3	1	1
С5	1600	0,000625	0,625	С4	1	1
* Ориентировочные значения для СО с активностью не менее 1000 МЕ/мг.						

Стандартные растворы (С5—С1) с содержанием низина 0,625; 1,25; 2,5; 5,0; 10 МЕ/см^3 используют в качестве калибровочных в анализе. Стандартные растворы используют в течение дня, хранению не подлежат.

8.11 Приготовление питательных сред

8.11.1 Питательная среда для получения субкультуры

Готовят триптон-соевый агар с дрожжевым экстрактом (ТСАДЭ). Для этого используют сухую питательную среду ТСАДЭ следующего состава (г/л): триптон или ферментативный гидролизат казеина — 17,0; соевый пептон — 3,0; хлористый натрий — 5,0; фосфорнокислый двузамещенный калий — 2,5; глюкоза — 2,5; дрожжевой экстракт — 6,0; микробиологический агар — 15,0, дополнительно добавляют микробиологический агар из расчета 2 г/дм^3.

Допускается приготовление из сухой среды ТСБДЭ путем добавления микробиологического агара из расчета 17 г/дм^3 или приготовление среды из компонентов аналогичного состава.

Питательную среду автоклавируют при температуре (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин или в соответствии с инструкцией изготовителя. Готовую стерильную среду разливают в чашки Петри размером 90—100 мм.

8.11.2 Питательная среда для анализа низина

Готовят питательную среду — триптон-соевый агар с дрожжевым экстрактом (ТСАДЭ) в необходимом количестве, как в 8.11.1, при этом для растворения сухих компонентов вместо дистиллированной воды используют калий-фосфатный буфер (см. 8.7).

Питательную среду автоклавируют при температуре (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин или в соответствии с инструкцией изготовителя. Сразу после стерилизации в горячую питательную среду асептически вносят Твин-80 в количестве 0,5 % (масс./об.), тщательно перемешивают, при этом наблюдается помутнение среды, которое по мере остывания исчезает. Для проведения анализа готовую стерильную среду охлаждают до температуры 50 °С — 55 °С.

Для анализа низина используют чашки (кюветы), размер которых определяют с учетом размещения необходимого количества лунок. Необходимое количество лунок определяют из расчета: 20 лунок для стандартных растворов (пять концентраций в четырех повторностях), 16 лунок для одного испытуемого образца (для двух навесок) (две навески — две концентрации — в четырех повторностях) и одна лунка для экстракта Б, в качестве внутреннего отрицательного контроля; таким образом, для исследования одного образца необходимо 27 лунок.

Объем питательной среды рассчитывают с учетом площади используемых чашек (кювет), так чтобы толщина слоя агара была 4,3—4,4 мм. Например, на одну чашку (кювету) размером 245 × 245 мм необходимо 220 см^3 питательного агара ТСАДЭ.

8.12 Подготовка тест-культуры

Субкультуру термофильного тест-штамма *Heyndrickxia coagulans* (ВКПМ В-15356) выращивают в чашках Петри на питательном агаре ТСАДЭ (см. 8.11.1) в течение 18—24 ч при (40 ± 1) °С. Из суточной

культуры готовят инокулят. Для этого с помощью стерильного зонд-тампона отбирают небольшое количество бактериальной массы и переносят в пробирку со стерильным изотоническим раствором (см. 8.6), суспендируют и тщательно перемешивают, доводя плотность бактериальной суспензии до 10 МЕ по стандарту мутности бактериальных взвесей (по ГОСТ Р 70152). Далее бактериальную суспензию разводят стерильным изотоническим раствором в 10 раз в количестве, необходимом для засева подготовленного питательного агара ТСАДЭ (см. 8.11.2), объем посевной дозы составляет 2,3 % от объема питательной среды. Так, например, в 220 $см^3$ питательного агара вносят 5 $см^3$ подготовленной бактериальной суспензии. Инокулят следует использовать в течение 15 мин после приготовления.

Для получения субкультуры используют тест-культуру, предварительно пересеянную (обновленную) и хранящуюся в холодильнике не более 7 сут.

8.13 Подготовка чашек (кювет) с тест-культурой

Стерильные чашки (кюветы) располагают на столике со строго горизонтальной поверхностью. В расплавленный питательный агар ТСАДЭ (см. 8.11.2), охлажденный до 50 °С — 55 °С, стерильной пипеткой вносят необходимое количество подготовленной суспензии тест-культуры (см. 8.12), тщательно перемешивают, после чего все содержимое равномерно распределяют в чашке (кювете), не допуская образования пузырей. Чашки (кюветы) оставляют открытыми для застывания на 20—30 мин.

Для разметки лунок на чашке (кювете) используют трафарет, в котором отмечают положения лунок, так чтобы расстояние между центрами лунок и от центра лунки до края чашки (кюветы) было примерно 28—30 мм. При использовании квадратных кювет размером 245 × 245 мм пример разметки лунок и проб на трафарете приведен в приложении В.

После застывания инокулированной среды в слое агара пробойником (просечкой) вырезают лунки диаметром 7 мм. Образовавшиеся блоки агара удаляют из лунок асептически любым способом, не допуская неровности краев и растрескивания лунок.

Время от внесения тест-культуры в питательный агар до внесения аналитических растворов (проб) в лунки должно быть не более 1 ч.

9 Проведение испытаний

9.1 Внесение аналитических растворов

Аналитические растворы, приготовленные по 8.9.1 и 8.10.2, вносят в лунки на чашке Петри (кювете) в определенной последовательности, местоположение каждого раствора маркируют на чашках или размечают на трафарете. Каждый раствор (для каждого разведения) вносят в двухкратной повторности таким образом, чтобы повторности располагались на противоположных сторонах чашки Петри (кюветы).

Подготовленные стандартные растворы (С1—С5) и растворы испытуемого образца ($Э_А1$—$Э_А2$) перемешивают с помощью вортекса и вносят с помощью автоматического дозатора по 0,1 $см^3$ параллельно в две лунки каждый, отрицательный контроль ($Э_Б$) вносят в одну лунку.

Последовательность внесения растворов стандартного и испытуемого образцов в лунки должна быть следующая: начиная с самой низкой концентрации, вначале вносят растворы испытуемых образцов ($Э_А2$, $Э_А1$), потом растворы стандартных образцов (С5-С4-С2-С2-С1), последним вносят отрицательный контроль ($Э_Б$). Общее время внесения растворов не должно превышать 10—12 мин.

9.2 Инкубирование посевов

Чашки (кюветы) выдерживают 2 ч при комнатной температуре не выше 25 °С, для предварительной диффузии низина, после осторожно, не допуская колебания растворов в лунках, переносят в термостат и инкубируют при (55 ± 1) °С в течение 16—18 ч.

10 Обработка результатов

10.1 Учет результатов биологического анализа

После инкубирования (см. 9.2) чашки Петри (кюветы) охлаждают на столе до комнатной температуры, предварительно сняв крышку. Результаты оценивают, просматривая чашки Петри в проходящем

свете от любого источника света. Диаметры прозрачных зон ингибирования роста тест-культуры, измеряют электронным штангенциркулем с точностью до 0,1 мм, за конечное значение принимают среднее арифметическое значение диаметров, измеренных в двух перпендикулярных направлениях. Полученные значения записывают в таблицу регистрации результатов, пример которой приведен в таблице Б.1 (приложение Б).

В случае обнаружения зон ингибирования в лунке с отрицательным контролем — в экстракте Б ($Э_Б$) анализ повторяют, дальнейшую обработку результатов не проводят. При повторном обнаружении ингибирования в экстракте Б исследование этого образца прекращают. Наличие ингибирования в экстракте Б свидетельствует о наличии в исследуемом образце пищевого продукта вещества с антимикробным действием, устойчивого к щелочной обработке и прогреву, отличного от низина.

Содержание чистого вещества низина (ЧВ) в испытуемых растворах (c_i) может быть определено по калибровочному графику двумя способами: графическим методом (см. 10.2.1) или путем расчета с использованием программного обеспечения (MS Excel) (см. 10.2.2). Калибровочный график строят в полулогарифмических координатах по значениям для стандартных растворов, откладывая: по оси X величину зон ингибирования (d_{st}) (мм), а по оси *Y* — логарифм концентрации низина (lg c_{st}) в единицах биологической активности (МЕ/см^3).

При расчете концентраций в исследуемых образцах учитывают только зоны ингибирования, размер которых укладывается в диапазон размеров зон для растворов стандартизованного образца в диапазоне концентраций 0,625—10 МЕ/см^3.

При выполнении условий методики размер зон для минимальной концентрации 0,625 МЕ/см^3 должен быть не менее 16,0 мм, если размер зон менее, то исследование необходимо повторить.

Расчет значений содержания низина (ЧВ) проводят для каждой зоны, удовлетворяющей указанным выше условиям. Значения, полученные для параллельных разведений проб стандартного образца, внесенные в лунки 2-кратной повторности, учитывают как 4-кратную повторность одного образца СО. Значения, полученные для параллельных разведений проб испытуемого образца, внесенных в лунки в 2-кратной повторности, учитывают как 4-кратную повторность для каждого из двух параллельных определений одного образца.

10.2 Обработка результатов анализа

10.2.1 Обработка результатов анализа графическим способом

Калибровочный график строят по среднеарифметическим значениям диаметров зон четырех повторностей для стандартных растворов (С1—С5). На линейном участке графика для каждого испытуемого раствора ($Э_А1$—$Э_А2$) (для каждой повторности) по величине зоны ингибирования (d_i) определяют соответствующее значение логарифма lg (c_i) концентрации низина (ЧВ), которое пересчитывают в единицы биологической активности (c_i) (МЕ/см^3). Далее проводят расчет массовой доли пищевой добавки низин (Е234) в испытуемом образце пищевого продукта (*X*) (мг/кг) (см.10.3).

10.2.2 Обработка результатов анализа с использованием программного обеспечения

С использованием программного обеспечения (MS Excel) выполняют построение калибровочного графика, проводят линейную аппроксимацию, получая уравнение линейной зависимости логарифма (lg c_{St}) в стандартных растворах от величин зон ингибирования (среднеарифметическое значение по четырем повторностям) d_{st} (мм):

$$y = a \cdot x - b;\ R^2, \qquad (1)$$

где *y* — логарифм концентрации низина (ЧВ) lg c (МЕ/см^3);

x — величина зоны ингибирования d_{st}, мм;

a и *b* — коэффициенты уравнения линейной регрессии;

R^2 — величина достоверной аппроксимации (коэффициент корреляции).

Для калибровочного графика должно выполняться условие — линейность в исследуемом диапазоне концентраций низина (ЧВ) 0,625—10 МЕ/см^3 и величина коэффициента корреляции $R^2 > 0,98$. При невыполнении этих условий допускается удалить из расчетов два из четырех повторений для крайних точек калибровочного графика — в наибольшей и/или наименьшей концентрации низина, если после этого коэффициент корреляции останется $R^2 < 0,98$, то исследование необходимо повторить.

Значения логарифма концентрации низина (ЧВ) lg (c_i) для каждого испытуемого раствора пересчитывают в единицы биологической активности c_i (МЕ/см^3).

10.3 Расчет массовой доли пищевой добавки низин (Е234) (мг/кг) в испытуемом образце пищевой продукции (Х) выполняют в последовательности, приведенной в 10.3.1—10.3.5.

10.3.1 Рассчитывают концентрацию низина (ЧВ) C_i в *i*-м экстракте А испытуемой пробы (образца), МЕ/см^3:

$$C_i = F \cdot c_i, \quad (2)$$

где c_i — значение, определяемое по калибровочному графику, МЕ/см^3;

F — фактор разбавления i-го экстракта А.

10.3.2 Концентрацию низина (ЧВ) в экстракте А (C_A) испытуемого образца, МЕ/см^3, вычисляют как среднее арифметическое значений (C_i), полученных для 4-кратной повторности во всех разведениях:

$$C_A = \Sigma(C_i)/n, \quad (3)$$

где n — число повторностей.

10.3.3 Рассчитывают поправочный коэффициент K_N, учитывающий аналитическое значение содержания низина (ЧВ) в СО (ВСО, СОП) (по сертификату анализа на стандартизованный образец) в пересчете на эталонный образец концентрата низина с содержанием 1000 МЕ/мг:

$$K_N = 1000/N_{st}, \quad (4)$$

где N_{st} — содержание низина (ЧВ) в СО (ВСО, СОП), МЕ/мг;

1000 — содержание низина (ЧВ) в эталонном стандартном образце, МЕ/мг.

10.3.4 Концентрацию низина (ЧВ) в испытуемом образце пищевого продукта N_P в единицах биологической активности (МЕ/г) рассчитывают с учетом поправочного коэффициента K_N:

$$N_P = (C_A \cdot K_N)/P_A, \quad (5)$$

где C_A — концентрация низина (ЧВ) в экстракте А испытуемого образца, МЕ/см^3;

K_N — поправочный коэффициент;

P_A — содержание пищевого продукта в экстракте А, равное 0,2 г/см^3 (см. 8.9.1).

10.3.5 Массовую долю пищевой добавки низин (Е234) в испытуемом образце пищевого продукта рассчитывают в тех же единицах, в которых он нормируется в [1], а именно в мг пищевой добавки низин (Е234) (сухой концентрат) на кг пищевого продукта.

Для этого единицы биологической активности (ЧВ) пересчитывают в единицы массы сухого концентрата (A_{NK}) с учетом содержания чистого вещества низина в сухом концентрате низин (МЕ/мг).

Расчет массовой доли (концентрации) пищевой добавки низин (Е234) в пищевом продукте X, мг/кг, проводят по формуле

$$X = N_P \cdot 1000/A_{NK}, \quad (6)$$

где N_P — концентрация низина (ЧВ) в испытуемом образце пищевого продукта в единицах биологической активности, МЕ/г;

A_{NK} — биологическая активность пищевой добавки низин (Е234) (сухой концентрат), по [1] (приложение 28) A_{NK} принимается равной 900 МЕ/мг, или иное значение по спецификации изготовителя на применяемую партию пищевой добавки низин (Е234) (при наличии информации);

1000 — коэффициент пересчета массы пищевого продукта из г в кг.

11 Метрологические характеристики и контроль точности

11.1 Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) результатов измерений при доверительной вероятности P = 0,95 не превышает значений, приведенных в таблице 2 для указанного диапазона концентраций.

Метрологические параметры установлены при проведении количественного определения с тест-культурой *Heyndrickxia coagulans* штамм ВКПМ В-15356.

Таблица 2 — Значения характеристики диапазона измерений и показателей точности

Диапазон измеряемых концентраций пищевой добавки низин (Е234)* в пищевом продукте, мг/кг	Показатель точности (границы относительной погрешности) ±δ, %, P = 0,95	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости) σR, %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений) r, %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R, % (P = 0,95)
3,47—55,55	15	5,2	7,3	15	20
* При содержании низина 22,5 мкг/мг (900 МЕ/мг в единицах биологической активности) в пищевой добавке (Е234).					

11.2 Проверка приемлемости результатов параллельных определений

При расчете учитывают только результаты, удовлетворяющие условиям диапазона определяемых концентраций низина в испытуемом образце (значение равно или выше нижней границы/равно или ниже верхней границы), в границах диапазона измеряемых концентраций 3,47—55,55 мг/кг.

В случае обнаружения содержания низина в подготовленном экстракте выше верхней границы градуировочного графика, проводят дополнительное разведение подготовленного раствора (экстракта) и в дальнейшем учитывают это разведение при обработке результата анализа.

За результат количественного анализа принимают среднее арифметическое результатов параллельных определений $\overline{X}$, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости r (%) (см. таблицу 2), если выполняется условие:

$$(X_1 - X_2) \cdot 100/\overline{X} \le r, \quad (7)$$

где X_1 и X_2 — результаты параллельных определений (мг/кг);

r — значение предела повторяемости, % (см. таблицу 2), при этом $r = 2{,}8\sigma_r$.

При невыполнении указанного условия выясняют причины превышения погрешности измерения, устраняют их и вновь выполняют анализ.

12 Оформление результатов

Результат анализа представляют в виде:

$$\overline{X}\,(\pm\,\Delta)\ \text{мг/кг при вероятности } P = 0{,}95,$$

где $\overline{X}$ — среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, мг/кг;

Δ — граница абсолютной погрешности, мкг/мг:

$$\Delta = \delta \cdot \overline{X}/100, \quad (8)$$

где δ — граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций, см. таблицу 2), %.

В случае обнаружения в экстракте Б (отрицательный контроль) ингибирующей активности в отношении тест-культуры *H. coagulans* ВКПМ В-15356, делают вывод о присутствии в составе продукта веществ с антимикробным действием, отличных от низина.

13 Контроль качества результатов измерений

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости) и воспроизводимости, проводят с учетом требований ГОСТ Р ИСО 5725-6.

Приложение А
(рекомендуемое)

Рекомендуемый депозитарий для тест-штамма, используемого для выполнения испытаний

Рекомендуемый депозитарий для тест-штамма *Heyndrickxia coagulans* ВКПМ B-15356, используемого для выполнения испытаний, — Национальный биоресурсный центр «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (БРЦ ВКПМ НИЦ «Курчатовский институт» — ГосНИИгенетика) (штамм № B-15356).

Штамм *Heyndrickxia coagulans* ВКПМ B-15356 не входит в перечень микроорганизмов I—IV групп патогенности согласно [4].

Приложение Б
(рекомендуемое)

Форма таблицы регистрации результатов

Таблица Б.1 — Таблица регистрации результатов

№ п/п	Обозначения проб	Кратность разведения образцов, обозначения растворов				Примечания
		2	1	—	—	
		$Э_А2$	$Э_А1$	—	—	
		Размеры зон ингибирования, мм*				
1	А1.1	$Э_{АА}2.1$	$Э_{АА}1.1$	—	—	
2	А1.2	$Э_{АА}2.2$	$Э_{АА}1.2$	—	—	
3	А2.1	$Э_{АА}2.3$	$Э_{АА}1.3$	—	—	
4	А2.2	$Э_{АА}2.4$	$Э_{АА}1.4$	—	—	
5	Б1.1	$Э_{АБ}2.1$	$Э_{АБ}1.1$	—	—	
6	Б1.2	$Э_{АБ}2.2$	$Э_{АБ}1.2$	—	—	
7	Б2.1	$Э_{АБ}2.3$	$Э_{АБ}1.3$	—	—	
8	Б2.2	$Э_{АБ}2.4$	$Э_{АБ}1.4$	—	—	
		Кратность разведения стандарта, обозначения растворов				
		1600	800	400	200	100
		С5	С4	С3/И3	С2/И2	С1
9	Стандарт 1.1	С5.1	С4.1	С3.1	С2.1	С1.1
10	Стандарт 1.2	С5.2	С4.2	С3.2	С2.2	С1.2
11	Стандарт 2.1	С5.3	С4.3	С3.3	С2.3	С1.3
12	Стандарт 2.2	С5.4	С4.4	С3.4	С2.4	С1.4
13	Отрицательный контроль (без разведений)	ОК	—	—	—	—
* Среднее арифметическое значение диаметров, измеренных в двух перпендикулярных направлениях.						

Схема размещения проб в квадратной кювете (245 х 245 мм)

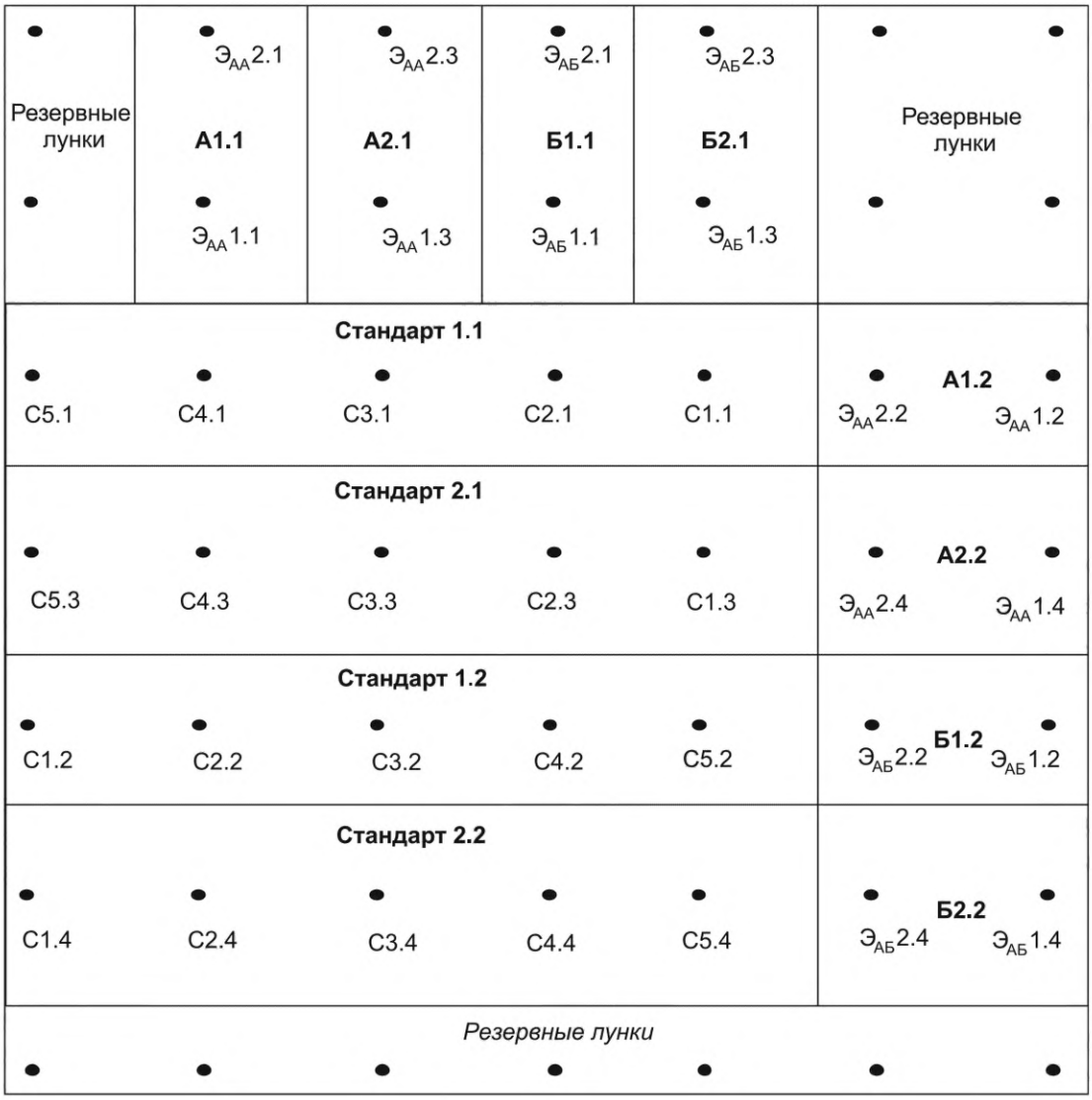


Рисунок Б.1 — Пример разметки трафарета для одного образца (обозначения точек приведены в таблице Б.1)

Приложение В
(рекомендуемое)

Специфичность метода биологического анализа

Специфичность метода биологического анализа установлена при выполнении анализа методом диффузии в агар с тест-культурой *Heyndrickxia coagulans*, штамм ВКПМ В-15356, результаты представлены в таблице В.1.

Таблица В.1

Вещество	Специфичность, %
Низин	100
Лизоцим	100
Сорбат калия	0
Бензоат натрия	0

Библиография

[1]	Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 029/2012	Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств
[2]	Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011	О безопасности пищевой продукции
[3]	Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013	О безопасности молока и молочной продукции
[4]	СП 3.3686-21	Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней

УДК 579.67:006.354 ОКС 07.100.01

Ключевые слова: определение содержания низина, биологический анализ, тест-культура, пищевая продукция, Е234

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *С.И. Фирсова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 16.04.2026. Подписано в печать 05.05.2026. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,24.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru