МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 3623— 2015

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Методы определения пастеризации

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ФГБНУ «ВНИМИ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 октября 2015 г. № 81-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 16 ноября 2015 г. № 1815-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 3623—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2016 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 3623—73

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Февраль 2019 г.

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «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

© Стандартинформ, оформление, 2016, 2019

В Российской Федерации 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

МКС 67.100.10

Поправка к ГОСТ 3623—2015 Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 7 2019 г.)

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Методы определения пастеризации

Milk and milk products. Methods for determination of pasteurization

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пастеризованное молоко, сливки, пахту, сыворотку и устанавливает методы определения пастеризации, а также на творог, сметану, сливочное масло, кисломолочные продукты и другие молочные продукты при оценке эффективности пастеризации сырья, из которого они выработаны.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79[1)] Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 745—2003[2)] Фольга алюминиевая для упаковки. Технические условия

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3652—69 Реактивы. Кислота лимонная моногидрат и безводная. Технические условия

ГОСТ 3760—79 Реактивы. Аммиак водный. Технические условия

ГОСТ 3773—72 Реактивы. Аммоний хлористый. Технические условия

ГОСТ 4165—78 Реактивы. Медь (II) сернокислая 5-водная. Технические условия

ГОСТ 4174—77 Реактивы. Цинк сернокислый 7-водный. Технические условия

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ 12.1.019—2017.

[2)] Заменен на ГОСТ 745—2014.

Издание официальное

ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4232—74 Реактивы. Калий йодистый. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6217—74 Уголь активный древесный дробленый. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 10163—76 Реактивы. Крахмал растворимый. Технические условия

ГОСТ 10929—76 Реактивы. Водорода пероксид. Технические условия

ГОСТ 11773—76 Реактивы. Натрий фосфорно-кислый двузамещенный. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 20490—75 Реактивы. Калий марганцовокислый. Технические условия

ГОСТ 22300—76 Реактивы. Эфиры этиловый и бутиловый уксусной кислоты. Технические условия

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 25794.3—83 Реактивы. Методы приготовления титрованных растворов для титрования осаждением, неводного титрования и других методов

ГОСТ 26809.1—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты

ГОСТ 26809.2—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 2. Масло из коровьего молока, спреды, сыры и сырные продукты, плавленые сыры и плавленые сырные продукты

ГОСТ 27752—88 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 29251–91 Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в иформационной 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 ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **пероксидаза:** Фермент молока, относящийся к оксиредуктазам и инактивирующийся при температуре пастеризации не ниже 80 °С с выдержкой (20—30) с.

3.2 **фосфатаза:** Фермент молока, относящийся к эстеразам и расщепляющий эфиры фосфорной кислоты, инактивирующийся при температуре пастеризации не ниже 63 °С с выдержкой 30 мин.

4 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ 26809.1, ГОСТ 26809.2.

Если определение не может быть проведено сразу после отбора проб, их хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С не более суток.

5 Условия проведения измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны соблюдаться следующие условия:

температура окружающего воздуха . . . . . (20 ± 5) °С;
относительная влажность воздуха . . . . . (65 ± 15) %;
атмосферное давление . . . . . (96 ± 10) кПа.

6 Методы определения пероксидазы

6.1 Метод определения пероксидазы по реакции с солянокислым парафенилендиамином

6.1.1 Сущность метода

Метод основан на разложении перекиси водорода ферментом пероксидазы, содержащейся в молоке и молочных продуктах. Освобождающийся при разложении перекиси водорода активный кислород окисляется парафенилендиамином, образуя соединение синего цвета.

6.1.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 или весы по нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,01 г и ±0,001 г.

Часы электронно-механические по ГОСТ 27752.

Термометр лабораторный жидкостный диапазоном измерения температур от 0 °С до 100 °С, ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

Баня водяная термостатируемая.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919.

Бюретки 1-1(2)-2-10-0,02 по ГОСТ 29251.

Колбы мерные 2-100-2, 2-250-2, 2-500-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770.

Пипетки 1-1-2-5 по ГОСТ 29227.

Цилиндры 1-100-2 по ГОСТ 1770.

Капельница 2-50 ХС по ГОСТ 25336 из темного стекла.

Колба Кн-1-250-24/29 ТС по ГОСТ 25336.

Пробирки П1-16-150 ХС по ГОСТ 25336.

Стакан В-1-50 ТХС, В-1-100, В-1-250 ТС по ГОСТ 25336.

Воронка В-56-80 ХС по ГОСТ 25336.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Штатив для пробирок.

Палочки стеклянные оплавленные.

Водорода пероксид (перекись) по ГОСТ 10929, х. ч., раствор массовой долей 0,5 %.

Калий марганцовокислый по ГОСТ 20490, х. ч., раствор молярной концентрации 0,1 моль/дм^3.

Кислота лимонная моногидрат по ГОСТ 3652, ч. д. а.

Кислота серная по ГОСТ 4204, х. ч.

Натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773, ч. д. а.

Парафенилендиамин солянокислый с содержанием основного вещества не менее 99,5 %, раствор массовой долей 2 %.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реактивов по качеству не хуже вышеуказанных.

6.1.3 Подготовка к проведению измерений

6.1.3.1 Раствор парафенилендиамина солянокислого массовой долей 2 %

1) Приготовление раствора парафенилендиамина солянокислого массовой долей 2 %

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (2,000 ± 0,001) г парафенилендиамина солянокислого, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 7 сут в склянке из темного стекла с плотно закрытой пробкой.

2) Проверка пригодности раствора парафенилендиамина солянокислого массовой долей 2 %

При применении раствора солянокислого парафенилендиамина массовой долей 2 %, хранившегося более 1—2 дней, проверяют его пригодность. Для этого 5 см^3 молока доводят до кипения, охлаждают до температуры (20 ± 2) °С, приливают 2,5 см^3 буферной смеси (6.1.3.2), перемешивают и помещают на 3—5 мин в водяную баню температурой воды (35 ± 2) °С.

Затем прибавляют 6 капель раствора перекиси водорода массовой долей 0,5 % (6.1.3.5) и 3 капли раствора солянокислого парафенилендиамина массовой долей 2 % (6.1.3.1,1). Раствор перемешивают и снова помещают в водяную баню.

Появление темно-синей или серовато-синей окраски указывает на непригодность раствора.

6.1.3.2 Приготовление буферной смеси

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают (97,000 ± 0,001) г натрия фосфорнокислого двузамещенного и (0,650 ± 0,001) г лимонной кислоты, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 1 мес в склянке из темного стекла с плотно закрытой пробкой.

6.1.3.3 Приготовление раствора марганцовокислого калия молярной концентрации c ($KMnO_4$) = 0,1 моль/дм^3

Приготовление раствора марганцовокислого калия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3 проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 25794.3.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 1 мес в склянке из темного стекла с плотно закрытой пробкой.

6.1.3.4 Определение содержания перекиси водорода в концентрированном растворе

В мерную колбу вместимостью 250 см^3 помещают 3—4 г концентрированной перекиси водорода с записью результата взвешивания до второго десятичного знака, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

В коническую колбу вместимостью 250 см^3 помещают 10 см^3 приготовленного раствора перекиси водорода, добавляют 50 см^3 дистиллированной воды и 10 см^3 разбавленной серной кислоты в соотношении 1:4 (*V*/*V*) (в 4 объемах дистиллированной воды разводят 1 объем серной кислоты).

Содержимое колбы титруют раствором марганцовокислого калия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3 (6.1.3.3) до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Параллельно проводят контрольный опыт в тех же условиях, с тем же количеством реактивов и дистиллированной воды, но без перекиси водорода.

Массовую долю перекиси водорода X, %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0{,}0017 \cdot 25 \cdot 100}{m}, \quad (1)$$

где V — объем раствора марганцовокислого калия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3, использованного на титрование раствора перекиси водорода, см^3;

V_1 — объем раствора марганцовокислого калия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3, использованного на контрольное титрование, см^3;

0,0017 — количество перекиси водорода, соответствующее 1 см^3 раствора марганцовокислого калия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3, г;

m — навеска перекиси водорода, г;

25 — коэффициент разведения раствора перекиси водорода;

100 — пересчет в проценты.

6.1.3.5 Приготовление раствора перекиси водорода массовой долей 0,5 %

Раствор готовят в зависимости от содержания в нем перекиси водорода, определенного по 6.1.3.4, растворяя определенное количество перекиси водорода в дистиллированной воде, предварительно прокипяченной в течение 5 мин и охлажденной до температуры (20 ± 2) °С.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 3 сут в склянке из темного стекла.

6.1.3.6 Подготовка проб

Кисломолочные продукты с немолочными компонентами (например, с плодово-ягодными наполнителями) фильтруют через бумажный фильтр.

Продукты с отделяемыми пищевкусовыми компонентами и декорированные (орехи, печенье, вафли в виде декора, глазурь, начинки в виде стержня и другие отделяемые компоненты) максимально полно освобождают от наполнителей, глазури и декора.

Для получения 2—3 $см^3$ плазмы масла (50,00 ± 0,01) г сливочного масла или масляной пасты расплавляют при температуре (50 ± 2) °С и охлаждают до температуры (15 ± 2) °С. Затем застывший слой жира удаляют, плазму фильтруют через бумажный фильтр.

6.1.4 Проведение измерений

Проводят два параллельных измерения. В пробирку помещают анализируемый продукт и дистиллированную воду в количествах, указанных в таблице 1, и тщательно перемешивают, растирая стеклянной палочкой.

В пробирку добавляют 2,5 $см^3$ буферной смеси (6.1.3.2) и тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Пробирки с содержимым помещают в водяную баню и термостатируют при температуре (35 ± 2) °С в течение (5 ± 1) мин. Затем в пробирки добавляют 6 капель раствора перекиси водорода массовой долей 0,5 % (6.1.3.5) и 3 капли раствора парафенилендиамина солянокислого массовой долей 2 % (6.1.3.1), перемешивая вращательными движениями пробирки после добавления каждого реактива. Пробирки помещают в водяную баню температурой (35 ± 2) °С и наблюдают изменение окраски содержимого пробирки.

Таблица 1

Наименование продукта	Объем (масса) образца, взятого для измерения	Объем добавленной дистиллированной воды, $см^3$
Молоко пастеризованное	5 $см^3$	—
Сливки пастеризованные	(2—3) $см^3$	2—3
Сметана	(2—3) г	2—3
Кисломолочные продукты (айран, ацидофилин, кумыс, кефир, йогурт, простокваша, в т. ч. с немолочными компонентами (фильтраты))	5 $см^3$	—
Творог, творожная масса, творожные продукты	(2—3) г	2—3
Масло сливочное, паста масляная (плазма масла)	(2—3) $см^3$	2—3
Пахта	5 $см^3$	—
Сыворотка	5 $см^3$	—

6.1.5 Обработка результатов

При отсутствии фермента пероксидазы в молоке и молочных продуктах цвет содержимого пробирки не изменяется. Следовательно, молоко и молочные продукты подвергались пастеризации при температуре не ниже 80 °С.

При наличии пероксидазы в молоке, сливках, сливочном масле содержимое пробирок приобретает темно-синее окрашивание.

При наличии пероксидазы в кисломолочных продуктах и кисло-сливочном масле содержимое пробирок приобретает серо-фиолетовый цвет, постепенно переходящий в темно-синее окрашивание. Следовательно, молоко и молочные продукты не подвергались пастеризации или подвергались пастеризации при температуре ниже 80 °С, или были смешаны с непастеризованными продуктами.

Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление не менее 5 % непастеризованных молочных продуктов к пастеризованным.

6.2 Метод определения пероксидазы по реакции с йодистокалиевым крахмалом

6.2.1 Сущность метода

Метод основан на разложении перекиси водорода ферментом пероксидазой, содержащейся в молоке и молочных продуктах. Освобождающийся при разложении перекиси водорода активный кислород окисляет йодистый калий, освобождая йод, образующий с крахмалом соединение синего цвета.

6.2.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

Средства измерений, вспомогательное оборудование и посуда по 6.1.2.

Водорода пероксид (перекись) по ГОСТ 10929, х. ч., раствор массовой долей 0,5 %.

Крахмал растворимый по ГОСТ 10163, ч. д. а.

Калий йодистый по ГОСТ 4232, ч. д. а.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

6.2.3 Подготовка к проведению измерений

6.2.3.1 Приготовление раствора перекиси водорода массовой долей 0,5 %

Раствор готовят в соответствии с 6.1.3.5.

6.2.3.2 Приготовление раствора йодистокалиевого крахмала

В стакан вместимостью 250 $см^3$ помещают (3,00 ± 0,01) г крахмала, добавляют 5—10 $см^3$ дистиллированной воды и тщательно перемешивают до получения однородной массы.

В конической колбе доводят до кипения 100 $см^3$ дистиллированной воды и при непрерывном помешивании кипящую дистиллированную воду добавляют к разведенному крахмалу, постоянно перемешивая и не допуская образования комков.

Полученный раствор доводят до кипения и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С. К приготовленному раствору крахмала прибавляют (3,00 ± 0,01) г йодистого калия, перемешивая до растворения кристаллов йодистого калия.

Раствор йодистокалиевого крахмала является нестойким.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 2 сут в склянке из темного стекла.

6.2.3.3 Проверка пригодности раствора йодистокалиевого крахмала

При применении раствора йодистокалиевого крахмала, хранившегося более 2 сут, перед использованием проверяют его пригодность. Для этого 5 $см^3$ молока доводят до кипения, охлаждают до температуры (20 ± 2) °С, добавляют 5 капель раствора йодистокалиевого крахмала (6.2.3.2) и 5 капель раствора перекиси водорода массовой долей 0,5 % (6.1.3.5) и аккуратно перемешивают.

Появление темно-синей или серовато-синей окраски указывает на непригодность раствора.

6.2.4 Проведение измерений

Проводят два параллельных измерения. В пробирку помещают анализируемый продукт и дистиллированную воду в количествах, указанных в таблице 1, и тщательно перемешивают, растирая стеклянной палочкой.

Добавляют 5 капель раствора йодистокалиевого крахмала (6.2.3.2) и 5 капель раствора перекиси водорода массовой долей 0,5 % (6.1.3.5), перемешивая вращательными движениями содержимое пробирки после добавления каждого реактива. Затем наблюдают изменение окраски содержимого пробирки.

6.2.5 Обработка результатов

При отсутствии фермента пероксидазы в молоке и молочных продуктах цвет содержимого пробирки не изменится. Следовательно, молоко и молочные продукты подвергались пастеризации при температуре не ниже 80 °С.

При наличии пероксидазы в молоке, сливках, сливочном масле содержимое пробирок приобретает темно-синее окрашивание. При наличии пероксидазы в кисломолочных продуктах и кисло-сливочном масле содержимое пробирок не более чем через 2 мин приобретает серовато-синюю окраску, постепенно переходящую в темно-синюю. Следовательно, молоко и молочные продукты не подвергались пастеризации или подвергались пастеризации при температуре ниже 80 °С, или были смешаны с непастеризованными молочными продуктами. Появление окраски в пробирках более чем через 2 мин после добавления йодистокалиевого крахмала и перекиси водорода не указывает на отсутствие пастеризации, так как может вызываться разложением реактивов.

Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление не менее 5 % непастеризованных молочных продуктов к пастеризованным, а для кисломолочных продуктов с немолочными компонентами — 0,5 %.

7 Методы определения фосфатазы

7.1 Определение фосфатазы по реакции с 4-аминоантипирином

7.1.1 Сущность метода

Метод основан на гидролизе динатриевой соли фенилфосфорной кислоты ферментом фосфатазой, содержащейся в молоке и молочных продуктах. Выделившийся при гидролизе свободный фенол в присутствии окислителя дает розовое окрашивание с 4-аминоантипирином.

7.1.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 или весы по нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,01 г и ±0,001 г.

Термометр лабораторный жидкостный диапазоном измерения температур от 0 °С до 100 °С, ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

Часы электронно-механические по ГОСТ 27752.

Баня водяная термостатируемая.

Колбы мерные 1-100-2, 1-1000-2 по ГОСТ 1770.

Пипетки 1-1-2-5 по ГОСТ 29227.

Цилиндры 1-100-1 по ГОСТ 1770.

Колба Кн-1-250-24/29 ТС по ГОСТ 25336.

Воронка В-56-80 ХС по ГОСТ 25336.

Пробирки П1-16-150 ХС по ГОСТ 25336.

Штатив для пробирок.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Бумага индикаторная универсальная pH 0—12.

4-Аминоантипирин, ч. д. а.

Аммиак водный по ГОСТ 3760, х. ч.

Аммоний хлористый по ГОСТ 3773, х. ч.

Динатриевая соль фенилфосфорной кислоты двухводная, ч. д. а.

Медь (II) сернокислая 5-водная по ГОСТ 4165, х. ч.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч., раствор молярной концентрации 1,0 моль/дм^3.

Уголь активированный по ГОСТ 6217, марка БАУ-А.

Цинк сернокислый 7-водный по ГОСТ 4174, х. ч.

Эфир этиловый по ГОСТ 22300, х. ч.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

7.1.3 Подготовка к проведению измерений

7.1.3.1 Подготовка проб

Молоко пастеризованное, сливки, кисломолочные продукты для проведения анализа дополнительной подготовки не требует.

Творог и сметану разводят дистиллированной водой. Для этого (1,000 ± 0,001) г продукта помещают в пробирку, добавляют 2 см^3 дистиллированной воды и тщательно перемешивают.

Кисломолочные продукты с немолочными компонентами (например, с плодово-ягодными наполнителями) фильтруют через бумажный фильтр с активированным углем (2 г активированного угля на 25 см^3 продукта). Сыворотку и фильтраты кисломолочных продуктов с немолочными компонентами нейтрализуют раствором гидроокиси натрия молярной концентрации 1,0 моль/дм^3 до pH 6, контролируя по универсальной индикаторной бумажке.

7.1.3.2 Приготовление основного буферного раствора (10 ± 0,2) ед. pH

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (40,000 ± 0,001) г хлористого аммония, добавляют 100—200 см^3 дистиллированной воды и аккуратно перемешивают. К раствору добавляют 348 см^3 водного аммиака и аккуратно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 1 мес в склянке из темного стекла.

7.1.3.3 Приготовление субстрата

1) Приготовление раствора А

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (1,250 ± 0,001) г динатриевой соли фенилфосфорной кислоты, добавляют небольшое количество основного буферного раствора (7.1.3.2) и аккуратно перемешивают. Объем раствора доводят до метки основным буферным раствором (7.1.3.2).

При необходимости динатриевую соль фенилфосфорной кислоты очищают от свободного фенола, промывая этиловым эфиром до полного удаления фенола. Затем реактив высушивают при температуре (20 ± 5) °С под тягой.

2) Приготовление раствора Б

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (0,800 ± 0,001) г 4-аминоантипирина, добавляют 900 см^3 дистиллированной воды и аккуратно перемешивают.

Растворы А и Б должны быть бесцветными. Пожелтевшие растворы для работы непригодны. Срок хранения растворов при температуре (6 ± 2) °С не более 1 мес в склянках из темного стекла.

3) Приготовление рабочего раствора субстрата

Рабочий раствор субстрата готовят непосредственно перед измерением смешиванием растворов А и Б в соотношении 1:9 (*V/V*). Рабочий раствор пригоден для работы в течение 8 ч при хранении его в склянке из темного стекла.

7.1.3.4 Приготовление осадителя системы цинк—медь

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (30,00 ± 0,01) г цинка сернокислого, (6,00 ± 0,01) г меди сернокислой, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и аккуратно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 1 мес.

7.1.3.5 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = = 1,0 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (40,000 ± 0,001) г кристаллической гидроокиси натрия, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и аккуратно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 1 мес в бутыли из темного стекла.

7.1.4 Проведение измерений

7.1.4.1 В пробирку помещают 3 см^3 продукта, подготовленного по 7.1.3.1, добавляют 2 см^3 рабочего раствора субстрата (7.1.3.3,3), аккуратно перемешивают и нагревают в водяной бане при температуре (42±2) °С в течение 30 мин.

Затем в пробирку добавляют 5 см^3 осадителя системы цинк—медь (7.1.3.4), тщательно перемешивают содержимое пробирки и снова погружают в водяную баню температурой (42 ± 2) °С на 10 мин. Пробирку вынимают из водяной бани и проводят визуальное сравнение содержимого пробирки испытуемого продукта с контрольным опытом.

7.1.4.2 Контрольный опыт

Контрольным опытом для всех продуктов является аналогичная реакция с кипяченым молоком. Если контрольный опыт с кипяченым молоком дает слабо-розовое окрашивание, то динатриевая соль фенилфосфорной кислоты подлежит дополнительной очистке согласно (7.1.3.1).

7.1.5 Обработка результатов

7.1.5.1 При отсутствии фермента фосфатазы в исследуемом продукте окраска содержимого пробирки (раствора, отделившегося от осажденного белка) будет бесцветной, т. е. аналогичная содержимому пробирок в контрольном опыте. Следовательно, молоко и молочные продукты подвергались пастеризации при температуре не ниже 63 °С.

При наличии фосфатазы в исследуемом продукте содержимое пробирок (раствора) будет иметь оттенок от розового до темно-красного. Следовательно, молоко и молочные продукты не подвергались пастеризации или подвергались пастеризации при температуре ниже 63 °С, или были смешаны с непастеризованным молочным продуктом.

При оценке реакции учитывается только цвет, но не прозрачность раствора.

Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление непастеризованных молочных продуктов к пастеризованным в следующих количествах: 0,3 % в молоке, сливках, кисломолочных продуктах (жидких); 0,5 % в твороге и сметане; 1 % в кисломолочных продуктах с немолочными компонентами и сыворотке.

7.1.5.2 Творог и сметану на пастеризацию исходного сырья (молока и сливок) определяют по фосфатазе не позднее семи суток с момента выработки творога и пяти суток с момента выработки сметаны.

Определение пастеризации всех видов молочных, сливочных напитков и творожных продуктов с наполнителями и продуктов из сыворотки должно проводиться путем контроля исходного сырья (молока, сливок, творога, сыворотки) в соответствии с 7.1.

7.2 Определение фосфатазы по реакции с фенолфталеинфосфатом натрия

7.2.1 Сущность метода

Метод основан на гидролизе фенолфталеинфосфата натрия ферментом фосфатазой, содержащейся в молоке и молочных продуктах. Освобождающийся при гидролизе фенолфталеин в щелочной среде дает розовое окрашивание.

7.2.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

Средства измерений, вспомогательное оборудование и посуда по 6.1.2.

Аммиак водный по ГОСТ 3760, х. ч., раствор молярной концентрации 1,0 моль/дм^3.

Аммоний хлористый, по ГОСТ 3773, х. ч., раствор молярной концентрации 1,0 моль/дм^3.

Фенолфталеинфосфат натрия, ч., раствор массовой долей 0,1 %.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

7.2.3 Подготовка к проведению измерений

7.2.3.1 Приготовление раствора аммиака водного молярной концентрации 1,0 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 68 см^3 раствора аммиака водного с массовой долей 25 %, объем раствора доводят дистиллированной водой до метки и аккуратно перемешивают.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 2 мес в стеклянной емкости с притертой пробкой.

7.2.3.2 Приготовление раствора хлористого аммония молярной концентрации c (NH_4Cl) = = 1,0 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (53,490±0,001) г хлористого аммония, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и аккуратно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор хранят при температуре (20±5) °С не более 2 мес.

7.2.3.3 Приготовление аммиачной буферной смеси

В колбе вместимостью 250 см^3 смешивают 80 см^3 раствора аммиака молярной концентрации 1,0 моль/дм^3 (7.2.3.1) и 20 см^3 раствора хлористого аммония молярной концентрации 1,0 моль/дм^3 (pH 9,8) (7.2.3.2).

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 1 мес в склянке из темного стекла.

7.2.3.4 Приготовление раствора фенолфталеинфосфата натрия в буферной смеси массовой долей 0,1 %

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,100 ± 0,001) г фенолфталеинфосфата натрия, добавляют небольшое количество аммиачной буферной смеси (7.2.3.3) и аккуратно перемешивают. Объем раствора доводят аммиачной буферной смесью (7.2.3.3) до метки.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 3 мес в склянке из темного стекла.

7.2.4 Проведение измерений

В пробирку помещают анализируемый продукт, дистиллированную воду и раствор фенолфталеинфосфата натрия в буферной смеси массовой долей 0,1 % (7.2.3.4) в количестве, указанном в таблице 2.

Таблица 2

Наименование продукта	Объем пробы продукта, см^3	Объем добавленной дистиллированной воды, см^3	Объем раствора фенолфталеинфосфата натрия в буферной смеси, см^3
Молоко пастеризованное	2	—	1
Сливки питьевые	2	2	1
Кисломолочные продукты (айран, ацидофилин, кумыс, кефир, йогурт, простокваша, в т. ч. с немолочными компонентами (фильтраты))	2	2	2

Затем пробирку закрывают пробкой и содержимое аккуратно перемешивают. Пробирки погружают в водяную баню температурой (42 ± 2) °С.

Изменение окраски содержимого пробирки определяют через 10 мин и через 1 ч.

7.2.5 Обработка результатов

При отсутствии фермента фосфатазы в молоке и молочных продуктах окраска содержимого пробирки не изменится. Следовательно, молоко и молочные продукты подвергались пастеризации при температуре не ниже 63 °С.

При наличии фосфатазы в молоке и молочных продуктах содержимое пробирки приобретает окраску от светло-розовой до ярко-розовой. Следовательно, молоко и молочные продукты не подвергались пастеризации, или подвергались пастеризации при температуре ниже 63 °С, или были смешаны с непастеризованными продуктами.

Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление не менее 2 % непастеризованных молочных продуктов к пастеризованным.

Определение пастеризации всех видов молочных, сливочных напитков должно проводиться путем контроля исходного сырья (молока, сливок) в соответствии с 7.2.

8 Метод определения кислой фосфатазы

Кислая фосфатаза инактивируется при температуре пастеризации молока и сливок 85 °С с выдержкой не менее 30 мин; при температуре пастеризации 90 °С с выдержкой не менее 5 мин и кипячении; термической обработки сливок при температуре 103 °С с выдержкой 15—20 с.

Метод определения кислой фосфатазы предназначен для контроля эффективности термической обработки.

Метод распространяется на питьевые молоко и сливки.

8.1 Сущность метода

Метод основан на свойстве кислой фосфатазы катализировать при pH (4,00 ± 0,05) гидролиз динатриевой соли фенилфосфорной кислоты с образованием фенола и фосфата натрия. Фенол с 4-аминоантипирином при добавлении осадителя системы цинк—медь в условиях щелочной реакции образует окрашенное соединение, изменяющее интенсивность окраски от слабо-розовой до темно-вишневой (в зависимости от концентрации фенола). По разнице в интенсивности окраски опытных и контрольных проб определяют активность кислой фосфатазы (соблюдены ли режимы термической обработки).

8.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 или весы по нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,01 мг и ±0,001 г

Анализатор потенциометрический диапазоном измерения от 0 ед. pH до 12 ед. pH с погрешностью ±0,05.

Термостат, обеспечивающий поддержание температуры в (36 ± 1) °С.

Секундомер по нормативному документу.

Бюретки 3-1-25-0,1 по ГОСТ 29251.

Колбы 1-100-2; 1-1000-2 по ГОСТ 1770.

Пипетки 1-2-1-1, 1-2-1-10 по ГОСТ 29227.

Цилиндры 1-50-2, 1-100-2, 1-500-2 по ГОСТ 1770.

Капельница 2-50 ХС по ГОСТ 25336.

Колбы Кн-1-250-2-/32 ХС по ГОСТ 25336.

Пробирки П 2-16-150, П 4-15-14/23 ХС по ГОСТ 25336.

Воронка В-56-80 ХС по ГОСТ 25336.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Фольга алюминиевая для упаковки по ГОСТ 745.

Штатив для пробирок.

4-аминоантипирин, содержание основного вещества не менее 98 %.

Аммиак водный по ГОСТ 3760, ч. д. а., раствор молярной концентрации 3,0 моль/дм^3.

Кислота соляная фиксанал для приготовления раствора молярной концентрации 0,1 моль/дм^3.

Кислота уксусная по ГОСТ 61, х. ч. ледяная.

Медь (II) сернокислая 5-водная по ГОСТ 4165, ч. д. а.

Метиловый оранжевый индикатор ч. д. а., раствор массовой долей 0,1 %.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х .ч.

Фенилфосфорной кислоты динатриевая соль 2-водная, ч.

Цинк сернокислый 7-водный по ГОСТ 4174, ч. д. а.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реактивов по качеству не хуже вышеуказанных.

8.3 Подготовка к проведению измерений

8.3.1 Приготовление буферного раствора

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 72 см^3 ледяной уксусной кислоты, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и аккуратно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор подщелачивают концентрированным раствором гидроокиси натрия до значения pH (3,78 ± 0,05) ед. pH.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 1 мес в склянке из темного стекла.

8.3.2 Приготовление раствора динатриевой соли фенилфосфорной кислоты и 4-аминоантипирина

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,300 ± 0,001) г динатриевой соли фенилфосфорной кислоты и (0,021 ± 0,001) г 4-аминоантипирина, добавляют 80 см^3 дистиллированной воды и аккуратно перемешивают. К раствору добавляют 10 см^3 буферного раствора (8.3.1) и аккуратно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор готовят непосредственно перед проведением анализа.

Реактив хранят в темном месте при температуре (20 ± 5) °С не более 2 ч.

8.3.3 Приготовление осадителя системы цинк—медь

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (150,00 ± 0,01) г цинка сернокислого и (30,00 ± 0,01) г меди сернокислой, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и аккуратно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 3 мес в склянке из темного стекла.

8.3.4 Приготовление раствора аммиака молярной концентрации 3,0 моль/дм^3

8.3.4.1 В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 333 см^3 аммиака водного массовой долей 25 %. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки и аккуратно перемешивают.

Раствор хранят при температуре (20 ± 5) °С не более 1 мес в склянке из темного стекла.

8.3.4.2 Определение концентрации раствора аммиака

В коническую колбу вместимостью 250 см^3 помещают 1 см^3 раствора аммиака молярной концентрации 3,0 моль/дм^3 (8.3.4.1), добавляют 50 см^3 дистиллированной воды, 1—2 капли индикатора метилового оранжевого, аккуратно перемешивают и титруют раствором соляной кислоты молярной концентрации 0,2 моль/дм^3 до перехода окраски от желтой до оранжевой.

Концентрацию раствора аммиака X, моль/дм^3, вычисляют по формуле

$$X = 0{,}2 \cdot V, \qquad (2)$$

где 0,2 — молярная концентрация раствора соляной кислоты, используемого для титрования, моль/дм^3;

V — объем раствора соляной кислоты молярной концентрации 0,2 моль/дм^3, израсходованный на титрование, см^3.

Раствор аммиака хранят в плотно закупоренной посуде. Перед использованием раствор аккуратно перемешивают.

8.4 Проведение измерений

8.4.1 В три пробирки вносят по 1 см^3 исследуемого продукта.

В первую пробирку добавляют 10 см^3 раствора динатриевой соли фенилфосфорной кислоты и 4-аминоантипирина (8.3.2) и аккуратно перемешивают. Пробирку помещают в термостат температурой (36 ± 1) °С.

Через одинаковые промежутки времени, например 1 мин, вышеуказанную операцию проводят последовательно с остальными двумя пробирками. Продолжительность выдерживания каждой из трех пробирок в термостате, контролируемая по секундомеру, составляет 90 мин.

Затем добавляют по 1 $см^3$ осадителя системы цинк—медь (8.3.3), 0,6 $см^3$ раствора аммиака молярной концентрации 3,0 моль/$дм^3$ (8.3.4.1) через те же промежутки времени, как и при смешивании с раствором соли фенилфосфорной кислоты и 4-аминоантипирина, перемешивают после добавления каждого реактива, фильтруют и выдерживают 60 мин при температуре (20 ± 5) °С.

8.4.2 Приготовление контрольной пробы

В три пробирки помещают по 10 $см^3$ раствора динатриевой соли фенилфосфорной кислоты и 4-аминоантипирина (8.3.2) и выдерживают подобно исследуемым образцам при температуре (36 ± 1) °С в течение 90 мин.

Пробирки достают из термостата, добавляют по 1 $см^3$ осадителя системы цинк—медь (8.3.3), 1 $см^3$ исследуемого продукта и 0,6 $см^3$ раствора аммиака молярной концентрации 3,0 моль/$дм^3$ (8.3.4.1) (перемешивание выполняют после каждого добавления), фильтруют и выдерживают 60 мин при температуре (20 ± 5) °С.

Во избежание попадания в содержимое пробирок постороннего фенола пробирки закрывают фольгой, перемешивание выполняется 2-кратным переворачиванием пробирок на 180° и возвращением их в исходное положение.

8.5 Обработка результатов

При полной инактивации кислой фосфатазы в молоке или сливках окраска опытных проб не отличается от окраски контрольных проб. Следовательно, молоко и сливки подвергались пастеризации при температуре 85 °С с выдержкой не менее 30 мин, при температуре 90 °С с выдержкой не менее 5 мин и кипячению; сливки подвергались термической обработке при температуре 103 °С с выдержкой 15—20 с.

В зависимости от активности кислой фосфатазы в молоке и сливках окраска опытных проб изменяет цвет от слабо-розового (но более яркого, чем окраска контрольных проб) до темно-вишневого. Следовательно, наличие активности кислой фосфатазы свидетельствует о несоблюдении режимов термической обработки.

9 Требования безопасности

При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования:

- помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005;
- требования техники безопасности при работе с химическими реактивами в соответствии с ГОСТ 12.1.007;
- требования техники безопасности при работе с электроустановками в соответствии с ГОСТ 12.1.019.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

10 Требования к оператору

Выполнение измерений может проводить специалист, имеющий специальное образование, освоивший метод и уложившийся в норматив контроля точности при выполнении процедур контроля точности.

УДК 637.146.001.4:006.354 МКС 67.100.10

Ключевые слова: молоко и молочные продукты, пастеризация, метод определения пероксидазы, метод определения фосфатазы, метод определения кислой фосфатазы

Редактор *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 13.02.2019. Подписано в печать 18.02.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru