

О. П. Чагаровський, Н. А. Ткаченко, Т. А. Лисогор

**Фальсифікація молока.
Методи визначення.
Практичні рекомендації.**

Київ – 2016

ББК 36.95

УДК 637.12.04/07:[637.147+637.247+637.344]

Чагаровський О. П. Фальсифікація молока. Методи визначення. Практичні рекомендації. Навчальний посібник. /О. П. Чагаровський, Н. А. Ткаченко, Т. А. Лисогор.

Під загальною редакцією заслуженого діяча науки і техніки України, доктора технічних наук, професора, академіка Української Технологічної Академії та Міжнародної Академії Холоду
Чагаровського Олександра Петровича

Рецензенти: Капрельянц Леонід Вікторович – завідувач кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування Одеської національної академії харчових технологій, Заслужений діяч науки і техніки України, доктор технічних наук, професор.

Цісарик Орися Йосипівна – завідувач кафедри технології молока і молочних продуктів Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького, доктор сільськогосподарських наук, професор.

Некрасов Павло Олександрович – професор кафедри технології жирів та продуктів бродіння Національного технічного університету «Харківський політехнічний інституту», доктор технічних наук, професор.

Навчальний посібник «Фальсифікація молока. Методи визначення. Практичні рекомендації» присвячується світлій пам'яті Людині з Великої Літери, професору Грішину Михайлу Олександровичу, який більшу частину свого життя був справжнім Вчителем для багатьох працівників молокопереробної галузі.

Зміст

Передмова

I. Основні терміни та визначення фальсифікації молока

1.1. Вимоги до заготівельного коров'ячого молока (ДСТУ 3662 – 97)

1.2. Способи фальсифікації молока

II. Визначення фальсифікації молока

2.1. Додавання хімічних речовин

2.1.1. Визначення фальсифікації (нейтралізації) молока содою

2.1.1.1. Визначення нейтралізації молока содою з застосуванням бромтимолового синього

2.1.1.2. Визначення нейтралізації молока содою з застосуванням розолової кислоти

2.1.1.3. Визначення нейтралізації молока содою з застосуванням фенолроту

2.1.1.4. Визначення нейтралізації молока содою з застосуванням нейтральроту

2.1.2. Визначення нейтралізації молока аміаком

2.1.3. Визначення наявності перекису водню в молоці

2.1.4. Визначення присутності формаліну в молоці

2.1.5. Визначення наявності миючих засобів в молоці

2.1.5.1. Визначення присутності миючих засобів у молоці методом «краплі»

2.1.5.2. Визначення присутності миючих засобів у молоці методом «піпетки»

2.1.5.3. Визначення присутності миючих засобів у молоці з використанням бромтимолового синього

2.1.5.4. Визначення присутності мила в молоці

2.1.6. Визначення наявності фосфатів у молоці

- 2.1.6.1. Визначення присутності фосфатів за реакцією з нітратом срібла
- 2.1.6.2. Експрес – метод визначення присутності фосфатів з використанням бромтимолового синього
- 2.1.7. Визначення наявності нітратів у молоці
- 2.2. Визначення фальсифікації молока водою
 - 2.2.1. Експрес – метод визначення фальсифікації молока водою
 - 2.2.2. Визначення фальсифікації молока водою ареометричним методом
 - 2.2.3. Визначення фальсифікації молока водою кріоскопічним методом
 - 2.2.4. Визначення фальсифікації молока водою рефрактометричним та розрахунковим методами
 - 2.2.5. Визначення розведення молока водою
 - 2.2.6. Визначення фальсифікації молока водою з використанням сучасних приладів для контролю молока (Ekomilk, FOSS, тощо)
- 2.3. Визначення фальсифікації молока білковими субстанціями
 - 2.3.1. Визначення фальсифікації молока знежиреним молоком
 - 2.3.1.1. Визначення фальсифікації знежиреним молоком ареометричним методом
 - 2.3.1.2. Визначення фальсифікації знежиреним молоком розрахунковим методом
 - 2.3.1.3. Визначення подвійної фальсифікації знежиреним молоком та водою
 - 2.3.2. Визначення наявності в молоці сухого молока (незбираного або знежиреного), сухої сироватки або лужних розчинів казеїну
 - 2.3.2.1. Визначення наявності в молоці сухої сироватки
- 2.4. Визначення фальсифікації молока біополімерами рослинного походження (крохмаль, картопляний відвар, борошно)
 - 2.4.1. Визначення наявності крохмалю в молоці за реакцією з йодом

- 2.4.2. Визначення наявності крохмалю або борошна в молоці методом седиментації
- 2.4.3. Визначення присутності в молоці біополімерів (крохмалю, борошна та інших) шляхом термічного оброблення
- 2.5. Визначення фальсифікації молока крейдою, вапном, гіпсом
- 2.6. Визначення фальсифікації молока борною або саліциловою кислотами
- 2.7. Визначення термічного оброблення молока
- 2.8. Визначення присутності аномального молока у збірному коров'ячому молоці
 - 2.8.1. Визначення аномального молока з використанням препарату «Мастоприм»
 - 2.8.2. Визначення аномального молока з використанням бромтимолової проби
- 2.9. Визначення присутності рослинних жирів у збірному коров'ячому молоці
 - 2.9.1. Хімічні методи визначення
 - 2.9.1.1. Експрес – метод визначення домішок рослинного жиру в молоці за реакцією Цьога
 - 2.9.1.2. Визначення домішок рослинного жиру у молоці за числом Рейхерта–Мейсля
 - 2.9.1.3. Визначення натуральності молочного жиру за йодним числом
 - 2.9.1.4. Визначення присутності рослинних жирів за співвідношенням йодного числа та числа Рейхарта–Мейсля
 - 2.9.2. Можливість визначення домішок рослинних жирів фізичними методами
 - 2.9.3. Ферментативні експрес – тести
- III. Визначення наявності антибіотиків в коров'ячому молоці
 - 3.1. Антибіотики в молоці та їх види
 - 3.2. Законодавчі аспекти щодо наявності антибіотиків в коров'ячому молоці та молочних продуктах
 - 3.3. Сучасні методи визначення антибіотиків в молоці

3.3.1. Ферментативні експрес–тести для визначення антибіотиків β–лактамної групи

3.3.1.1. Інструкція по визначенню антибіотиків за допомогою тесту Penzym 100

3.3.1.2. Інструкція по визначенню антибіотиків за допомогою тесту Penzym 100 S

3.3.2. Хроматографічні експрес–тести для визначення антибіотиків

3.3.2.1. Тести BetaStar

3.3.2.1.1. Інструкція з виконання аналізу на присутність антибіотиків в молоці за допомогою тестів BetaStar

3.3.2.2. Тести BetaStar Combo

3.3.2.2.1. Інструкція з виконання аналізу на присутність антибіотиків в молоці за допомогою тестів BetaStar Combo

3.3.2.3. Тести BetaStar Combo S

3.3.2.3.1. Інструкція з виконання аналізу на присутність антибіотиків в молоці за допомогою тестів BetaStar Combo S

3.3.2.4. Тести BetaStar 4D

3.3.2.4.1. Інструкція з виконання аналізу на присутність антибіотиків в молоці за допомогою тестів BetaStar 4D

3.3.2.5. AccuScan Pro II та AccuScan Gold–прилади для визначення результатів аналізу антибіотиків в молоці тестами BetaStar

3.3.2.6. Інструкція з визначення присутності антибіотиків в молоці експрес–тестом BetaStar 4D за допомогою AccuScan Pro II

3.3.2.7. Інструкція з визначення присутності антибіотиків в молоці експрес–тестом BetaStar 4D за допомогою AccuScan Gold

3.3.3. Мікробіальні тести визначення антибіотиків в молоці

3.3.3.1. Мікробіальні тести Soran (СН–АТК) для визначення антибіотиків в молоці

3.3.3.1.1. Інструкція з визначення антибіотиків за допомогою Soran (СН–АТК) тесту

3.3.3.1.2. Інструкція з визначення антибіотиків за допомогою Soran (СН–АТК) Microplate

3.3.3.2. Мікробіальні тести СМТ для визначення антибіотиків в молоці

3.3.3.2.1. Інструкція з виконання аналізу молока за допомогою СМТ Single Test з використанням Test Tube Incubator

3.3.3.3. Мікробіальні тести ВРТ для визначення антибіотиків в молоці

3.3.3.3.1. Інструкція з виконання аналізу за допомогою тестових наборів ВРТ з використанням інкубатора Test Tube Incubator

IV. Організація контролю за якістю коров'ячого молока та виявлення фальсифікації під час заготівлі

4.1. Організація контролю якості заготівельного коров'ячого молока

4.2. Тест набір (валіза) для визначення фальсифікації коров'ячого молока

4.3. Перелік законодавчих документів та фізико–хімічних, хімічних та мікробіологічних методів контролю за якістю та показниками безпеки заготівельного коров'ячого молока

Список літератури

Передмова

Ідея створення цього навчального посібника виникла на початку 2000 років, коли вітчизняна молокопереробна промисловість відчула катастрофічне погіршення якості заготівельного коров'ячого молока протягом 90-х років минулого століття, а також має місце в теперішній час.

Таку ситуацію на ринку заготівельного коров'ячого молока можна було заздалегідь спрогнозувати, оскільки в аграрному секторі відбулося руйнування радянського колективного господарства (колгоспів та радгоспів), а нові підприємницькі кола, що прийшли в бізнес не змогли запропонувати сучасних ринкових управлінських рішень, як альтернативу соціалістичній плановій економіці. Про це яскраво свідчать статистичні дані щодо виробництва молока в Україні в період з 1991 року до 1996 року. Так, у 1991 році в Україні було вироблено 24,5 млн. тонн коров'ячого молока, серед якого частка сільськогосподарських

підприємств складала 18,6 млн. тонн (76 %), а відповідно молока від населення 5,9 млн тон (24%). В 2000 році мала місце зовсім інша картина, де сільськогосподарські підприємства виробили тільки 3,7 млн. тонн (29 %), в той час як кількість молока від населення вже складала 9,0 млн. тонн (71 %). В 2014 році сільськогосподарські підприємства виробили 2,65 млн. тонн молока (23 %), а кількість молока від населення складала 8,55 млн. тонн (77 %).

Цікавою є також статистична інформація щодо відповідності молока вимогам ДСТУ 3662–97, який було введено в дію з 01.07.2007 р. Так, наприклад, в 2014 році тільки 0,1% переробленого молока (1,66 тис. тонн) було вищого гатунку, 11,8 % (205,2 тис. тонн) – першого гатунку, 83,6 % (1451,6 тис. тонн) – другого гатунку та 4,5 % (78,6 тис. тонн) – негатурного молока. Це свідчить про значне погіршення якості заготівельного коров'ячого молока в порівнянні з молочною сировиною, яка постачалась на молокопереробні підприємства за часів радянської доби.

Зміна орієнтирів у виробництві коров'ячого молока та його дефіцит привели до нового масового ганебного явища – фальсифікації. Фальсифікують в основному молоко, що виробляється населенням, безпосередньо селянами, а також заготівельниками, які збирають та доставляють його на молокопереробні підприємства. Це стало можливим через відсутність контролю за виробництвом молока в приватному секторі, послаблення вимог переробниками у зв'язку з дефіцитом молочної сировини, а також завдяки «пост – радянському» менталітету селян та заготівельників молока, які опрацювали та взяли на озброєння нові методи фальсифікації з метою корегування основних фізико–хімічних показників неякісної молочної сировини до відповідних значень, що вимагає державний стандарт на заготівельне коров'яче молоко – ДСТУ 3662–97. На жаль, слід констатувати, що “схиблена” ментальність певної частини

населення, що використовують неправові та нечесні (no fair play) методи для задоволення своїх бізнес-інтересів торкнулась і представленої на Ваш розсуд даної праці. Справа в тому, що поки автори методичних рекомендацій [2] проводили випробування запропонованих рішень, в одній із відомих українських молокопереробних компаній рукопис методичних вказівок дивним чином опинився у однієї особи – викладача вищого навчального закладу, яка без дозволу авторів розтиражувала та розпочала їх продавати, як власний доробок, порушуючи цим елементарну порядність, професійну етику науковця та авторські права.

Після узагальнення існуючої інформації з фальсифікації молока, яка викладена в літературних джерелах, та багаторічних випробувань у виробничих умовах запропонованих авторами рішень остаточна версія напрацювань по даній темі, що включає в себе експрес- та лабораторні методи визначення додавання різноманітних хімічних субстанцій, сучасні експрес- та мікробіальні методи виявлення антибіотиків, а також описання тест-валізи для практичного застосування запропонованих методик під час заготівлі молока у населення, а також в лабораторіях молокопереробних підприємств подається на Ваш розсуд, шановні читачі. Сподіваємося, що представлена праця буде корисна для працівників молочної промисловості, заготівельників та виробників коров'ячого молока, а також для підготовки професійних кадрів для молочної галузі в період перебудови та реформування молочної галузі на шляху України до Європейського Союзу.

З повагою до Вас,

Генеральний директор
ТОВ «Хр. Хансен Україна»,
заслужений діяч науки і техніки України,
доктор технічних наук, професор,
академік Української Технологічної Академії
та Міжнародної Академії Холоду

I. ОСНОВНІ ТЕРМІНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ФАЛЬСИФІКАЦІЇ МОЛОКА

Очікувана асоціація України з країнами Європейського Союзу викликала необхідність термінових заходів в молочній галузі, які б дозволили в найкоротший час підвищити якість заготівельного молока до європейських стандартів. Це можливо лише за умови постійного діючого контролю не тільки за основними фізико-хімічними показниками молочної сировини, а й ліквідації такого ганебного явища під час заготівлі молока, як його фальсифікація. Для полегшення сприйняття інформації, що буде викладена в

даному навчальному посібнику, наведені наступні визначення: - Що таке натуральне молоко та вироблений із нього молочний продукт, а також що ж представляє собою фальсифікація молока.

Натуральне молоко – продукт нормальної фізіологічної секреції молочних залоз ссавців, одержаний за одне чи кілька доїнь без додавання до нього інших добавок або вилучення певних складників та призначений для подальшого перероблення.

Молочний продукт – виріб, одержаний із молока, який може містити необхідні для його виробництва інгредієнти, в тому числі харчові добавки за умови, що вони ні частково, ні повністю не замінюють складників молока (молочний жир, молочний білок, лактозу, тощо).

Фальсифікацією молока вважається навмисна зміна його натуральності шляхом додавання води, знежиреного молока, зняття вершків, додавання нейтралізуючих та консервуючих речовин, субстанцій замінників основних складників коров'ячого молока – молочного жиру, білків та непритаманних для молочної сировини білків, полісахаридів, біополімерів тощо.

Під час фальсифікації порушується хімічний склад натурального молока, його фізико–хімічні показники та показники безпеки, а також співвідношення між окремими складовими частинами молока, що призводить до змін технологічних, фізико–хімічних, мікробіологічних та органолептичних властивостей молока.

Слід відзначити, що цілий ряд загальноприйнятих технологічних операцій в молочній промисловості такі як сепарування молока з метою відділення жиру, нормалізація молока за вмістом сухих речовин, жиру або білка, гомогенізація молока з метою отримання більш однорідної емульсії, умовно можна віднести до дій, які підпадають під визначення фальсифікації молока, але їх проводять свідомо у зв'язку з обов'язковою необхідністю, продиктованою технологічним процесом виробництва молочних продуктів безпосередньо на молокопереробних підприємствах або на спеціальних заготівельних пунктах молочної сировини.

В даній роботі під **фальсифікацією молока** розглядаються умисні дії, які не передбачені умовами зберігання, транспортування та технологією виробництва молочних продуктів і направлені на зміну фізико–хімічних показників та показників безпеки коров'ячого молока з метою отримання неправомірної вигоди та введення в оману фахівців молокопереробних підприємств та споживачів при оцінці його якості.

1.1. Вимоги до заготівельного коров'ячого молока

Молоко коров'яче, що заготовлюється молокопереробними підприємствами, повинно відповідати вимогам ДСТУ 3662 – 97 «Молоко коровяче незбиране. Вимоги до закупівлі».

Згідно з вимогами чинного стандарту молоко повинно бути отримано від здорових тварин у господарствах, благоприємних за інфекційними захворюваннями. Після видоювання молоко повинно бути профільтровано та охолоджено.

Молоко повинно бути натуральним, незбираним, з чистим, без сторонніх, нехарактерних свіжому молоку присмаків та запахів.

За зовнішнім виглядом та консистенцією молоко повинно бути однорідною рідиною від білого до світло–жовтого кольору, без осаду та згустків. Не допускається змішування молока від здорових та хворих тварин та заморожування молока.

У молоці не допускається наявність інгібуючих речовин (миючих та дезінфікуючих речовин, консервантів, формаліну, соди, аміаку, перекису водню, антибіотиків).

За фізико–хімічними, санітарно–гігієнічними та мікробіологічними показниками якості молоко поділяють на чотири гатунки: екстра, вищий, перший та другий у відповідності з вимогами, наведеними в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Фізико–хімічні, санітарно–гігієнічні та мікробіологічні показники молока

| Найменування показника, одиниці | Норма для гатунку | | | |
|---------------------------------|-------------------|--------|---------|---------|
| | екстра | вищого | першого | другого |
| | | | | |

| | | | | |
|---|---------|---------|-------|-------|
| вимірювання | | | | |
| Кислотність, °Т | 16 – 17 | 16 – 18 | ≤19 | ≤20 |
| Ступінь чистоти за еталоном, група | I | I | I | II |
| Загальне бактеріальне обсіменіння, тис./см ³ | ≤100 | ≤300 | ≤500 | ≤3000 |
| Температура, °С | ≤6 | ≤8 | ≤10 | ≤10 |
| Масова частка сухих речовин, % | ≥12,2 | ≥11,8 | ≥11,5 | ≥10,6 |
| Кількість соматичних клітин, тис./см ³ | ≤400 | ≤400 | ≤600 | ≤800 |

Молоко, яке відповідає вимогам перелічених гатунків, з температурою вище 10 °С, приймається за домовленістю сторін як неохолоджене.

Густина молока всіх гатунків повинна бути не меншою 1027 кг/м³ за температури 20 °С.

Масові частки жиру та білка у молоці повинні відповідати базисним нормам, які затверджені Кабінетом Міністрів України в установленому порядку.

За показниками безпеки молоко всіх гатунків повинно відповідати вимогам, які вказані в табл. 1.2.

Допускається, за згодою сторін, закупати молоко з густиною 1026 кг/м³, при температурі 20 °С, і кислотністю від 15 до 21 °Т, але свіже, незбиране, яке оцінюється на основі стойлової проби першим або другим гатунком, якщо воно за органолептичними показниками, чистотою, загальним бактеріальним обсіменінням, кількістю соматичних клітин, масовою часткою сухих речовин відповідає вимогам даного стандарту.

Таблиця 1.2

Показники безпеки молока

| Найменування показника безпеки, одиниці вимірювань | Гранично допустимий рівень |
|--|----------------------------|
| Токсичні елементи, мг/кг, не більше: свинець | 0,1 |

| | |
|--|-----------------|
| кадмій | 0,03 |
| миш'як | 0,05 |
| ртуть | 0,005 |
| мідь | 1,0 |
| цинк | 5,0 |
| Мікотоксини, мг/кг, не більше: | |
| Афлатоксин В ₁ | 0,001 |
| Афлатоксин М ₁ | 0,0005 |
| Антибіотики, од/г, не більше: | |
| антибіотики тетрациклінової групи | 0,01 |
| пеніцилін | 0,01 |
| стрептоміцин | 0,5 |
| Пестициди, мг/кг, не більше: | |
| гексахлоран | 0,05 |
| ГХЦГ | 0,05 |
| Нітрати, мг/кг, не більше: | 10 |
| Гормональні препарати, мг/кг, не більше: | |
| діетилстільбестрол | Не допускається |
| естрадіол-17 | 0,0002 |
| Радіонукліди, Бк/кг, не більше: | |
| стронцій – 90 | 20 |
| цезій-137 | 100 |

При доставці на підприємство молока, підозрілого на фальсифікацію, а також при систематичній здачі молока низької якості, яке не відповідає вимогам ДСТУ 3662-97, якість молока перевіряють в стойлових пробах, взятих при контрольному доїнні. Для проведення контрольного доїння на молочно-товарну ферму направляється співробітник молокопереробного підприємства (підприємства, яке займається заготівлею молока) не пізніше 48 годин після доставки молока, підозрілого на фальсифікацію. Контрольне доїння повинно здійснюватися в присутності особи, яка відповідає за якість молока на молочно-товарній фермі. Для контролю необхідно брати доїння, аналогічне за часом (ранішнє, денне або вечірнє) тому, від якого було прийнято молоко, підозріле на фальсифікацію.

Доїння повинно здійснюватися в чистий сухий посуд. Молоко зливають у чисті сухі бідони. Необхідно перевіряти

повноту видоювання корів. Після закінчення доїння молоко ретельно перемішують і відбирають пробу металевою трубкою. Кількість відібраного молока повинна бути 0,5 дм³. Відібрані проби пломбують та відразу направляють на дослідження. За результатами аналізів роблять висновок про натуральність молока.

Повної ідентичності хімічного складу молока може й не бути. Якщо показники доставленого на молокопереробне підприємство (підприємство, яке займається заготівлею молока) молока (аналогічного за часом доїння молока, зданому раніше протягом трьох–чотирьох днів) значно відрізняється від показників, отриманих при контрольному доїнні, то, відповідно, молоко фальсифіковане.

1.2. Способи фальсифікації молока

Як засвідчив власний багаторічний досвід співпраці з молокопереробною галуззю, умисну неправомірну фальсифікацію коров'ячого молока здійснюють шляхом: додавання хімічних речовин; додавання води; додавання білковомістких субстанцій молочної сировини; додавання біополімерів рослинного походження; додавання антибіотиків; додавання аномального молока; додавання рослинних жирів та шляхом термічного оброблення молока.

Детальний перелік способів фальсифікації молока та перелік речовин, які використовують для цього наведено нижче.

❖ Додавання хімічних речовин:

- соди;
- аміаку та амонійних солей;
- пероксиду водню;
- формаліну (формальдегіду);
- миючих засобів (мила господарського, миючих і пральних рідин та порошків);
- фосфатів;
- нітратів;
- саліцилової та борної кислот.

- ❖ Додавання води, крейди, вапна, гіпсу.
- ❖ Додавання білкових субстанцій:
 - знежиреного молока;
 - сухого молока (незбираного або знежиреного);
 - сухої сироватки;
 - лужних розчинів казеїну.
- ❖ Додавання біополімерів рослинного походження:
 - крохмалю;
 - картопляного відвару;
 - борошна.
- ❖ Термічне оброблення молока:
 - кип'ятіння;
 - нагрівання до температури вище 80–90 °С.
- ❖ Додавання аномального молока:
 - маститного молока;
 - молозива;
 - стародійного молока.
- ❖ Додавання рослинних жирів.
- ❖ Додавання антибіотиків:
 - тетрацикліну;
 - хлорамфеніколу (левоміцитину);
 - пеніциліну;
 - широкого спектру дешевих антибіотиків.

Перелічені способи фальсифікації та хімічні речовини–фальсифікатори, напевно, не є повністю вичерпними, тому автори будуть вдячні фахівцям, які поінформують нас про можливі методи фальсифікації коров'ячого молока, що не були висвітлені в даному навчальному посібнику.

II. ВИЗНАЧЕННЯ НАТУРАЛЬНОСТІ МОЛОКА

2.1. Додавання хімічних речовин

Одним із найбільш популярних методів фальсифікації молока є додавання в нього різного роду хімічних субстанцій.

Мета фальсифікації:

- нейтралізація підвищеної кислотності молока (сода, аміак, амонійні солі, фосфати);
- подовження терміну зберігання сирого коров'ячого молока (нітрати; формалін, пероксид водню, антибіотики та інші);
- фальсифікація фізико–хімічних показників молока (підвищення густини, масової частки жиру – мило господарське, миючі і пральні рідини та порошки);
- підвищення термостійкості – фосфати.

Вплив на показники молока:

- корегування титрованої кислотності (сода, аміак, амонійні солі, формалін, пероксид водню та інші);
- завищені значення масової частки молочного жиру та густини при додаванні мила господарського, миючих і пральних рідин та порошоків; термостійкості молока – при додаванні фосфатів.

Методи визначення:

- якісний аналіз визначення соди з використанням індикаторів;
- якісний аналіз визначення аміаку із застосуванням реактиву Неслера;
- якісний аналіз визначення формаліну за допомогою кислотного методу Гербера;
- рН–потенціометрія.

2.1.1. Визначення фальсифікації молока содою

Мета фальсифікації:

- нейтралізація підвищеної кислотності молока.

Вплив на показники молока:

- зниження титрованої кислотності та попередження молока від згортання. Нейтралізуючи молочну кислоту, що утворюється у процесі життєдіяльності бактерій, сода (карбонат або бікарбонат натрію) попереджує швидке скисання молока, однак не затримує ріст бактерій в ньому. При нейтралізації сода позбавляє молоко бактерицидних властивостей і тим самим викликає його псування.

Методи визначення:

- якісний аналіз з використанням індикаторів;
- рН–потенціометрія.

Кислотність коров'ячого молока виражають в одиницях титрованої кислотності (в градусах Тернера) та величиною рН при 20 °С.

Титрована кислотність. Титрована (загальна) кислотність за ДСТУ 3662-97 є критерієм оцінки якості молока, що заготовлюється. Титровану кислотність молока виражають в умовних одиницях – градусах Тернера (°Т).

Градус Тернера – це кількість мілілітрів розчину їдкого натрію (калію) концентрацією 0,1 моль/дм³, яка необхідна для нейтралізації 100 см³ молока. При визначенні титрованої кислотності відтитровуються як вільні йони водню, так і зв'язаний водень. Титрована кислотність свіжовидоєного молока складає 16-18 °Т. Вона обумовлюється кислими солями – моно- та дигідрофосфатами, моно- та дигідроцитратами (близько 9-13 °Т), білками – казеїном та сироватковими (4-6 °Т), вуглекислою, кислотами (молочною, лимонною, аскорбіновою, вільними жирними тощо) та іншими компонентами молока (1-3 °Т).

При зберіганні сирого молока титрована кислотність підвищується по мірі розвитку в ньому мікроорганізмів, які зброджують молочний цукор з утворенням молочної кислоти. Підвищення кислотності викликає небажані зміни властивостей молока, наприклад зниження стійкості білків до нагрівання. Тому молоко з кислотністю 21 °Т приймають як несортове, а молоко з

кислотністю вище 22 °Т не підлягає прийманню на молокопереробних підприємствах.

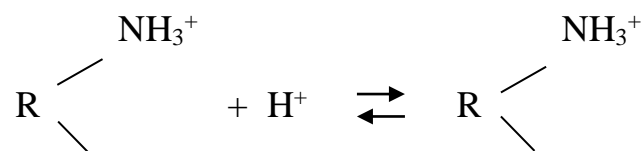
Хоча титрована кислотність є критерієм оцінки свіжості та натуральності сирого молока, слід пам'ятати, що молоко може мати підвищену (до 26 °Т) або понижену (менше 16 °Т) кислотність, але його все ж не можна вважати недоброякісним або фальсифікованим, оскільки воно терmostійке та витримує кип'ятіння або дає негативну реакцію на наявність соди, аміаку та домішок інгібуючих речовин. Відхилення природної (нативної) кислотності молока від його фізіологічної норми в цьому випадку пов'язано з порушенням раціонів кормління. Таке молоко приймається як сортове на основі стойлової проби, яка підтверджує його натуральність.

Більш точно кислотність молока можна контролювати, використовуючи потенціометрію.

Активна кислотність. Водневий показник свіжого молока, який відображає концентрацію йонів водню, коливається (в залежності від складу молока) у досить вузьких межах – від 6,55 до 6,75. При титрованій кислотності сирого молока вище 18 °Т, коли відбувається утворення молочної кислоти, рН знижується незначно. Повільне зниження рН пояснюється наявністю в молоці ряду буферних систем – білкової, фосфатної, цитратної, бікарбонатної тощо.

Буферні системи, або буфери, володіють властивістю підтримувати постійне значення рН середовища при додаванні кислот або лугів. Буферні системи складаються з слабкої кислоти та її солі, утвореної сильною основою, або з суміші двох кислих солей слабкої кислоти. Наприклад, бікарбонатний буфер включає H_2CO_3 та NaHCO_3 , фосфатний – NaH_2PO_4 та Na_2HPO_4 і т.д.

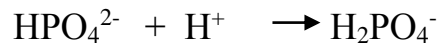
Буферні властивості білків молока пояснюються наявністю аміних та карбоксильних груп. Карбоксильні групи вступають в реакцію з йонами водню молочної кислоти, яка утворилась при бродінні молочного цукру:





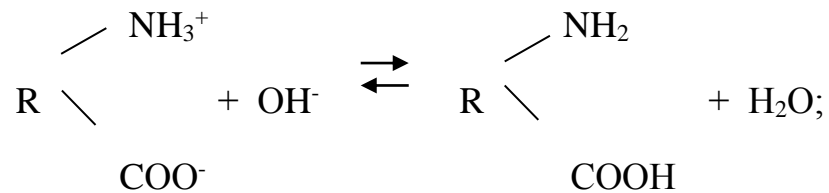
Кислотна дисоціація білків незначна, тому концентрація йонів водню залишається постійною, в той час як титрована кислотність підвищується, оскільки при її визначенні в реакцію з лугом вступають як активні, так і зв'язані йони водню.

Буферна властивість фосфатів полягає у взаємному переході гідрофосфатів в дигідрофосфати і назад. При утворенні кислоти частина гідрофосфатів переходить в дигідрофосфати:

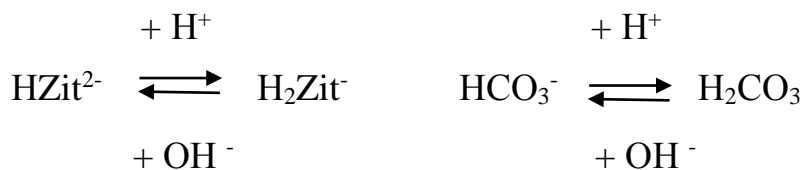


Оскільки аніон H_2PO_4^- слабо дисоціює на йони H^+ та HPO_4^{2-} , рН молока майже не змінюється, а титрована кислотність зростає.

При додаванні до молока лугів білки та фосфати реагують наступним чином:



Цитрати та бікарбонати при додаванні кислот або лугів вступають в реакцію з йонами H^+ та OH^- аналогічно фосфатам:



Зміни рН молока при додаванні до нього кислоти або лугу відбудуться в тому випадку, коли буде перевищена буферна ємність систем молока. Буферна ємність молока – це кількість кислоти або лугу, яку необхідно додати до 100 см³ молока, щоб змінити величину рН на одиницю.

Наявність буферних систем в біологічних рідинах має велике значення – це свого роду захист живого організму від можливої

різкої зміни рН, яка може несприятливо або згубно впливати на нього. Буферна властивість складових частин молока відіграє велику роль в життєздатності молочнокислих бактерій при виробництві кисломолочних продуктів та сиру.

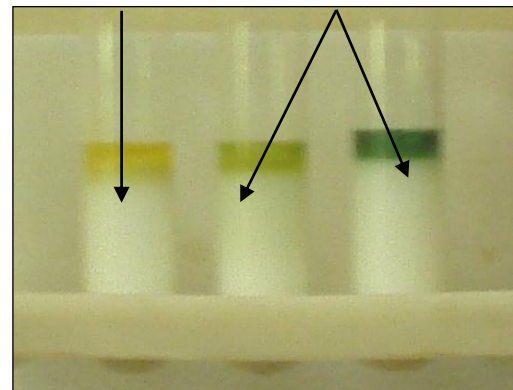
2.1.1.1. Визначення нейтралізації молока содою із застосуванням бромтимолового синього

Метод ґрунтується на зміні забарвлення розчину індикатора при додаванні його в молоко, яке має домішку соди. Чутливість методу складає 0,05 % доданого карбонату або бікарбонату натрію.

Готують розчин бромтимолового синього. Наважку бромтимолового синього масою 0,1 г, зважену з похибкою $\pm 0,001$ г, переносять в мірну колбу місткістю 250 см³ і доливають до мітки 96 %-вим етиловим спиртом. В суху пробірку наливають 5 см³ досліджуваного молока і обережно по стінці додають 7-8 крапель розчину бромтимолового синього.

Через 10 хв., не допускаючи струшування пробірки, спостерігають за зміною забарвлення кільця індикатора на молоці. Жовте забарвлення кільця індикатора свідчить про відсутність соди в молоці. Поява зеленого забарвлення різних відтінків (від світло-зеленого до синьо-зеленого) свідчить про присутність соди в молоці.

МОЛОКО БЕЗ СОДИ МОЛОКО З ДОМІШКОЮ СОДИ

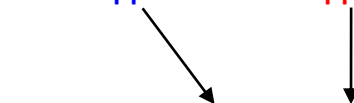


2.1.1.2. Визначення нейтралізації молока содою із застосуванням розолової кислоти

Метод ґрунтується на зміні забарвлення спиртового розчину розолової кислоти при додаванні його в молоко, яке має домішку соди.

В пробірку наливають 3–5 см³ досліджуваного молока і додають таку ж кількість 0,2 %-вого розчину

МОЛОКО БЕЗ СОДИ МОЛОКО З ДОМІШКОЮ СОДИ



розолової кислоти (0,2 г у 100 см³ 96 %-вого етилового спирту). Молоко, яке не має домішку соди, забарвлюється в коричнево-жовтий колір, а молоко, яке містить соду – в малиново-червоний.



2.1.1.3. Визначення нейтралізації молока содою із застосуванням фенолроту

Метод ґрунтується на зміні забарвлення індикатора при додаванні його в молоко, яке має домішку соди.

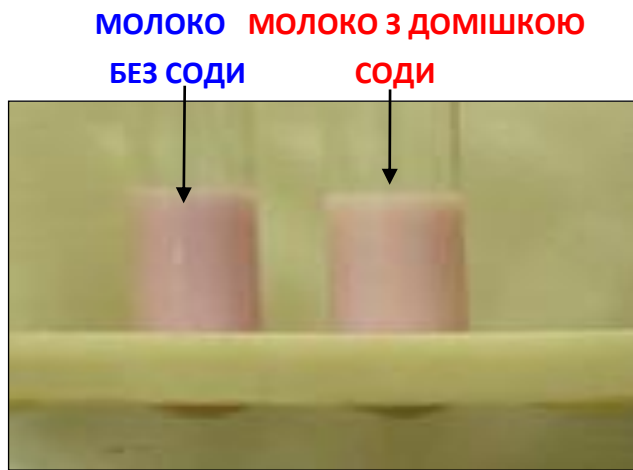
В пробірку наливають 3 см³ досліджуваного молока і додають 3-4 краплі водно-спиртового розчину фенолроту (0,1 мг фенолроту, 20 см³ етилового спирту та 80 см³ дистильованої води). Молоко, яке не містить соди, забарвлюється в помаранчевий колір, а молоко, яке містить соду – в червоний колір.



2.1.1.4. Визначення нейтралізації молока содою із застосуванням нейтральроту

Метод ґрунтується на зміні забарвлення індикатора при додаванні його в молоко, яке має домішку соди.

В пробірку наливають 5 см³ досліджуваного молока і додають 1-2 краплі 1 %-вого водного розчину нейтральроту. Молоко, яке



не має домішку соди, забарвлюється в рожевий колір, а молоко, яке містить соду, має забарвлення від жовто-рожевого до жовтого.

Узагальнено всі методи визначення нейтралізації молока содою із застосуванням індикаторів наведено в табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Визначення наявності соди в молоці з використанням індикаторів

| № з/п | Індикатор | Кількість | | Колір молока з содою | Колір молока без соди |
|-------|---------------------|-------------------|--|---------------------------------------|-----------------------|
| | | молока | індикатора | | |
| 1 | Бромтимоловий синій | 5 см ³ | 7-8 крапель додають по стінці для утворення кільця на молоці | Від світло-зеленого до темно-зеленого | Жовтий |
| 2 | Розолова кислота | 3 см ³ | 3 см ³ | Малиново-червоний | Коричнево-жовтий |
| 3 | Фенолрот | 3 см ³ | 3-4 краплі | Червоний | Помаранчевий |
| 4 | Нейтральрот | 5 см ³ | 1-2 краплі | Від жовто-рожевого до жовтого | Рожевий |

2.1.2. Визначення нейтралізації молока аміаком

Мета фальсифікації:

- нейтралізація підвищеної кислотності молока.

Вплив на показники молока:

- зниження титрованої кислотності та попередження молока від згортання. Нейтралізуючи молочну кислоту, що утворюється у процесі життєдіяльності бактерій, аміак або амонійні солі, попереджують швидке

скисання молока, однак, як і карбонат або бікарбонат натрію, не затримують ріст бактерій в ньому.

Методи визначення:

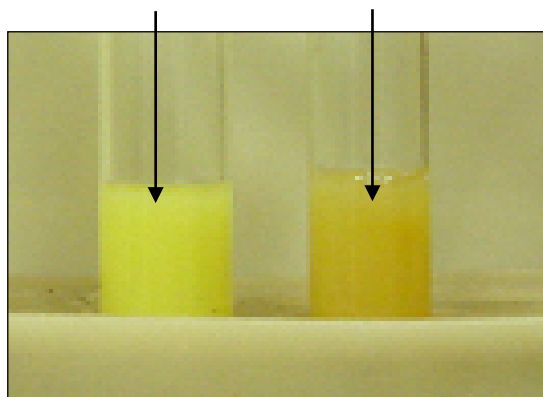
- якісний аналіз визначення аміаку із застосуванням реактиву Неслера.

Наявність аміаку в сирому молоці визначають якісним методом згідно ГОСТ 24066-80. За допомогою цього методу можна виявити аміак або солі амонію в сирому молоці вище його природного вмісту. В основі методу лежить специфічна реакція, яка дозволяє визначити наявність аміаку або його солей за зміною забарвлення кольору молочної сироватки при її взаємодії з реактивом Неслера. Вміст аміаку в молоці визначають не раніше, ніж через дві години після закінчення доїння.

В стакан відмірюють циліндром 20 ± 2 см³ молока і нагрівають 2-3 хв. на водяній бані з терморегулятором до 40-45 °С (при проведенні експрес-аналізу можливе використання імпровізованої водяної бані – емальованої кружки ємкістю 1 дм³, наповненої водою, та побутового кип'ятильника). У підігріте молоко додають 1 см³ 10 %-вого розчину оцтової кислоти для коагуляції молока.

Через 10 хв. в пробірку відбирають 2 см³ сироватки, яка виділилась після коагуляції білків, додають 1 см³ реактиву Неслера, перемішують та через 1 хв. спостерігають за зміною кольору сироватки. Світло-жовте забарвлення свідчить про присутність аміаку в молоці в природній концентрації. Помаранчевий колір різної інтенсивності вказує на наявність аміаку вище його природного вмісту.

МОЛОКО БЕЗ АМІАКУ **МОЛОКО З ДОМІШКОЮ АМІАКУ**



2.1.3. Визначення наявності пероксиду водню в молоці

Пероксид водню (пергідроль 30 %-вий) додають в молоко як консервуючу речовину. **МОЛОКО, В ЯКЕ ДОДАНО ПЕРОКСИД ВОДНЮ, НЕПРИДАТНЕ ДЛЯ ПЕРЕРОБЛЕННЯ ТА ВЖИВАННЯ В ЇЖУ!!!**

Мета фальсифікації:

- подовження терміну зберігання сирого молока.

Вплив на показники молока:

- корегування титрованої кислотності.

Методи визначення:

- якісний аналіз з використанням йодистого калію та крохмалю.

Наявність пероксиду водню в сирому коров'ячому молоці встановлюють якісним методом за ГОСТ 24067-80 «Метод визначення пероксиду водню». Метод базується на взаємодії доданого в молоко пероксиду водню з йодистим калієм, виділенні йоду, який дає синє забарвлення з крохмалем. Чутливість методу складає 0,01 % пероксиду водню.

Готують розчин сірчаної кислоти: одну частину концентрованої сірчаної кислоти змішують в склянці з трьома частинами води. Готують крохмальний розчин йодистого калію: наважку крохмалю масою 3 г, зважену з похибкою $\pm 0,05$ г, розчиняють в 20 см^3 води та приливають до 80 см^3 киплячої води. Після охолодження до крохмального розчину додають наважку йодистого калію масою 3 г, зважену з похибкою $\pm 0,01$ г, розчинену у $5-10 \text{ см}^3$ дистильованої води. Розчин зберігають в холодильнику та перевіряють періодично з кип'яченим молоком на відсутність синього забарвлення. Зберігати розчин потрібно в темному прохолодному місці не більше 5 діб.

В пробірку до 1 см^3 досліджуваного молока, не перемішуючи, додають дві краплі розчину сірчаної кислоти і $0,2 \text{ см}^3$ крохмального розчину йодистого калію. За зміною кольору вмісту пробірки, поміщеної в штатив, спостерігають, не допускаючи її струшування.

Моментальне посиніння вмісту пробірки або поява окремих плям синього кольору протягом 10 хвилин свідчить, що масова частка пероксиду водню у молоці перевищує $0,01 \%$. Якщо через 10 хвилин синє забарвлення відсутнє – пероксид водню у молоці відсутній.



2.1.4. Визначення присутності формаліну в молоці

Формалін (40%–вий розчин формальдегіду) додають в молоко в якості консерванта. **МОЛОКО, ЯКЕ МІСТИТЬ ФОРМАЛІН, НЕ ПРИДАТНЕ ДЛЯ ПЕРЕРОБЛЕННЯ ТА ВЖИВАННЯ В ЇЖУ!!! ТАКЕ МОЛОКО УТИЛІЗУЮТЬ АБО ВИКОРИСТОВУЮТЬ НА КОРМОВІ ЦІЛІ.**

Мета фальсифікації:

- подовження терміну зберігання сирого молока.

Вплив на показники молока:

- при визначенні масової частки жиру та сухого знежиреного молочного залишку отримують завищені показники.

Методи визначення:

- якісний аналіз визначення формаліну за допомогою кислотного методу Гербера.

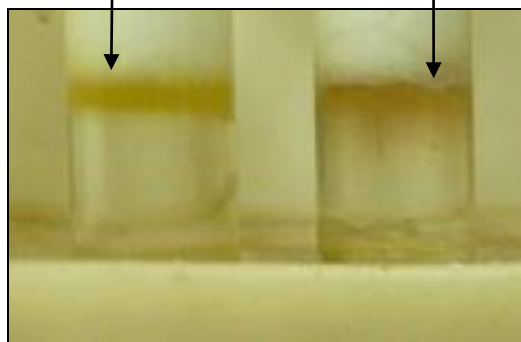
Готують суміш сірчаної та азотної кислот для визначення: до 100 см^3 сірчаної кислоти густиною $1,820\text{--}1,825 \text{ кг/м}^3$ додають одну краплю азотної кислоти густиною $1,30 \text{ кг/м}^3$.

В пробірку наливають 2-3 см³ суміші кислот, потім обережно приливають таку ж кількість молока. При додаванні молока пробірку слід тримати в нахиленому положенні так, щоб рідини не змішувались, а нашарувались одна на іншу.

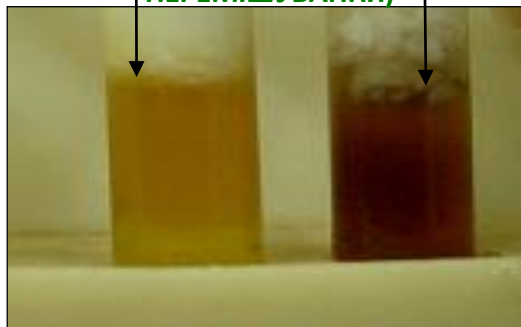
При наявності формаліну відразу або через 1-2 хвилини після додавання молока на місці контакту двох рідин з'являється кільце фіолетового або темно-синього кольору; при відсутності формаліну – слабке жовтувато-буре кільце.

Після обережного обертання пробірки круговими рухами навколо осі суміш кислот при наявності в молоці формаліну забарвлюється у фіолетовий або темно-синій колір, при відсутності – у жовтувато-бурий колір.

МОЛОКО БЕЗ ФОРМАЛІНУ **МОЛОКО З ДОМІШКОЮ ФОРМАЛІНУ**
(БЕЗ ЗМІШУВАННЯ)



МОЛОКО БЕЗ ФОРМАЛІНУ **МОЛОКО З ДОМІШКОЮ ФОРМАЛІНУ**
(ПІСЛЯ ПЕРЕМІШУВАННЯ)



2.1.5. Визначення наявності миючих засобів у молоці

Мета фальсифікації:

- надання неправдивої інформації про вміст жиру в молоці та його густину.

Вплив на показники молока:

- при застосуванні для визначення жиру в молоці стандартного методу (кислотного методу Гербера) та ареометричного методу для визначення густини показники набувають підвищених значень.

Методи визначення:

- використання фізико-хімічних властивостей миючих засобів як поверхнево-активних речовин;
- використання хімічної реакції з AgNO_3 , що приводить до зміни кольору молока за рахунок наявності фосфатів як головних складових миючих засобів;
- з використанням індикатора бромтимолового синього;
- з використанням термооброблення та фенолфталеїну.

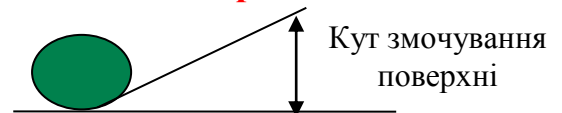
2.1.5.1. Визначення присутності миючих засобів у молоці методом краплі

а/ на скляну пластинку нанести краплю високожирних вершків. Крапля високожирних вершків не розтікається на пластині.

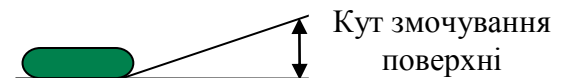
б/ на скляну пластину нанести краплю молока. Крапля зберігає свою форму за рахунок поверхневого натягу.

в/ на скляну пластину нанести краплю молока. Якщо воно містить поверхнево-активні речовини (мило господарське, миючі і пральні рідини та порошки), тоді крапля швидко розтікається по пластині не зберігаючи форму.

Крапля вершків 30–40 %-вої жирності



Крапля молока



Крапля молока, яке містить ПАВ



2.1.5.2. Визначення присутності миючих засобів у молоці методом піпетки

а/ молоко, що містить багато молочного жиру повільно витікає з піпетки. Швидкість утворення краплі триває від 2 до 8 сек.

б/ молоко, що містить миючі засоби (господарське мило, пральні порошки та рідини) швидше сповільнює піпетку. Швидкість утворення краплі триває від 1 до 2 сек.

в/ у випадках високої концентрації миючих засобів в молоці воно може витікати з піпетки без утворення крапель.

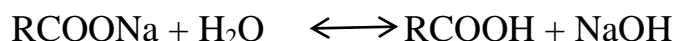


2.1.5.3. визначення присутності миючих засобів у молоці з використанням бромтимолового синього

Крім наведених способів визначення присутності миючих засобів у молоці можливо визначення їх шляхом порівняння результатів визначення нейтралізації молока содою із застосуванням бромтимолового синього та розолової кислоти. Якщо при визначенні нейтралізації молока содою з застосуванням розолової кислоти результат негативний, а із застосуванням бромтимолового синього – позитивний з утворенням інтенсивного жовтого кольору, можна стверджувати, що молоко містить миючі засоби.

2.1.5.4. Визначення присутності мила в молоці

Метод заснований на тому, що мило у водному розчині гідролізується:



В цьому випадку додавання мила до молока приводить до нейтралізації молочної кислоти, яка виникла при трансформації лактози мікроорганізмами, що присутні в молоці. За рахунок реакції нейтралізації має місце корегування значень титрованої кислотності молока в сторону зниження абсолютних величин, а також зсув показника активної кислотності рН в лужне середовище.

Величини змін титрованої кислотності та рН залежать від кількості доданого мила. Таким чином, додавання мила в молоко дозволяє

- фальсифікувати молоко за титрованою кислотністю та рН,

а також впливає на реальні значення вмісту жиру в молоці при визначенні його кислотним методом Гербера (має місце завищення вмісту жиру).

Для виконання якісного аналізу в пробірку додають 3–5 см³ молока, 2–3 краплі фенолфталеїну, нагрівають до кипіння і витримують 5 хвилин. У випадку присутності мила, суміш в пробірці забарвлюється у рожевий колір.

2.1.6. Визначення наявності фосфатів у молоці

Мета фальсифікації:

- надання неправдивої інформації про термостійкість молока.

Вплив на показники молока:

- при застосуванні для визначення жиру в молоці стандартного методу (кислотного методу Гербера) показники набувають підвищених значень. Внесення фосфатів натрію (калію) у кількості, яка перевищує 0,4 %, може призвести до погіршення органолептичних показників молока, зокрема, до виникнення гіркуватого присмаку.

Методи визначення:

- використання хімічних реакцій, що приводять до зміни кольору молока, зокрема, взаємодія з нітратом срібла (молібдатом амонію), в результаті чого утворюється осад фосфату срібла жовтого кольору;
- з використанням індикатора бромтимолового синього.

2.1.6.1. Визначення присутності фосфатів за реакцією з нітратом срібла

2.1.7. Визначення наявності нітратів у молоці

Молоко, як правило, містить незначну кількість нітратів (0,2-0,8 г/кг) та нітритів (2-3 мкг/кг). Нітрати переходять у корми з ґрунту. Нітрати кормів та нітрити, які утворюються з них у рубці корови, майже повністю розкладаються в організмі тварини. При надмірній кількості нітратів в деяких кормах (силосі, гідролізних дріжджах тощо) може спостерігатись більш активний перехід нітратів та нітритів у молоко. Нітрати й нітрити дуже шкідливі для людини, оскільки ініціюють утворення в молочних продуктах та організмі людини N-нітрозамінів, які стимулюють розвиток ракових пухлин в організмі людини. Останнім часом у молоко додають нітрати для подовження терміну його зберігання. Нітрати натрію (калію), які додають у молоко, добре дисоціюють у молоці і сприяють підвищенню в ньому осмотичного тиску, що пригнічує розвиток деяких груп мікроорганізмів і сприяє подовженню тривалості зберігання.

Мета фальсифікації:

- подовження терміну зберігання сирого молока за рахунок гальмування росту мікроорганізмів.

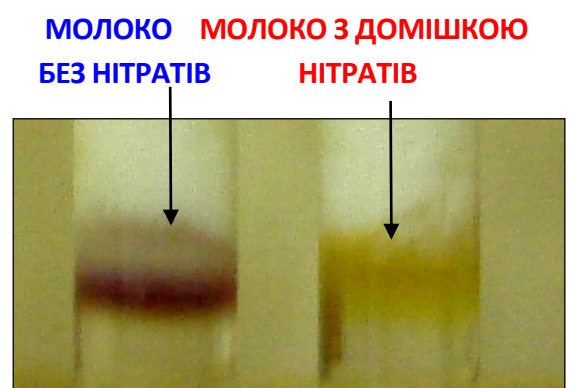
Вплив на показники молока:

- гальмується наростання титрованої кислотності в молоці, що завищує його сортність.

Методи визначення:

- за реакцією з формаліном.

У пробірці змішують 5 см³ молока з 2 краплями 10 %-вого розчину формаліну. В іншу пробірку беруть близько 3 см³ хімічно чистої сірчаної



кислоти густиною $1,815 \text{ г/см}^3$ і на неї обережно наливають приготовану суміш молока з формаліном. Можна для цієї реакції використовувати розбавлену сірчану кислоту (350 см^3 концентрованої кислоти та 150 см^3 води) і розбавлений формалін (250 см^3 води та 10 крапель формаліну).

Молоко без домішки нітратів після змішування з формаліном і сірчаною кислотою дає фіолетове забарвлення, молоко з домішкою нітратів – жовте.

2.2. Визначення фальсифікації молока водою

Мета фальсифікації:

- збільшення кількості сирого молока для продажу заготівельникам та молокопереробним підприємствам.

Вплив на показники молока:

- зменшується значення густини ($< 1027 \text{ кг/м}^3$);
- зменшується масова частка жиру, білка, сухих речовин.

Методи визначення:

- ареометричний метод (визначення густини);
- криоскопічний метод (визначення точки замерзання);
- рефрактометричний та розрахунковий методи (визначення вмісту сухих речовин та жиру);
- сучасні прилади для контролю молока (Ekomilk, Foss тощо);
- експрес-метод.

2.2.1. Експрес – метод визначення фальсифікації молока водою

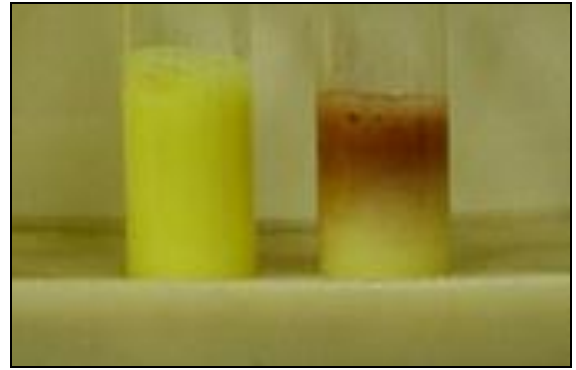
Цей метод дає можливість встановити лише факт фальсифікації молока водою, але не дає можливості встановити масову частку доданої до молока води.

В пробірку наливають 2 см^3

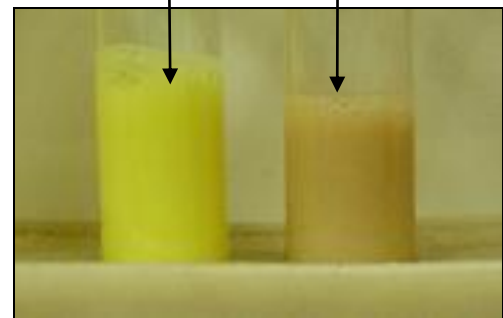


досліджуваного молока, додають 2 краплі 10 %-вого розчину хромовоокислого калію і 2 см³ 0,5 %-вого розчину азотнокислого срібла. Кондиційне молоко забарвлюється в лимонно-жовтий колір, молоко, розбавлене водою – в цегляно-червоний колір різної інтенсивності.

Після перемішування вмісту пробірки з досліджуваним молоком, розбавленим водою, і внесеними реактивами, інтенсивність цегляно-червоного кольору суттєво знижується, але отриманий колір все ж суттєво відрізняється від контрольного зразка.



МОЛОКО БЕЗ ВОДИ **МОЛОКО З ДОМІШКОЮ ВОДИ**
(ПІСЛЯ ПЕРЕМІШУВАННЯ)



2.2.2. Визначення фальсифікації молока водою ареометричним методом

Фальсифікацію молока водою можна визначити непрямим методом – за зміною густини, враховуючи, що вона знижується приблизно на 3 °А при додаванні 10 % води. Слід пам'ятати, що густину молока визначають не раніше, ніж через 2 години після доїння за температури молока 20 °С. Якщо температура молока при визначенні густини відхиляється від зазначеного значення, отримане значення густини молока корегують з використанням спеціальних таблиць.

2.2.3. Визначення фальсифікації молока водою криоскопічним методом

Фальсифікацію молока водою доцільно визначати кріоскопічним методом (за температурою замерзання). Температура замерзання – одна з найбільш постійних властивостей молока, обумовлених концентрацією розчинених в ньому речовин. Точка замерзання свіжого молока від здорових корів складає $(-0,55)$ °С і може коливатись в межах від $(-0,51)$ до $(-0,59)$ °С. При додаванні в молоко води зі зниженням в ньому концентрації розчинених молочного цукру та солей температура замерзання підвищується.

Сутність методу базується на зміні температури замерзання молока в залежності від його розведення водою.

Для визначення температури замерзання використовують ручний кріоскоп з метастатичним термометром. Термометр вставляють в пробку і за допомогою манжети фіксують на відстані 13-15 см від кінця термометра до дна пробірки. Оскільки метастатичний термометр не має нульової точки, її встановлюють, переливаючи ртуть із запасного резервуара в основний і занурюючи основний резервуар в пробірку з бідистильованою водою температурою 0 °С. Нульова точка термометра повинна знаходитися в середній частині шкали, між поділками 2 та 4. Її визначають на початку та по закінченні роботи за точкою замерзання бідистильованої, свідопрокип'яченої та охолодженої води.

Термометр рекомендується тримати у вертикальному положенні, зануреним в пробірку з дистильованою водою температурою 0-10 °С. Перед початком роботи термометр необхідно витримати не менше 1 год. в льоді, який розтає. Термометр обмивають в пробірці дистильованою водою температурою 0-2 °С. При перенесенні термометра в наступний зразок стовпчик ртуті не повинен підвищуватись вище поділок шкали, а на мішалці не повинно бути кристалів льоду.

Точку замерзання бідистильованої води (нульова точка метастатичного термометра) та молока визначають наступним чином. Бідистильовану воду або досліджуваний зразок молока наливають в пробірку до мітки і охолоджують в ємності

первинного охолодження до 1,0–1,5 °С. В охолоджуючу ємність кріоскопа поміщають льодо–соляну суміш з температурою (–4) °С (1,5 кг льоду, 1 дм³ води та близько 100 г кухонної солі). Пробірку зі зразком та термостатичним термометром поміщають в охолоджуючу ємність з температурою (–4) °С, яка постійно підтримується. Протягом всього визначення зразок помішують, при цьому горизонтальна петля мішалки не повинна підніматися вище зразка. Під час падіння стовпчика ртуті термометра на 1,0–1,1 °С нижче передбаченої точки замерзання в пробірку зі зразком через отвір вводять кристалик замороженого зразка, після чого перемішування припиняють на 4–5 сек. Коли стовпчик ртуті починає підніматись, необхідно продовжувати перемішування протягом 30 сек., а потім на 60 сек. знову припинити. Після 90 сек. (після введення кристалика стовпчик ртуті зазвичай зупиняється) зразок 3 рази перемішують, потім злегка постукують по термометру біля точки зупинки стовпчика ртуті, після чого за допомогою лупи відраховують показання за шкалою. Після першого визначення всі операції (перемішування, постукування та відрахування) через 20 сек. повторюють ще 2 рази. Показання точки замерзання визначають з точністю 0,001 °С. Різниця в показаннях другого та третього визначень не повинна перевищувати 0,003 °С, а між показаннями точки замерзання бідистильованої води (нульова точка) та середнім другого і третього визначень складає точку замерзання зразка. З результатів паралельних проб знаходять середнє значення, при цьому вони не повинні відрізнятись більше, ніж на 0,005 °С.

Кількість доданої в молоко води визначають за формулою (1):

$$X = 100 \times (T - T_1) / T, \quad (1)$$

де X – масова частка доданої в молоко води, %; T – температура замерзання натурального молока, °С, $T = (-0,55)$ °С; T_1 – температура замерзання досліджуваного зразка молока, °С.

2.2.4. Визначення фальсифікації молока водою рефрактометричним та розрахунковим методами

Фальсифікацію молока водою можна встановити за зміною масової частки в ньому сухого знежиреного молочного залишку (СЗМЗ). При додаванні в молоко води знижується вміст сухих речовин, жиру, СЗМЗ, а також кислотність та густина. Ступінь фальсифікації молока водою розраховують за формулою (2):

$$B = \frac{СЗМЗ - СЗМЗ_1}{СЗМЗ} \times 100, \quad (2)$$

де В – масова частка доданої в молоко води, %; СЗМЗ – масова частка СЗМЗ стойлової проби, %; СЗМЗ₁ – масова частка СЗМЗ досліджуваної проби молока, %.

Масову частку СЗМЗ у досліджуваному молоці та молоці стойлової проби визначають рефрактометричним методом з використанням спеціального молочного рефрактометра.

Масову частку СЗМЗ у досліджуваному молоці та молоці стойлової проби також можна визначати розрахунковим методом. Для визначення СЗМЗ розроблено формули, за якими його вміст знаходять як функцію густини, масової частки жиру та температури. Формули складено на основі теоретичних розрахунків, в яких є деякі умовності – кожна складена для молока певного складу.

Сьогодні для визначення масової частки СЗМЗ використовують розрахункову формулу (3):

$$СЗМЗ = \frac{D + 2}{4} + 0,225 \times Ж_M, \quad (3)$$

де D – густина молока в градусах ареометра при 20 °С; Ж_М – масова частка жиру в молоці, %.

Масову частку СЗМЗ можна розрахувати також за формулою (4):

$$СЗМЗ = C - Ж_M, \quad (4)$$

де C – масова частка сухих речовин в молоці, %. Сьогодні для розрахунку сухих речовин в молоці використовують змінену формулу (5) Фаррінстона (стандартну):

$$C = \frac{4,9 \times Ж_M + Д}{4} + 0,5, \quad (5)$$

де 4,9 – постійний коефіцієнт; 0,5 – поправка на густину.

Розрахунковий метод визначення масової частки сухих речовин в молоці є найбільш швидким. Однак, слід пам'ятати, що правильність визначення масової частки сухих речовин молока розрахунковим методом залежить від правильності визначення масової частки жиру та густини молока. Похибка у визначенні густини на 0,001 кг/м³ дає похибку у визначенні розрахунком масової частки сухих речовин молока більше 0,2 відсотка. Похибка при визначенні масової частки жиру 0,1 % викликає похибку при розрахунку масової частки сухих речовин більше, ніж на 0,1 %.

2.2.5. Визначення розведення молока водою

а) Змішати молоко і спирт в співвідношенні (1:2) і вилити на блюдечко. Якщо протягом 5–7 с з'являться згустки білка, то досліджуване молоко не розбавлене водою. У випадку, якщо згустки білка з'являться пізніше, то це свідчить, що молоко розведене водою.

б) Натуральне молоко капнути у склянку з водою. Якщо крапля молока повільно опускається на дно склянки, максимально зберігаючи свою форму, то воду в молоко не додавали. Якщо ж крапля молока повільно розпливається у воді, то це є ознакою розбавленого молока.

в) Крапля натурального молока на нігті має випуклу форму. Знежирене або розведене водою молоко розтікається на нігті миттєво.

г) Краплю молока обережно капнути на фільтрувальний папір. Останній поступово поглинає воду, а навколо краплі з'являється вологе кільце. За часом висихання кільця та його площею можна судити про рівень розбавлення молока водою. Чим більше кільце і чим швидше воно висихає, тим більше води додано в молоко. Так, якщо кільце висихає через годину, то в молоко додано близько 10% води, якщо через 0,5 години, то ступінь розведення складає 30%, а

якщо кільце висихає через 15–20 хвилин, то це свідчить, що молоко розведене на 50%.

2.2.6. Визначення фальсифікації молока водою з використанням сучасних приладів для контролю молока (ЕКOMILK, FOSS тощо)

Фальсифікацію молока водою можна визначати також з використанням сучасних приладів для контролю молока згідно з «Інструкцією з використання». При використанні сучасних приладів у пробі молока відразу визначається кілька показників, в т.ч. масова частка доданої до молока води, %.

2.3. Визначення фальсифікації молока білковими субстанціями

2.3.1. Визначення фальсифікації молока знежиреним молоком

Мета фальсифікації:

- збільшення кількості сирого молока для продажу заготівельникам та молокопереробним підприємствам.

Вплив на показники молока:

- збільшується значення густини ($> 1027 \text{ кг/м}^3$);
- зменшується масова частка жиру та сухих речовин, СЗМЗ практично не змінюється або незначно підвищується.

Методи визначення:

- ареометричний метод (визначення густини);
- розрахунковий метод (визначення вмісту сухих речовин та жиру).

2.3.1.1. Визначення фальсифікації молока знежиреним молоком ареометричним методом

Фальсифікацію молока знежиреним молоком можна визначити непрямим методом – за зміною густини, враховуючи, що вона підвищується при додаванні до молока знежиреного молока.

2.3.1.2. Визначення фальсифікації молока знежиреним молоком розрахунковим методом

Фальсифікацію молока знежиреним молоком можна встановити за зміною масової частки в ньому масової частки жиру та сухих речовин. Ступінь фальсифікації молока знежиреним молоком розраховують за формулою (6):

$$O = \frac{Ж - Ж_1}{Ж} \times 100, \quad (6)$$

де O – масова частка доданого в молоко знежиреного молока, %; $Ж$ – масова частка жиру в стойловій пробі, %; $Ж_1$ – масова частка жиру в досліджуваній пробі молока, %.

Для більшої достовірності при встановленні характеру фальсифікації у випадку додавання знежиреного молока розрахунок проводять за формулою (7):

$$Ж_{cp} = \frac{Ж_1}{C_1} \times 100, \quad (7)$$

де $Ж_{cp}$ – масова частка жиру в сухих речовинах молока, %; C_1 – масова частка сухих речовин в досліджуваній пробі молока, %.

Наявність в сухих речовинах молока жиру менше 25 % вказує на те, що до нього додано знежирене молоко або з нього підзняті вершки.

2.3.1.3. Визначення подвійної фальсифікації знежиреним молоком та водою

При одночасному додаванні до молока води та знежиреного молока масова частка жиру, сухих речовин та СЗМЗ знижується, а густина не змінюється або відхиляється незначно в залежності від співвідношення доданих компонентів.

Ступінь фальсифікації молока визначають за формулами (8-10):

а) загальна масова частка доданих води та знежиреного молока, % (8):

$$D = 100 - \left(\frac{Ж_1}{Ж} \times 100 \right), \quad (8)$$

б) масова частка води, доданої до молока, % (9):

$$B = 100 - \left(\frac{СЗМЗ_1}{СЗМЗ} \times 100 \right), \quad (9)$$

в) масова частка знежиреного молока, доданого до молока, % (10):

$$O = D - B, \quad (10)$$

2.3.2. Визначення наявності у молоці сухого молока (незбираного або знежиреного), сухої сироватки або лужних розчинів казеїну

Мета фальсифікації:

- підвищення масової частки сухих речовин (при додаванні сухого незбираного молока), сухого знежиреного молочного залишку (при додаванні сухого знежиреного молока або сухої сироватки) або масової частки білка (при додаванні лужних розчинів казеїну).

Вплив на показники молока:

- підвищується густина молока ($> 1027 \text{ кг/м}^3$);
- підвищується вміст у молоці сухих речовин (сухого знежиреного молочного залишку або білка);
- погіршується здатність молока до сичужного зсідання.

Методи визначення:

- реакція з йодкалієвим крохмалем.

У пробірку вносять 2 см^3 досліджуваного молока і додають 5 крапель йодкалієвого крохмалю, перемішують. Додають 1 краплю 2 %-вого пероксиду водню та збовтують. Сире молоко швидко



забарвлюється в темно-блакитне забарвлення, а відновлене молоко – забарвлення не змінює.

2.3.2.1. Визначення наявності у молоці сухої сироватки

Для визначення у сирому збірному молоці наявності відновленої сухої сироватки у ньому визначають масову частку білка та лактози. При додаванні до молока відновленої сухої сироватки масова частка білка в ньому знижується, а масова частка лактози – підвищується.

Визначення масової частки білка в молоці. Масову частку білка в молоці визначають методом формольного титрування. Даний метод ґрунтується на тому, що нейтральний розчин амінокислот в присутності нейтрального формаліну здатний підвищувати кислотність з утворенням сполук, що містять метильну групу замість 2-х атомів водню.

В колбу відміряють 20 см³ молока, 0,5 см³ (10-12 крапель) 1 %-вого спиртового розчину фенолфталеїну. Суміш перемішують і відтитровують розчином гідроксиду натрію концентрацією 0,1 моль/дм³ до слабо-рожевого забарвлення, яке не зникає при перемішуванні і відповідає еталону. Далі в колбу додають 2 см³ нейтралізованого 40 %-вого (свіжоприготовленого) формаліну і повторно відтитровують розчином гідроксиду натрію концентрацією 0,1 моль/дм³ до появи рожевого забарвлення такої ж інтенсивності, як і при першому титруванні.

Кількість кубічних сантиметрів лугу концентрацією 0,1 моль/дм³, витрачену на титрування після додавання формаліну, необхідно помножити на 0,965. Одержане значення відповідає масовій частці білка в молоці. Його порівнюють зі значеннями, вказаними в табл. 2.3 і роблять висновок про наявність у молоці відновленої сироватки.

Визначення масової частки лактози в молоці. Масову частку лактози в молоці визначають методом Бертрана. На техно-хімічних вагах з точністю до 0,01 г відважують 25 г молока, переносять його в мірну колбу на 500 см³, додають 300 см³ води,

потім 10 см³ розчину мідного купоросу (1-а рідина Фелінга), 4 см³ розчину гідроксиду натрію концентрацією 1,0 моль/дм³, 5 см³ 5 %-вого розчину фтористого натрію. Суміш перемішують, доводять температуру до 20 °С, доливають водою до мітки і після перемішування залишають на 30 хвилин у спокої. Рідину, яка відстоялась, фільтрують через сухий складчастий фільтр в суху колбу. 100 см³ фільтрату переносять піпеткою в конічну колбу ємкістю 250-300 см³, додають по 25 см³ 1-го та 2-го розчинів рідин Фелінга і кип'ятять на проволочній сітці рівно 6 хв., починаючи з моменту закипання рідини. В результаті в рідині випадає червоний осад закису міді.

Рідину відразу фільтрують через фільтр Бунзена при слабкому відсмоктуванні, стараючись не переносити осад на фільтр. Осад закису міді в колбі кілька раз промивають гарячою кип'яченою дистильованою водою, пропускаючи рідину через той же фільтр. Після цього фільтрат і промивні води видаляють і під фільтр підставляють нову чисту колбу (приймальну) для відсмоктування.

В колбу для розчинення осаду закису міді приливають близько 40-50 см³ кислого розчину сірчаноокислого заліза або 40-50 см³ кислого розчину залізо-аміачних квасців. Розчин невеликими порціями фільтрують з відсмоктуванням, обережно перемішуючи його скляною паличкою для розчинення осаду закису міді, який потрапив на фільтр. Після стікання останніх крапель розчину залізоаміачних квасців в приймальну колбу фільтр і колбу, в якій був осад, промивають невеликими порціями гарячої кип'яченої дистильованої води, даючи можливість стікати промивним водам в приймальну колбу з фільтратом. Потім розчин титрують безпосередньо в приймальній колбі для відсмоктування розчином марганцевокислого калію до слабо-рожевого забарвлення.

За числом кубічних сантиметрів марганцевокислого калію, витраченого на титрування, визначають кількість міліграмів міді, відновленої зі 100 см³ фільтрату (що відповідає 5 г молока) за формулою (11):

$$M = A \times K, \quad (11)$$

де М – кількість мг міді; А – кількість см³ розчину перманганату калію, затраченого на титрування; К – титр перманганату калію в мг міді.

Для перерахунку знайденої кількості міді на лактозу користуються таблицею 2.3. Масову частку лактози в досліджуваному молоці визначають за формулою (12):

$$C = \frac{C_1 \times 100}{A}, \quad (12)$$

де С – масова частка лактози, %; С₁ – кількість лактози (в г), знайдена за табл. 2.2; А – наважка продукту, яка відповідає 1/5 частині всієї взятої для аналізу наважки молока.

Таблиця 2.2

Перерахунок кількості міді (в мг) на відповідну кількість лактози (в мг)

| Мідь | Лактоза | Мідь | Лактоза | Мідь | Лактоза | Мідь | Лактоза |
|------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|
| 100 | 71,6 | 113 | 81,3 | 126 | 90,9 | 139 | 100,5 |
| 101 | 72,4 | 114 | 82,0 | 127 | 91,6 | 140 | 101,3 |
| 102 | 73,1 | 115 | 82,7 | 128 | 92,4 | 141 | 102,1 |
| 103 | 73,8 | 116 | 83,5 | 129 | 93,1 | 142 | 102,8 |
| 104 | 74,6 | 117 | 84,2 | 130 | 93,8 | 143 | 103,6 |
| 105 | 75,3 | 118 | 85,0 | 131 | 94,6 | 144 | 104,3 |
| 106 | 76,1 | 119 | 85,7 | 132 | 95,3 | 145 | 105,1 |
| 107 | 76,8 | 120 | 86,4 | 133 | 96,1 | 146 | 105,8 |
| 108 | 77,6 | 121 | 87,2 | 134 | 96,9 | 147 | 106,6 |
| 109 | 78,3 | 122 | 87,9 | 135 | 97,6 | 148 | 107,8 |
| 110 | 79,0 | 123 | 88,8 | 136 | 98,3 | 149 | 108,1 |
| 111 | 79,8 | 124 | 89,4 | 137 | 99,1 | 150 | 108,8 |
| 112 | 80,5 | 125 | 90,1 | 138 | 99,8 | 151 | 109,6 |

Закінчення табл. 2.2

| Мідь | Лактоза | Мідь | Лактоза | Мідь | Лактоза | Мідь | Лактоза |
|------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|
|------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|

| | | | | | | | |
|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|
| 152 | 110,4 | 179 | 130,9 | 206 | 151,4 | 233 | 171,6 |
| 153 | 111,1 | 180 | 131,6 | 207 | 152,2 | 234 | 172,4 |
| 154 | 111,9 | 181 | 132,4 | 208 | 152,9 | 235 | 173,1 |
| 155 | 112,6 | 182 | 133,1 | 209 | 153,7 | 236 | 173,9 |
| 156 | 113,4 | 183 | 133,9 | 210 | 154,4 | 237 | 174,7 |
| 157 | 114,1 | 184 | 134,7 | 211 | 155,2 | 238 | 175,4 |
| 158 | 114,9 | 185 | 135,4 | 212 | 155,9 | 239 | 176,2 |
| 159 | 115,6 | 186 | 136,2 | 213 | 156,7 | 240 | 176,9 |
| 160 | 116,4 | 187 | 136,9 | 214 | 157,4 | 241 | 177,7 |
| 161 | 117,2 | 188 | 137,7 | 215 | 158,2 | 242 | 178,5 |
| 162 | 117,9 | 189 | 138,5 | 216 | 158,9 | 243 | 179,3 |
| 163 | 118,7 | 190 | 139,2 | 217 | 159,7 | 244 | 180,1 |
| 164 | 119,4 | 191 | 140,0 | 218 | 160,2 | 245 | 180,9 |
| 165 | 120,2 | 192 | 140,8 | 219 | 160,9 | 246 | 181,6 |
| 166 | 120,9 | 193 | 141,5 | 220 | 161,7 | 247 | 182,4 |
| 167 | 121,7 | 194 | 142,3 | 221 | 162,4 | 248 | 183,2 |
| 168 | 122,4 | 195 | 143,1 | 222 | 163,2 | 249 | 184,0 |
| 169 | 123,2 | 196 | 143,8 | 223 | 163,9 | 250 | 184,8 |
| 170 | 123,9 | 197 | 144,6 | 224 | 164,7 | 251 | 185,6 |
| 171 | 124,7 | 198 | 145,4 | 225 | 165,6 | 252 | 186,3 |
| 172 | 125,5 | 199 | 146,2 | 226 | 166,4 | 253 | 187,1 |
| 173 | 126,2 | 200 | 146,9 | 227 | 167,1 | 254 | 187,8 |
| 174 | 127,0 | 201 | 147,7 | 228 | 167,9 | 255 | 188,7 |
| 175 | 127,8 | 202 | 148,8 | 229 | 168,9 | 256 | 189,4 |
| 176 | 128,6 | 203 | 149,2 | 230 | 169,4 | 257 | 190,2 |
| 177 | 129,3 | 204 | 149,9 | 231 | 170,1 | 258 | 191,0 |
| 178 | 130,1 | 205 | 150,7 | 232 | 170,9 | 259 | 191,8 |
| | | | | | | 260 | 192,6 |

Кількість доданої до молока відновленої сироватки встановлюють за масовою часткою білка та лактози в ньому, наведеними в табл. 2.3.

Таблиця 2.3

Залежність масової частки білка та лактози у молоці від кількості доданої відновленої сироватки

| Кількість доданої до молока відновленої сироватки, % | Масова частка білка, % | Масова частка лактози, % |
|---|-------------------------------|---------------------------------|
| 0 | 2,80 | 4,50 |
| 10 | 2,62 | 4,67 |
| 20 | 2,44 | 4,84 |
| 30 | 2,26 | 5,01 |
| 40 | 2,08 | 5,18 |
| 50 | 1,90 | 5,35 |
| 60 | 1,72 | 5,53 |
| 70 | 1,54 | 5,70 |
| 80 | 1,36 | 5,87 |
| 90 | 1,18 | 6,04 |

2.4. Визначення фальсифікації молока біополімерами рослинного походження (крохмаль, картопляний відвар, борошно)

Мета фальсифікації:

- надання неправдивої інформації про вміст жиру в молоці та густину молока.

Вплив на показники молока:

- при застосуванні для визначення масової частки жиру в молоці стандартного методу (кислотного методу Гербера) та ареометричного методу для визначення густини показники набувають підвищених значень.

Методи визначення:

- за реакцією крохмалю з йодом;

- методом седиментації;
- шляхом термічного оброблення.

2.4.1. Визначення наявності крохмалю в молоці за реакцією з йодом

Сутність методу полягає в тому, що молоко, в якому є домішки крохмалю, картопляного відвару або борошна, в результаті реакції йоду з крохмалем забарвлюється в синій колір.

Готують 0,5 %-вий

розчин йоду (0,5 г йоду

розчиняють у 96 %-вому

етиловому спирті в мірній колбі на

100 см³ і доливають до мітки

дистильованою водою). В

пробірку вносять 5 см³

досліджуваного молока та 3 см³

0,5 %-вого водно-спиртового

розчину йоду, добре перемішують.

Поява синього забарвлення

свідчить про присутність

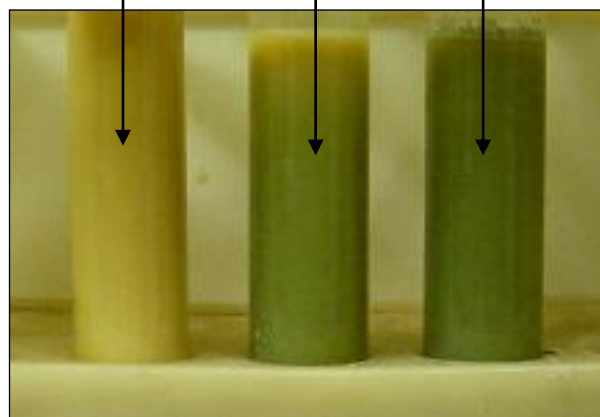
крохмалю або картопляного

відвару, швидке осаджування на

дно синього осаду – про наявність

у молоці борошна.

МОЛОКО БЕЗ ДОМІШОК
МОЛОКО З ДОМІШКОЮ КРОХМАЛЮ БОРОШНА



2.4.2. Визначення наявності крохмалю або борошна в молоці методом седиментації

В прозорий скляний циліндр для ареометра місткістю 150–250 см³ наливають молоко і залишають в спокої протягом 1–2 годин. Після цього візуально оглядають відстояне молоко і в випадку присутності осаду, або видимого розподілення молока на 2 шари судять про присутність чужорідних високомолекулярних субстанцій (найвірогідніше крохмалю або борошна).

У випадку відсутності чіткого розділення молока на шари на початку за допомогою ареометра визначають густину молока в

верхньому шарі скляного циліндру. Після цього 50–100 см³ верхнього шару молока зливають і проводять визначення густини молока в нижньому шарі циліндра за допомогою ареометра. Різниця в значеннях густини молока в верхньому і нижньому шарах більше ніж в 2 одиниці свідчить про фальсифікацію молока біополімерами.

2.4.3. Визначення присутності біополімерів (крохмалю, борошна та інших) в молоці шляхом термічного оброблення

Склянку або інший посуд з молоком нагрівають до температури кипіння. В випадку присутності в молоці крохмалю, борошна та інших схожих за своєю хімічною природою біополімерів в посуді з термічнообробленим молоком утворюється звичайний клейстер.

2.5. Визначення фальсифікації молока крейдою, вапном, гіпсом

Мета фальсифікації:

- надання неправдивої інформації про частину молока та корегування значень титрованої кислотності.

Вплив на показники молока:

- при додаванні крейди, вапна або гіпсу показники густини молока при використанні ареометра набувають підвищених значень, та має місце частковий процес нейтралізації титрованої кислотності молока.

Методи визначення:

- 1) щоб виявити присутність цих домішок у молоці, необхідно процідити 50–100 см³ молока через фільтрувальний папір і в профільзоване молоко додати кілька крапель лимонної або оцтової кислоти. Фальсифіковане молоко на відміну від натурального молока почне пускати бульбашки від виділення вуглекислоти.
- 2) після центрифугування пробірки з молоком на або при витримці її в стані спокою 0,5–1,5 години на дні посуду має місце осад. Також, осад крейди, вапна або гіпсу

утворюється на фільтрувальному папері, через який пропускають молоко.

2.6. Визначення фальсифікації молока саліциловою або борною кислотами

Мета фальсифікації:

- подовження термінів зберігання заготівельного молока.

Вплив на показники молока:

- підвищується значення титрованої кислотності на 0,5–1,5 °Т;
- погіршується термостійкість молока;
- гальмується розвиток мікрофлори під час зберігання.

Метод визначення: застосування синього та червоного лакмусових папірців.

В 2 пробірки вносять по 5 см³ досліджуваного молока. Після цього опускають в одну пробірку синій лакмусовий папірець, а в другу пробірку опускають червоний лакмусовий папірець.

У випадку присутності в молоці борної або саліцилової кислот, синій лакмусовий папірець змінює свій колір на червоний, а червоний лакмусовий папірець не змінює свого кольору.

2.7. Визначення термічного оброблення молока

Сире молоко може бути піддано термічному обробленню (кип'ятінню або нагріванню до температури вище 80 – 90 °С.

Мета фальсифікації:

- подовження терміну зберігання молока, яке заготовлюється, та підвищення його сортності.

Вплив на показники молока:

- зменшується бактеріальне забруднення та підвищується сортність молока;
- знижується значення титрованої кислотності молока (на 0,5 – 1,5°Т);

- погіршується здатність молока до сичужного зсідання (**молоко після кип'ятіння молокозсідальними ферментами не зсідається**);
- у молоці знижується вміст сироваткових білків, які випадають у вигляді молочного каменю на поверхнях теплообмінних апаратів;
- внаслідок порушення сольової рівноваги молоко, яке піддавалося термічному обробленню, при стерилізації згортається.

Методи визначення:

- проба на пероксидазу (реакція з йодокалієвим крохмалем).

У пробірку вносять 5 см³ досліджуваного молока, додають

5 крапель йодокалієвого крохмалю, 5 крапель 0,5 %-вого розчину пероксиду водню і вміст пробірки перемішують. Сире молоко швидко забарвлюється в темно – блакитне забарвлення; молоко, нагріте вище 85 °С або витримане при 75 °С не менше 10 хвилин, забарвлення не змінює.



2.8. Визначення присутності анормального молока у збірному коров'ячому молоці

Анормальним вважається молоко з домішками молозива, а також отримане протягом останніх 7 діб лактації (стародійне), від корів з субклінічною формою маститу та іншими порушеннями стану організму, при яких збільшується кількість соматичних клітин в молоці.

Збірне коров'яче молоко, отримане від здорових корів, містить у 1 см³ до 500 тис. соматичних клітин, анормальне – більше

500 тис. Молоко з високим вмістом соматичних клітин має високу бактеріальну забрудненість і, як правило, може містити недопустимо велику кількість патогенних стафілококів, які мають підвищену біологічну активність і продукують токсини, шкідливі для здоров'я людини.

Мета фальсифікації:

- завищення сортності молока, що заготовлюється за рахунок зміни результатів редуктазної проби внаслідок гальмування процесу відновлення метиленового голубого (резазуріну).

Вплив на показники молока:

- збільшується кількість соматичних клітин, які можуть продукувати токсини;
- змінюється хімічний склад збірного молока, що викликає порушення біохімічних та мікробіологічних процесів при його переробленні. Таке молоко нетерmostійке, погано зсідається молокозсідальним ферментом, тому не може бути використано для виробництва сиру. В ньому повільно розвивається значна кількість промислово-цінних штамів молочнокислих бактерій. Структурно-механічні властивості отриманих з такого молока кислотних та кислото-сичужних згустків відрізняються від згустків, отриманих з нормального молока. Так, вони мають підвищену в'язкість, меншу щільність та гірше відокремлюють сироватку;
- якість молочних продуктів, вироблених із молока з домішками аномального, нижча від якості продуктів, отриманих з нормального молока. Такі продукти можуть містити токсини, що виділяють мікроорганізми, які можуть викликати отруєння людей при вживанні цих продуктів.

Методи визначення:

- з використанням препарату «Мастоприм»;
- бромтимолова проба.

2.8.1. Визначення аномального молока з використанням препарату «Мастоприм»

Метод визначення домішки аномального (маститного) молока у збірному коров'ячому молоці (ГОСТ 23453–79) базується на взаємодії препарату «Мастоприм» з соматичними клітинами, в результаті чого змінюється консистенція молока.

Для приготування розчину препарату «Мастоприм» 2,5 г препарату вносять у мірну колбу місткістю 100 см³ і доливають до мітки дистильованою водою, нагрітою до температури 30-35 °С. Розчин перед використанням перемішують до рівномірного розподілу осаду. При температурі навколишнього середовища нижче 16 °С в розчині випадає значний осад. Перед проведенням аналізу такий розчин необхідно підігріти в термостаті або водяній бані до температури 30–35 °С. Тривалість придатності розчину – 3 міс. Зберігання – при температурі 16–22 °С.

Для проведення дослідження в лунку пластинки ПМК–1 вносять 1 см³ ретельно перемішаного молока і додають 1 см³ 2,5 %-вого водного розчину препарату «Мастоприм». Молоко з розчином препарату інтенсивно перемішують пластмасовою або дерев'яною паличкою протягом 10 сек. Отриману суміш із пластинки неодноразово піднімають паличкою вгору на 5–7 см, після чого протягом не більше 60 сек. оцінюють результати. Домішку аномального молока у збірному коров'ячому молоці визначають за зміною консистенції молока із врахуванням кількості соматичних клітин у відповідності з табл. 2.4.

Таблиця 2.4

Залежність кількості соматичних клітин в молоці від консистенції згустку

| № з/п | Характеристика консистенції молока | Кількість соматичних клітин в 1 см ³ молока |
|-------|---|--|
| 1 | Однорідна рідина або слабкий згусток, який злегка тягнеться за паличкою у вигляді нитки | до 500 тис. |
| 2 | Виражений згусток, при перемішуванні якого гарно видно | від 500 тис. до 1 млн. |

| | | |
|---|--|---------------|
| | виямку на дні лунки пластинки. Згусток не викидається з лунки | |
| 3 | Щільний згусток, який викидається паличкою з лунки пластинки | більше 1 млн. |

2.8.2. Визначення анормального молока з використанням бромтимолової проби

а) Бромтимолова проба базується на визначенні величини рН збірного коров'ячого молока. Величина рН нормального молока зазвичай не перевищує 6,8. При захворюванні вимені (маститі) значення рН підвищується і кілька крапель розчину бромтимолу, доданого до маститного молока, надають йому зеленуватого забарвлення.

Для визначення готують 0,2 %–вий розчин бромтимолблау в 60 %–вому етиловому спирті. В заглиблення на фарфоровій пластинці наносять по 2 краплі молока і 1 краплю 0,2 %–вого розчину бромтимолблау в 60 %–вому етиловому спирті. Змішують обережно і спостерігають за забарвленням. Нормальне молоко дає оливково–жовте забарвлення. Молоко, отримане від корів зі слабкою формою маститу, дає синьо–зелене або інтенсивно–зелене забарвлення, обумовлене зниженою концентрацією водневих йонів. При сильній формі маститу молоко інколи набуває жовтого забарвлення, що характеризує підвищення концентрації йонів водню.

б) При визначенні анормального молока з використанням бромтимолової проби експрес–методом замість фарфорової пластинки використовують фільтрувальний папір, на який наносять по 1 краплі розчину бромтимолблау. Після висихання розчину на папері залишаються жовті круги бромтимолблау. Краплю досліджуваного молока капають на кружок індикатора і спостерігають зміну забарвлення.

2.9. Визначення присутності рослинних жирів у збірному коров'ячому молоці

Мета фальсифікації:

- завищення масової частки жиру у збірному коров'ячому молоці.

Вплив на показники молока:

- при визначенні масової частки жиру кислотним методом Гербера отримують завищені значення.

2.9.1. Хімічні методи визначення

- За реакцією Цьога (видозміна Оржеховського) – експрес–метод.
- За числом Рейхерта–Мейсся.
- За йодним числом.
- За співвідношенням йодного числа до числа Рейхерта–Мейсся.

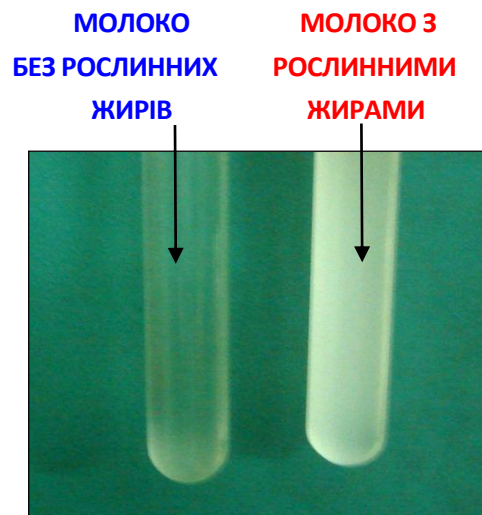
Для визначення домішок рослинного жиру в збірному молоці необхідно виділити жир у чистому вигляді, тобто вивільнити його від білкових оболонок. Як розчинники білків використовують сильні розчини кислот або лугів. Стандартний метод виділення жиру з молока називають кислотним, оскільки використовують сірчану кислоту. Даний метод ґрунтується на виділенні жиру з молока під дією концентрованої сірчаної кислоти та ізоамілового спирту з подальшим центрифугуванням.

Для виділення жиру з молока змішують у пробірці з діаметром 16 мм рівні об'єми соляної кислоти густиною 1,81–1,82 г/см³ та збірного молока (по 20 см³) і додають 2 см³ ізоамілового спирту. Пробірку щільно закривають резиною пробкою, перемішують 5 хв. і центрифугують 5 хв. при 1000 об/хв. Після центрифугування пробірку витримують у водяній бані з температурою (65±2) °С протягом 5 хв. Відцентрифугований жир відбирають і визначають наявність в ньому домішок рослинних жирів.

2.9.1.1. Експрес – метод визначення домішок рослинного жиру в молоці за реакцією Цьога

У пробірку наливають 20 см³ льодяної оцтової кислоти або суміші, що складається з 3-х частин етилового спирту, 6 частин ефіру та 1 частини гідроксиду натрію концентрацією 0,1 моль/дм³, потім додають 1 г розтопленого досліджуваного жиру. Отриману суміш підігривають до температури 50–60 °С і дуже обережно перемішують.

Натуральний молочний жир в цій суміші добре розчиняється і розчин утворюється прозорим. При наявності у молочному жирі домішок рослинних жирів розчин буде мутним.



2.9.1.2. Визначення домішок рослинного жиру у молоці за числом Рейхерта–Мейссля

Число Рейхерта–Мейссля характеризує вміст у 5 г жиру низькомолекулярних жирних кислот (масляної та капронової), які здатні розчинитись у воді і випаровуватись при нагріванні. Кількісно число Рейхерта–Мейссля виражається об'ємом гідроксиду натрію концентрацією 0,1 моль/дм³, який витрачається на нейтралізацію розчинних у воді насичених жирних кислот, що відганяються з водяною парою з 5 г жиру після його омилення. Число Рейхерта–Мейссля молочного жиру підвищується до середини періоду лактації і знижується у жовтні–листопаді. Жир молока, на відміну від інших жирів, має високе число Рейхерта–Мейссля (табл. 2.5.), тому при підозрі на фальсифікацію за його величиною можна визначити натуральність молочного жиру. Однак, слід зазначити, що незначна кількість рослинного жиру в молочному жирі (менше 15 %) незначно знижує число Рейхерта–Мейссля, особливо в середині лактаційного періоду, коли воно має максимальні значення.

Таблиця 2.5

Значення числа Рейхерта–Мейссля для різних видів жирів

| Жир | Число Рейхерта–Мейссля |
|------------------------------------|------------------------|
| Молочний жир | 20,0 – 32,0 |
| Яловичий жир | 0,25 – 0,50 |
| Баранячий жир | 0,1 – 1,2 |
| Свинячий жир | 0,3 – 0,9 |
| Соняшникова олія | до 0,6 |
| Хлопкова олія | 0,2 – 1,0 |
| Кукурудзяна олія | 0 – 2,5 |
| Соева олія | 0,5 – 0,8 |
| Кокосове масло | 4,0 – 8,0 |
| Замінник молочного жиру «Гелікон» | 0,6 – 0,8 |
| Замінник молочного жиру «Олмікс» | 1,0 – 1,1 |
| Замінник молочного жиру «Пальміра» | 1,0 – 1,2 |
| Ріпакова олія | до 0,8 |
| Пальмове масло | 0,1 – 1,5 |
| Пальмоядрове масло | 4,0 – 7,0 |
| Арахісова олія | 0,3 – 1,8 |
| Оливкова олія | 0,2 – 1,0 |

Омилення жиру. В колбу місткістю 300 см³ відважують (5,0±0,1) г розплавленого і профільтрованого жиру, центрифужною пробіркою додають 2 см³ 50 %-вого розчину гідроксиду натрію і циліндром – 23 см³ гліцерину. Колбу поміщають на електроплитку і нагрівають до кипіння. По мірі нагрівання вміст колби перемішують, намагаючись захоплювати краплі жиру зі стінок. Якщо утворюється піна, колбу на деякий час знімають з електроплитки.

Нагрівання продовжують до тих пір, поки суміш не стане прозорою (приблизно протягом 10–15 хв.). Потім колбу знімають з плитки і залишають при кімнатній температурі для охолодження вмісту до 80–90 °С, після чого в неї циліндром приливають 130 см³ свіжопрочищеної дистильованої води з температурою 80–90 °С.

Відгонка насичених жирних кислот (НЖК). Збирають прибор для відгонки НЖК.

Для цього спочатку під холодильник поміщають мірну колбу місткістю 110 см³, а на колбу – воронку з гладким паперовим фільтром для вловлювання НЖК, нерозчинних у воді.

Потім в колбу з омиленим жиром, яка є перегонною, вносять кілька шматочків пемзи і з бюретки – 50 см³ розчину сірчаної кислоти. Колбу закривають пробкою з крапельвловлювачем, сполученим з холодильником. В холодильник подають воду, використовуючи принцип протитоку.

Перегонну колбу починають повільно підігрівати до тих пір, поки не розплавляться нерозчинні жирні кислоти, потім нагрівання підсилюють. Для попередження термічного розкладу вищих жирних кислот температура електроплитки не повинна перевищувати 270°С. Відгонку проводять до отримання 110 см³ дистилляту. Після цього виключають електроплитку, видаляють мірну колбу з дистиллятом та воронкою. Під холодильник поміщають конічну колбу місткістю 250 см³ для приймання залишків рідини, яка стікає з холодильника. Зібрану рідину в подальшому (при необхідності) використовують для визначення числа Поленське.

Воронку з фільтром промивають 30–40 см³ дистильованої води кімнатної температури. Промивні води відкидають. Воронку з фільтром поміщають на конічну колбу, яка стоїть під холодильником.

Вміст мірної колби охолоджують під потоком води до 20°С. Піпеткою відбирають 100 см³ дистилляту і поміщають його в суху конічну колбу місткістю 250 см³. В колбу додають 2–3 краплі 1 %-вого розчину фенолфталеїну і титрують розчином гідроксиду натрію концентрацією 0,1 моль/дм³ до слаборожевого забарвлення, яке не зникає протягом 30 с.

Обробка результатів. Число Рейхерта–Мейссля (в од.) розраховують за формулою:

$$K = V \times 1,1, \quad (13)$$

де K – число Рейхерта–Мейссля, од. (1 одиниця відповідає 1 см³ розчину гідроксиду натрію з еквівалентною молярною

концентрацією 0,1 моль/дм³, витраченого на нейтралізацію НЖК, відігнаних з водяною парою з 5 г жиру); V – об'єм розчину гідроксиду натрію, витраченого на титрування 100 см³ дистилляту, см³; 1,1 – коефіцієнт перерахунку на 110 см³ дистилляту.

Якщо число Рейхерта–Мейссля у дослідженому жирі менше 20 од., можна стверджувати, що молочний жир містить домішки рослинного жиру.

2.9.1.3. Визначення натуральності молочного жиру за йодним числом

Йодне число – це показник, який характеризує вміст ненасичених жирних кислот в жирі і відображається в грамах йоду, що приєднався в місцях руйнування подвійних зв'язків в молекулах жирних кислот. Для порівняння йодні числа молочного жиру та рослинних жирів приведені в таблиці 2.6.

Таблиця 2.6

Значення йодного числа для різних видів жирів

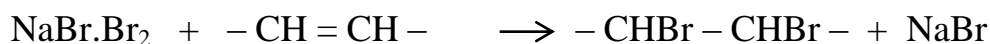
| Жир | Йодне число, г йоду/100 г жиру |
|-------------------|--------------------------------|
| Молочний жир | 25 – 46 |
| Соняшникова олія | 119 – 136 |
| Соєва олія | 120 – 140 |
| Ріпакова олія | 95 – 106 |
| Кокосова олія | 8 – 12 |
| Пальмова олія | 48 – 58 |
| Пальмоядрова олія | 12 – 20 |

У випадку виробництва вершкового масла із молока, натуральність жирової фракції якого викликає сумніви, за допомогою йодного числа можна визначити, чи містила молочна сировина рослинні жири.

Йодне число жиру може бути визначено методом Кауфмана, методом Гюбля, методом Вийса, методом Гануеа або методом Вобурна [20]. Найбільш часто для визначення йодного числа використовують метод Кауфмана.

Принцип методу Кауфмана полягає в тому, що для насичення подвійних зв'язків використовують сполуку, яка утворюється при розчиненні в метанолі бромиду натрію (NaBr).

В присутності ненасичених жирних кислот Br із сполуки NaBr.Br₂ від'єднується та приєднується до подвійних зв'язків жирних кислот за реакцією:



Розчини Br в метанолі мають різкий характерний запах бромиду та властивий йому колір. В розчинах, що містять NaBr, колір змінюється від жовтого до злегка помаранчевого, при цьому запах бромиду відсутній. Бром в таких розчинах не випаровується та не подразнює слизисті оболонки.

У витяжній шафі готують розчин Кауфмана. В 1 дм³ метанолу, що перегнали над оксидом кальцію розчиняють 140 г бромиду натрію, який був завчасно підсушений при 130 °С. Розчин гарно збовтують та залишають у спокої на 24 години, після цього фільтрують через паперовий фільтр. В профільтований розчин додають 5,1 см³ бромиду, перемішують шляхом струшування. Через 10–15 хв розчин Кауфмана готовий до використання.

На лабораторних вагах в колбі зважують необхідну кількість молочного жиру в залежності від очікуємої величини йодного числа (таблиця 2.7.), додають 10–15 см³ хлороформу та обережно збовтують до повного розчинення.

Таблиця 2.7

Залежність маси проби жиру від очікуваного йодного числа

| Величина йодного числа, % йоду | Маса проби жиру, г |
|--------------------------------|--------------------|
| 5 – 20 | 1,0 |
| 20 – 50 | 0,6 |
| 50 – 100 | 0,3 |
| 100 – 150 | 0,2 |
| 150 – 200 | 0,15 |
| Понад 200 | 0,1 |

Потім додають 20 см³ розчину Кауфмана, перемішують, закривають колбу притертим корком, який був змочий йодидом

калію (Kj) та залишають в темному місці при $t = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 1,0–1,5 год.

Одночасно в аналогічних умовах готують контрольну пробу без наважки жиру. Перед титруванням в колби наливають по 20 см^3 10 %-вого розчину йодиду калію та $50\text{--}60\text{ см}^3$ дистильованої води, збовтують йод, що виділився, титрують з одночасним перемішуванням розчину тіосульфату натрію (NaHSO_3) концентрацією $0,1\text{ моль/дм}^3$ до світло-жовтого кольору. Потім додають $1\text{--}2\text{ см}^3$ розчину крохмалю і продовжують титрування до повної втрати синього забарвлення.

Йодне число визначають за формулою:

$$I_{\text{ч}} = (a - b) \times 0,01269 \times K \times (100/m), \quad (14)$$

де a , b – об'єми розчину тіосульфату натрію, що були відтитровані в контрольному та досліджуваному зразках відповідно, см^3 ; K – поправка до титру розчину тіосульфату натрію концентрацією $0,1\text{ моль/дм}^3$; $0,01269$ – титр розчину тіосульфату натрію концентрацією $0,1\text{ моль/дм}^3$ за йодом, г/см^3 ; m – маса досліджуваного зразка жиру, г ; 100 – коефіцієнт перерахунку на 100 г жиру.

За кінцевий результат приймають середнє арифметичне 2-х паралельних визначень, які не відрізняються більше, ніж на 1% .

2.9.1.4. Визначення присутності рослинних жирів за співвідношенням йодного числа та числа Рейхерта–Мейссля

Ефективність використання йодного числа може бути підвищена у випадку застосування пальмового масла для заміни молочного жиру, значення йодних чисел, яких є досить близькими.

В такому випадку для визначення присутності у молочному жирі рослинних жирів слід використовувати співвідношення йодного числа до числа Рейхерта–Мейссля, що дає суттєву різницю у величинах між молочним жиром та рослинними жирами (таблиця 2.8.).

Таблиця 2.8

Співвідношення йодного числа до числа Рейхерта–Мейссля для різних видів жирів

| Жир | Співвідношення йодного числа до числа Рейхерта–Мейссля (моль йоду/моль низькомолекулярних жирних кислот) |
|-------------------|--|
| Молочний | 2,5 |
| Соняшникова олія | 754,2 |
| Соева олія | 356,7 |
| Кукурудзяна олія | 88,1 |
| Ріпакова олія | 509,6 |
| Пальмова олія | 90,8 |
| Пальмоядрова олія | |

2.9.2. Можливість визначення домішок рослинних жирів фізичними методами

Зміна хімічного складу жирової фази молока викликає за собою також зміну його фізичних властивостей, таких як температура плавлення та застигання, оптична густина, в'язкість, показник заломлювання світла та інші. Тому фізичні властивості жирів можуть бути використані при розробці методів з визначення фальсифікації жирової фази молока та молочних продуктів. Як правило, методики визначення фальсифікації жирової фази молока є значно простішими і тому можуть бути базовими для опрацювання експрес-методів.

У випадку наявності в лабораторіях таких оптичних приладів як фотометр, спектрофотометр, флуориметр, люміноскоп можна досить швидко опрацювати власні методики, що дозволять визначати домішки рослинних жирів в молоці та молочних продуктах за оптичними характеристиками. Так, за допомогою фотоколориметра можна відзначити різницю величин оптичної густини фільтратів жирової фракції різних об'єктів молочного жиру та рослинних жирів.

Наступний фізичний метод, що може бути з успіхом застосований для визначення фальсифікації жирової фази молока – це флуорисцентне випромінювання. Воно базується на

фундаментальній властивості люмінесценсії в ультрафіолетових променях багатьох органічних сполук. Так, молочний жир в ультрафіолетових проміннях флуоресцує різними відтінками жовтого кольору, а рослинні жири – фіолетово–блакитним.

III. ВИЗНАЧЕННЯ НАЯВНОСТІ АНТИБІОТИКІВ У КОРОВ'ЯЧОМУ МОЛОЦІ

Широке впровадження антибіотиків у лікувальну практику, як одного із найбільш ефективно діючих інструментів інактивації патогенних та умовно–патогенних (шкідливих) бактерій для людського організму та тварин окрім позитиву принесло і цілий ряд негативних аспектів. Суть їх полягає в можливості набуття резистентності до конкретного антибіотика як мікрофлори людського мікроорганізму та організму тварин, так і безпосередньо самих хвороботворчих бактерій. В зв'язку з цим Міжнародна Організація Охорони Здоров'я (FAO/WHO), а також відповідні інституції країн Європейського Союзу, Північної Америки та інших держав опрацювали цілий ряд законодавчих документів щодо обмеженого вмісту залишків антибіотиків в коров'ячому молоці та іншій сировині, що використовується для виробництва продуктів харчування.

3.1. Антибіотики в молоці та їх види

Антибіотики – це речовини–метаболіти, що виробляються певними групами мікроорганізмів та мають здатність знищувати або пригнічувати ріст мікрофлори.

Присутність антибіотиків в молоці створює проблеми для розвитку молочнокислих бактерій, і відповідно негативно впливає на процес виробництва кисломолочної продукції (кефіру, простокваші, ряжанки, сметани, йогурту, кисломолочного сиру й інших) та сирів. Крім того, наявність антибіотиків в молоці та молочних продуктах в кількостях, що перевищують мінімальні рівні, які представлені в законодавчих документах показників безпеки харчових продуктів Європейського Союзу, а також в

національних стандартах інших країн дозволяє визнати такі вироби непридатними для вживання.

Перелік основних груп антибіотиків, які зустрічаються в заготівельному молоці, спектр та види дії представлені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

**Характеристика основних антибіотиків, які зустрічаються у
молоці**

| Група | Походження | Спектр дії | Вид дії |
|--------------|---|---|--|
| β-лактами | Продукуються мікроорганізмами роду <i>Penicillium</i> та пліснявами <i>Cephalosporium</i> . Виробляються натуральним способом або синтезуються. | 1) <u>Натуральні</u> <i>Penicillina</i> та <i>Cephalosporium</i> мають вузький спектр дії (Gram+ бактерії) 2) <u>Напівсинтетичні</u> <i>Penicillius</i> мають широкий спектр дії (Gram+ та Gram- бактерії) | Бактерицидний за рахунок інгібування синтезу стінок клітин (пептидоглікан) |
| Тетрацикліни | Натуральні продукти роду <i>Streptomyces</i> | Мають широкий спектр дії (Gram+ та Gram- бактерії) | Бактеріостатичний за рахунок інгібування синтезу білків |
| Сульфаноміди | | Мають вузький спектр дії (<i>Str. Pneumoniue</i> , <i>E.coli</i> , β-гемолітичні, стрептококи) | Бактеріостатичний за рахунок вибіркового інгібування шляхом конкурентної дії сульфанілової кислоти препарату |

| | | | |
|----------------|--|--|---|
| Аміноглікоциди | Натуральні продукти <i>Streptomyces</i> | Мають широкий спектр дії (Gram+ та Gram-бактерії) | Бактерицидний за рахунок інгібування синтезу білків |
| Макроліди | | Мають вузький спектр дії (Gram +, <i>Neisseria</i> , <i>Legionella</i> бактерії) | Бактеріостатичний за рахунок інгібування синтезу білків |
| Квінолони | Синтетичне | Мають вузький спектр дії (Gram бактерії) | Бактерицидний за рахунок руйнування ДНК |
| Рифаміцини | Натуральні продукти <i>Streptomyces</i> | Мають вузький спектр дії (Gram+ та деякі Gram- бактерії) | Бактерицидний за рахунок інгібування ДНК |

Закінчення табл. 3.1

| Група | Походження | Спектр дії | Вид дії |
|-----------------------------|-------------------|---|---|
| Хлорамфенікол (левоміцитин) | Група амфеніколів | Має широкий спектр дії (<i>Salmonella</i> , <i>E.coli</i> , <i>Proteus</i> , <i>Brucella</i> spp., <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Leptospore</i> та інші) | Бактеріостатичний за рахунок порушення синтезу білків |

3.2. Законодавчі аспекти щодо наявності антибіотиків у коров'ячому молоці та молочних продуктах

Єдиного Всесвітнього Законодавчого документу про гранично допустимі рівні антибіотиків в молоці та молочних продуктах на сьогоднішній день не існує в зв'язку з тим, що ці величини визначаються самостійно національними державними інституціями. Так, в Україні такими інституціями є Міністерство Охорони Здоров'я та Державна служба з питань безпеки харчових продуктів та захисту прав споживачів. Для країн Північної Америки законодавчим органом є Адміністрація з харчових продуктів та лікарських засобів – Food and Drug Administration.

(FDA). В країнах Європейського Союзу організацією, що встановлює допустимі норми вмісту антибіотиків в молочній промисловості є інституція European Safety Food Authority (ESFA), головний офіс якої розташований в м. Парма (Італія).

Згідно діючих в Україні Медико–біологічних та Санітарних норм якості продовольчої сировини та харчових продуктів та ДСТУ 3662–97 коров'яче молоко щодо вмісту антибіотиків повинно відповідати наступним вимогам (таблиця 3.2.)

Таблиця
3.2

Гранично допустимий рівень антибіотиків у молоці

| Назва показника безпеки, одиниця вимірювання | Гранично допустимий рівень |
|--|----------------------------|
| Антибіотики, од./г, не більше ніж: | |
| антибіотики тетрациклінової групи | 0,01 |
| пеніцилін | 0,01 |
| стрептоміцин | 0,0005 |

В ДСТУ 3662–97 передбачено, що коров'яче молоко при постачанні на молокопереробні підприємства контролюється на вміст антибіотиків згідно з вимогами методичних вказівок «Порядок і періодичність контролю продовольчої сировини і харчових продуктів за показниками безпеки» від 27.07.95 МВ 5.08.07/1232.

Передбачається, що антибіотики в молоці для дитячого харчування визначаються один раз на квартал, а в молоці загального використання – один раз на півроку. Контроль за вмістом залишкових кількостей антибіотиків здійснюється лабораторіями, що мають дозвіл на роботу із забрудниками третьої–четвертої групи ризику. При визначенні антибіотиків в молоці слід користуватися «Методическими рекомендаціями по определению остаточных количеств антибиотиков в продуктах животноводства» №3049. За цими рекомендаціями вміст антибіотиків в молоці визначають мікробіологічним методом дифузії в агар за величиною гальмування росту наступних тест–культур, які вносять в поживне середовище:

- для тетрациклінових антибіотиків – Bac. Cercus ATCC 11778 (чутливість – 0,01 од./г/см³);
- для стрептоміцину – Bac. Mucoidis 537 (чутливість 0,5 од./г/см³);
- для пеніциліну – S. lutea ATCC 9341 (чутливість – 0,01 од./г/см³).

Молоко рекомендується даним методом досліджувати на присутність антибіотиків в тому випадку, коли в ньому були визначені інгібуючі речовини та виключена присутність хімічних інгібуючих субстанцій.

Присутність інших антибіотиків в коров'ячому молоці згідно діючих законодавчих документів не дозволяється. Основними джерелами антибіотиків в молоці є наступні:

- залишки антибіотичних препаратів в молоці під час та після лікування корів;
- додавання антибіотиків в молоко заготівельниками з метою запобігання його прокисання та подовження термінів зберігання.

В українських реаліях має місце постійно діюча практика присутності в молоці широкого спектру антибіотиків, які використовують для лікування та профілактики маститу корів в зв'язку з тим, що виробники молока не дотримуються термінів пов'язаних з виведенням антибіотиків з організму тварин та постачають сировину молокопереробним підприємствам в лікувальний та пост-лікувальний період. Крім того, в Україні має місце парадокс, коли такий антибіотик, як хлорамфенікол (левоміцитин) в зв'язку з його шкідливим впливом на організми, зокрема мутагенною та тератогенною дією, заборонено до реалізації та використання в якості лікувального препарату для людей та тварин в країнах Європейського Союзу (Додаток до IV положення ЄС №2377/90), в той самий час реалізується в українській фармацевтичній мережі.

Причиною тому є неузгодженість дій Міністерства Охорони Здоров'я та Державної Інспекції Ветеринарної Медицини, яка Наказом №23 від 04.04.02 заборонила використання цього препарату для продуктивних тварин та птиці.

Абсолютно очевидно, що такий антибіотик, як хлорамфенікол (левоміцитин) повинен бути також заборонений для використання в системі охорони здоров'я та знятий з реалізації в фармацевтичних мережах України. Крім того, цей антибіотик в зв'язку з його дешевизною та доступністю є найбільш популярним для додавання його в сире коров'яче молоко недобросовісними виробниками та заготівельниками, що приводить до його фальсифікації.

3.3. Сучасні методи визначення антибіотиків у молоці

Молоко, що містить антибіотики є по своїй суті фальсифікованим продуктом, оскільки негативно впливає на технологічні властивості молочної сировини та несе небезпеку для споживачів.

За останні два десятиліття відбувся значний прогрес в опрацюванні нових експрес-методів визначення присутності антибіотиків в молоці. За принципом дії ці методи можна розподілити на наступні:

- ферментативні експрес-тести для визначення антибіотиків β -лактамної групи;
- хроматографічні тести та методи;
- мікробіологічні тести та методи.

3.3.1. Ферментативні експрес-тести для визначення антибіотиків β -лактамної групи Penzym-тести

До цієї групи тестів відноситься Penzym-тест (Пензим Тест), що випускається в 2-х модифікаціях: Penzym 100 та Penzym S 100.

Різниця між цими тестами полягає в тому, що Penzym S 100 є більш чутливим до виявлення мінімальних значень антибіотиків в молоці в порівнянні з Penzym–тестом. Мінімальні рівні чутливості Penzym–тестів та значення максимально допустимих рівнів беталактамів в молоці, що надані в Директиві ЄС 2377/90 від 03.2000 р., представлені в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Чутливість Penzym–тестів до антибіотиків β –лактамної групи

| Антибактеріальні препарати (беталактами) | Penzym 100 | Penzym S 100 | Директива ЄС 2377/90 |
|--|---|---|---------------------------------------|
| | Рівень чутливості (мг/дм ³) | Рівень чутливості (мг/дм ³) | Максимально допустимий рівень (мг/кг) |
| Пеніцилін G–натрієва сіль | 4 – 6 | 2 – 4 | 4 |
| Ампіцилін | 4 – 7 | 3 – 4 | 4 |
| Клоскацилін | 60 – 100 | 60 – 100 | 30 |
| Амоксицилін | 4 – 6 | 3 – 4 | 4 |
| Оксацилін | 30 – 50 | 20 – 30 | 30 |
| Цефтіофур | 40 – 70 | 20 – 40 | 100 |
| Цефепірін | 5 – 7 | 3 – 5 | 10 |

В основі Penzym–тестів лежить колOMETричний аналіз для швидкого виявлення β –лактамної групи антибіотиків протягом 5–8 хвилин. Для цього в Penzym–тестах застосовується принцип каскадної реакції ферментів, починаючи з ферменту DD карбоксипептидази, яка легко блокується беталактамами, створюючи стійкий комплекс (рис. 3.1). Якщо в молоці β –лактами відсутні, то DD карбоксипептидаза буде гідролізувати субстрат R–D–Ala–Ala і таким чином звільняти таку кількість D–Ala, яке залежить від кількості ферменту, що залишився та не увійшов до складу стійкого комплексу. Звільнений субстрат D–Ala після цього окислюється амінокислотою оксидазою, утворюючи при цьому піруватну кислоту та пероксид водню (H₂O₂). Під дією пероксиду водню органічний безбарвний індикатор за рахунок реакції окиснення – відновлення буде змінювати колір від безбарвного до

рожевого в залежності від концентрації антибіотика в молоці. (рис. 3.2).

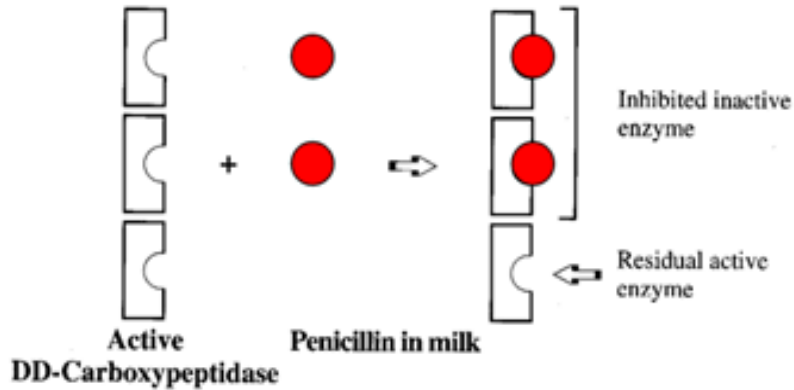


Рис. 3.1 – Блокування DD карбоксипептидази беталактами

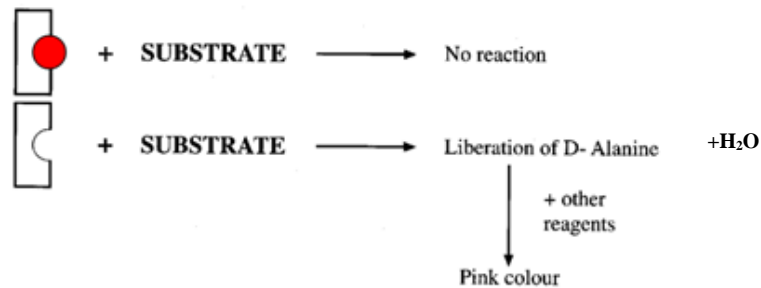


Рис. 3.2 – Зміна кольору індикатора (до рожевого)

Про присутність антибіотиків β-лактамного ряду роблять висновок шляхом порівняння кольору пробірки з таблицею кольорів, що входить до комплекту Penzym-тестів.

Комплектація Penzym-тестів

Комплект тест-набору Penzym 100 містить:

- 1 пляшечку з ліофілізованим ферментом в буфері, вміст якої є достатнім для проведення 100 тестів;
- 1 пляшечку із 100 таблетками, що містять інші реактиви;
- пінцет та таблицю кольорів.

Необхідне обладнання для проведення тестів:

- термостат, що встановлений на 47 °С;
- піпетки та наконечники на 10 та 50 мікролітрів для Penzym 100–теста;
- піпетки та наконечники на 10 та 100 мікролітрів для Penzym S 100–теста;
- шприц з голкою на 1 см³;
- 100 колб Епендорфа місткістю 1,5 см³ та змішувач.

3.3.1.1. Інструкція з визначення антибіотиків за допомогою тесту Penzym 100



Дістаньте набір із холодильника. Візьміть пляшечку № 1 з ліофілізованою DD карбоксипептидазою та обережно зніміть герметичне пакування та гумовий корок.



Налийте в пляшечку 1 см³ дистильованої води, закрийте гумовим короком та ретельно перемішайте до повного розчинення. При бажанні воду можна внести за допомогою шприца, проколовши гумовий корок. Відновлена DD карбоксипептидаза може зберігатися протягом місяця в темному місці при $t = 2-8$ °С.



Додайте 10 мікролітрів в конічну колбу Епендорфа, додайте 50 мікролітрів молока, ретельно перемішайте (бажано використовувати струшувач) термостатувати протягом 5 хвилин при $t=47$ °С.



В термостатовану рідину за допомогою пінцета додайте одну таблетку із пляшечки №2, легенько струсніть колбу, щоб таблетка осіла на дно. Термостатуйте протягом 8 хвилин при 47 °С. після цього витягніть досліджувані зразки та порівняйте їх з табли-

цею кольорів, що постачається разом із тест – набором. Тривалість зняття результатів не повинна перевищувати 15 сек.



Якщо перший результат є сумнівним, то слід провести повторне термостатування при 47 °С протягом 7 хвилин. Після цього порівняти зразок з кольорами в таблиці. Результат може бути визначений як негативний у випадку рожево–помаранчевого кольору зразку. Зазвичай, якщо перше оцінювання свідчить про негативний результат, то й повторні проби його підтвердять.

Якщо зразок має персиковий колір, то результат є близьким до рівня чутливості. Жовтий або жовто – помаранчевий кольори свідчать про наявність антибіотиків в молоці.

3.3.1.2. Інструкція з визначення антибіотиків за допомогою теста Penzym S 100



Дістаньте коробку із холодильника. Візьміть пляшечку № 1 з ліофілізованою DD карбоксипептидазою та обережно зніміть герметичне пакування та гумовий корок.

Налийте в пляшечку 1 мл дистильованої води, закрийте гумовим короком та ретельно перемішайте до повного



розчинення. При бажанні воду можна внести за допомогою шприца, проколовши гумовий корок. Пляшечка може зберігатися при 2 – 8°C в темному місці протягом місяця та бути придатною для аналізу.

Додайте 10 мікролітрів в конічну колбу Епендорфа, ретельно перемішайте (бажано використовувати струшувач). Термостатуйте протягом 7,5 хвилин при t = 47°C.

За допомогою пінцету додайте 1 таблетку до пляшечки №2 в термостативну суміш, обережно струсніть колбу, щоб таблетка

осіла на дно. Термостатуйте при 47°C протягом 15 хвилин.

Дістаньте зразок і проведіть оцінку кольору навколо таблетки згідно таблиці кольорів, що додається до тест – набору. Якщо колір персиково – помаранчевий, зразок вважається негативним, якщо ж колір жовто – помаранчевий або навіть жовтий, то вважають, що антибіотики присутні.

3.3.2. Хроматографічні експрес – тести для визначення антибіотиків.

3.3.2.1. Тести BetaStar.

Представниками цієї групи експрес – тестів є тести БетаСтар, які випускаються в наступних модифікаціях: BetaStar 25, BetaStar 100, BetaStar Combo, BetaStar 4D. З початку появи тестів BetaStar 25 та BetaStar 100, враховуючи актуальні проблеми наявності антибіотиків в молоці не тільки в країнах Європейського Союзу, а також в Східній Європі та країнах Євро – Азійського Союзу (Росія, Білорусь, Казахстан, Киргизстан, Вірменія) були запропоновані спеціальні нові модифіковані тести з більш високою чутливістю до ряду антибіотиків, а також з новим більш широким переліком антибіотиків, що застосовуються в вищезгаданих країнах. Мінімальні рівні чутливості та перелік антибіотиків, що можуть бути визначені за допомогою тестів BetaStar наведені в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4.

Чутливість BetaStar – тестів до антибіотиків

| Назва антибіотику | Рівень чутливості, мг/л | | | | Максимально допустимий рівень (мг/кг) |
|-------------------|-------------------------|--------------|----------------|-------------|---------------------------------------|
| | BetaStar 25 | BetaStar 100 | BetaStar Combo | BetaStar 4D | Директива ЄС 2377/90 |
| | | | | | |

| | | | | | |
|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----|-----|
| Пеніцилін G | 2 – 4 | 2 – 4 | 2 – 4 | 3 | 4 |
| Ампіцилін | 2 – 5 | 2 – 5 | 2 – 3 | 3 | 4 |
| Амоксицилін | 2 – 4 | 2 – 4 | 2 – 3 | 2 | 4 |
| Клоксацилін | 5 – 10 | 5 – 10 | 5 – 10 | 3 | 30 |
| Диклоксацилін | 5 – 10 | 5 – 10 | 5 – 10 | 3 | 30 |
| Оксацилін | 5 – 10 | 5 – 10 | 5 – 10 | 10 | 30 |
| Нафцилін | 8 – 20 | 8 – 20 | 8 – 20 | 10 | 30 |
| Цефтіофур | 75 – 150 | 75 – 150 | 75 – 150 | 15 | 100 |
| Цефквіном | <20 | <20 | <20 | 6 | 20 |
| Цефепірін | 8 – 16 | 8 – 16 | 5 – 10 | 4 | 10 |
| Цефоперазон | не визначається | не визначається | не визначається | 4 | 50 |
| Цефазолін | 40 – 60 | 40 – 60 | 40 – 60 | 20 | 50 |
| Цефалоніум | 7 – 15 | 7 – 15 | 7 – 15 | 3 | 20 |
| Тетрациклін | не визначається | не визначається | 50 | 10 | 100 |
| Окситетрациклін | не визначається | не визначається | 25 – 50 | 10 | 100 |
| Хлортетрациклін | не визначається | не визначається | 25 – 50 | 6 | 100 |
| Докситетрациклін | не визначається | не визначається | 25 – 50 | - | - |
| Стрептоміцин | не визначається | не визначається | не визначається | 200 | 200 |
| Хлорамфенікол | не визначається | не визначається | не визначається | 0,3 | 0 |
| Доксициклін | не визначається | не визначається | не визначається | 2 | 100 |

Комплект експрес – тестів BetaStar – оснований на рецепторному аналізі для швидкого визначення антибіотиків групи β – лактамів (пеніцилін, ампіцилін та інші) в молоці. Такими тестами є BetaStar 25, BetaStar 100, нова модифікація BetaStar Combo, що додатково є чутливою до тетрациклінової групи антибіотиків, а також BetaStar 4D, що спроможний визначати стрептоміцини та хлорамфенікол (левоміцитин). Суть методів BetaStar полягає в наявності специфічних рецепторів β – лактамів, тетрациклінів, хлорамфеніколу, аміноглікоцидів (R), які пов'язані з частинками золота. Протягом термостатування досліджуваних зразків молока з відповідною відомою кількістю рецептора, в випадку присутності антибіотиків β – лактамів, останні будуть взаємодіяти з рецепторами (мал. 3.3). Наступне термостатування зразків молока з хроматографічним папером, що містить смужку біомолекул, що розпізнають рецептори, дозволяє в випадку відсутності антибіотиків (рецептор не вступає в контакт з β – лактамами та іншими) вказаним вище біомолекулам захопити всі молекули рецептора. В результаті цієї дії з'явиться видима червона смужка (полоска), яка свідчить про негативний результат. Позитивний результат (присутність антибіотиків в молоці) має місце в випадку, коли червона смужка (полоска) не з'явилася в зв'язку з тим, що рецептор був блокований

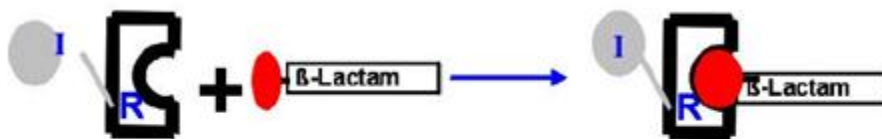
антибіотиком в кількостях, що вказані в таблиці чутливості (табл. 3.4.). Друга червона смужка (полоска) призначена для порівняння (мал. 3.3.).

3.3.2.1. Інструкція з виконання аналізу на присутність антибіотиків в молоці за допомогою тесту BetaStar 25 та BetaStar 100.

Betastar® - це експрес метод для визначення антибіотиків: бета – лактамів/цефалоспоринів (пеніцилін, ампіцилін, цефалоніум тощо) у коров'ячому молоці.



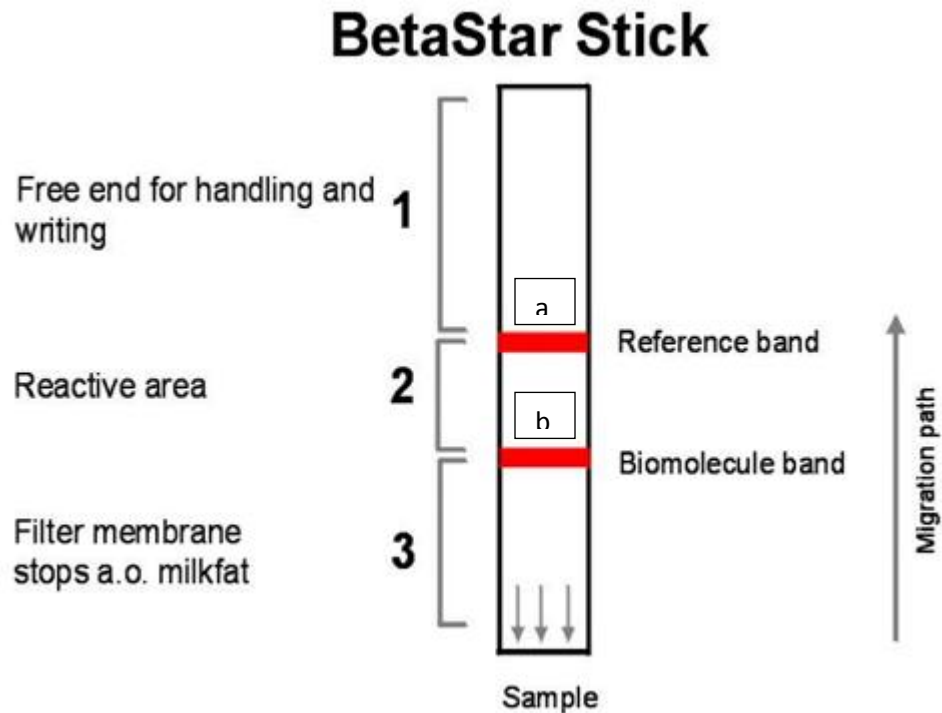
- Betastar® може бути використаний як для перевірки молока від однієї тварини, так і для суміші молока від різних тварин.



I = Indicator: Gold particles

R = Receptor

Мал. 3.2. Взаємодія антибіотиків β – лактамів з рецепторами.



Мал. 3.3. Зображення смужок на тестовому папірці Betastar

а) контрольна лінія (смужка) для порівняння

б) тестова лінія (смужка), яка свідчить про результат аналізу (наявність лінії “b” - “-” аналіз; відсутність лінії “b” - “+” аналіз).

Особливості

- Зразок молока повинен бути відібраний від усього отриманого від корови молока та добре перемішаного.
- Тестування треба проводити після закінчення карантинного періоду. Можливий помилково – негативний результат протягом карантинного періоду не приймається як неспрацьовування тесту.

Підготовка до проведення аналізу

Ввімкніть інкубатор і дайте досягти температури 47.5°C. (інтервал робочої температури становить 47.5°C±1°C).

Перевірте, щоб інкубатор був налаштований на 3 та 2 хв. інкубування.



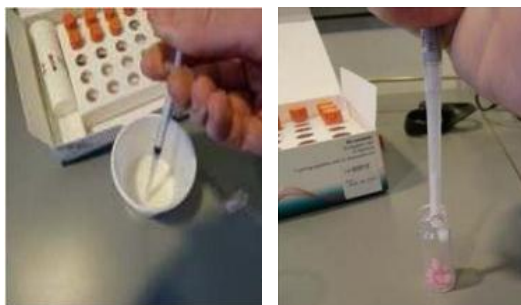
Дістаньте набір Betastar® із холодильника як мінімум за 10 хв. до початку проведення аналізу.

Проведення аналізу

1. Дістаньте флакон із упаковки і обережно постукайте по твердій поверхні для того, щоб весь вміст флакона опустився на його дно.
2. Обережно зніміть пломбу та корок з флакона.
- 3, 4, 5. За допомогою одноразової піпетки відберіть зразок молока (0,2 мл) та перенесіть його у флакон з ліофілізованим рецептором (рожевим



6. Помістіть флакон у лунку інкубатора, нагрітого до 47.5°C.
7. Натисніть на інкубаторі зелену кнопку ▼ для початку першого кроку інкубації (3 хв).
8. Після закінчення першого інкубування (таймер подасть звуковий сигнал) вимкніть таймер натиснувши на зелену кнопку ▼.
9. Чистими сухими руками відкрийте контейнер із тестовими смужками, дістаньте необхідну кількість смужок для



тих зразків в інкубаторі, в яких закінчився перший крок інкубування (3 хв).

Закрийте контейнер із тестовими смужками короком. Не зберігайте тестові смужки поза контейнером. Контейнер тримайте закритим.

10. Вийміть гумовий корок із флакону (із зразком молока) і вставте туди тестову смужку (стілочками до дна флакону).

11. Включіть другий таймер 2 хв – нижньою правою зеленою кнопкою ▼. При цьому в лівому нижньому куті дисплея інкубатора з'явиться світлова лінія.

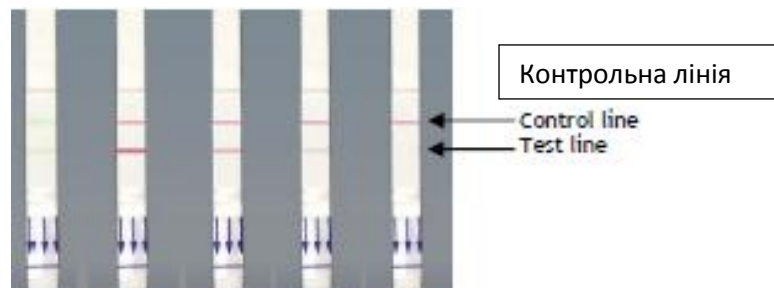


12. Після закінчення другого інкубування (2 хв) таймер подасть звуковий сигнал. Вимкніть таймер, натиснувши на зелену кнопку ▼.

13. Відразу після закінчення інкубації дістаньте тестову смужку із флакона.

14. Візуально здійснити зчитування результату відразу після закінчення 5 хв інкубації:

Зчитування результату аналізу можна здійснити і за допомогою сканера – рідера Accuscan Pro, Accuscan GOLD. Результат автоматично записується, зберігається і може бути пересланий на комп'ютер.



Бета – лактамна тестова
лінія

A B C D F

A. Якщо контрольна лінія відсутня – тест вважається недійсним.



B. У молоці за відсутності антибіотиків груп бета – лактамів, нижня лінія на тестовій смужці буде більш широка, сильніше забарвлена ніж верхня контрольна лінія - результат тесту **«негативний»**.

C, D, F. Якщо тестова лінія відсутня або її забарвлення менш інтенсивне порівняно із контрольною (верхньою) лінією – це означає, що рецептор був повністю або частково блокований присутніми антибіотиками, результат тесту **«позитивний»**.

15. Після проведення аналізу індикаторні смужки можна підписати (вказати інформацію про зразок молока), підсушити (на столі, на аркуші паперу без спеціального підігріву) та підклеїти в журнал аналізів.

Комплект тестів BetaStar 25

До комплекту входять набір для проведення 25 аналізів, який містить 25 пробірок з ліофілізованим рецептором, 25 індикаторних паперових стрічок для визначення антибіотиків, 1 шприц та 25 наконечників.

Необхідне обладнання – термостат для встановлення температури 47,5°C.

Комплект тестів BetaStar 100

До комплекту входить коробка для проведення 100 аналізів, 2 пляшечки з ліофілізованим рецептором та 4 упаковки по 25 індикаторних паперових стрічок для визначення антибіотиків.

Необхідне обладнання – термостат для встановлення температури 47,5°C, піпетки та наконечники на 25 та 100 мікролітрів та 1 піпетка на 1350 мікролітрів, 100 колб Епендорфа ємністю 1,5 мл. BetaStar 100 розрахований на велику кількість аналізів, що вимагає перед використанням розчинення рецептора та перенесення його піпеткою в колби Епендорфа.

3.3.2.2. Тести Betastar® Combo

3.3.2.2.1. Інструкція з виконання аналізу на присутність антибіотиків в молоці за допомогою Betastar® Combo.

Betastar® Combo – це експрес метод для визначення антибіотиків: бета – лактамів/цефалоспоринів (пеніцилін, ампіцилін, цефалоніум тощо), а також тетрациклінів у коров'ячому, козиному та овечому молоці.



- Betastar® може бути використаний як для перевірки молока від однієї тварини, так і для суміші молока від різних тварин.
- Зразок молока повинен бути відібраний від усього отриманого від корови молока та добре перемішаного.
- Тестування треба проводити після закінчення карантинного періоду. Можливий помилково – негативний результат протягом карантинного періоду не приймається як неспрацьовування тесту.

Підготовка до проведення аналізу

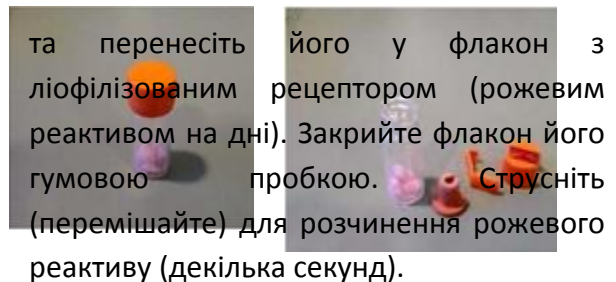
Перевірте, щоб інкубатор був налаштований на 2 та 3 хв. інкубування. Ввімкніть інкубатор і дайте досягти температури 47.5°C. (інтервал робочої температури становить 47.5°C±1°C).



Дістаньте набір Betastar® Combo із холодильника як мінімум за 10 хв. до початку проведення аналізу.

Проведення аналізу

1. Дістаньте флакон із упаковки і обережно постукайте по твердій поверхні для того, щоб весь вміст флакона опустився на його дно.
2. Обережно зніміть пломбу та корок з флакона.
- 3, 4, 5. За допомогою одноразової піпетки відберіть зразок молока (0,2 мл)



та перенесіть його у флакон з ліофілізованим рецептором (рожевим реактивом на дні). Закрийте флакон його гумовою пробкою. Струсніть (перемішайте) для розчинення рожевого реактиву (декілька секунд).

6. Помістіть флакон у лунку інкубатора, нагрітого до 47.5°C.

7. Натисніть на інкубаторі зелену кнопку ▼ для початку першого кроку інкубації (2 хв).

8. Після закінчення першого інкубування (таймер подасть звуковий сигнал) вимкніть таймер натиснувши на зелену кнопку ▼.

9. Чистими сухими руками відкрийте контейнер із тестовими смужками, дістаньте необхідну кількість смужок для тих зразків в інкубаторі, в яких закінчився перший крок інкубування (3 хв).

Закрийте контейнер із тестовими смужками короком. Не зберігайте тестові смужки поза контейнером. Контейнер тримайте закритим.



10. Вийміть гумовий корок із флакону (із зразком молока) і вставте туди тестову смужку (стілочками до дна флакону).

11. Включіть другий таймер 3 хв – нижньою правою зеленою кнопкою ▼. При цьому в лівому нижньому куті дисплея інкубатора з'явиться світлова лінія.

12. Після закінчення другого інкубування (таймер подасть звуковий сигнал) вимкніть таймер, натиснувши на зелену кнопку ▼.

13. Відразу після закінчення інкубації:

А. дістаньте тестову смужку із флакона.

Б. відокремте пальцями мокру фільтруючу губку внизу тестової стрічки.

14. Візуально здійснити зчитування результату відразу після закінчення 5 хв інкубації:

Зчитування результату аналізу можна здійснити і за допомогою сканера –

рідера Accuscan Pro, Accuscan GOLD. Результат автоматично записується, зберігається і може бути пересланий на комп'ютер.

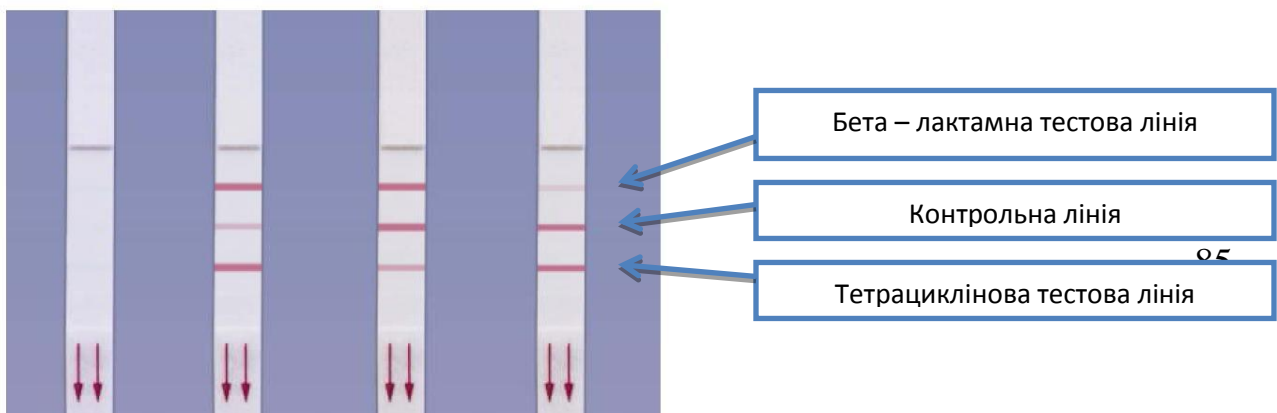


А. У молоці за відсутності антибіотиків груп бета – лактамів і тетрациклінів, верхня і нижня на тестовій смужці будуть червоного забарвлення із більшою інтенсивністю кольору порівняно із середньою контрольною лінією – результат тесту **«негативний»**.

В, С. Якщо тестові лінії відсутні або їх забарвлення менш інтенсивне порівняно із контрольною лінією – це означає, що рецептор був повністю або частково блокований присутніми антибіотиками, результат тесту **«позитивний»**.

Д. Якщо контрольна лінія відсутня – тест вважається недійсним.

15. Після проведення аналізу індикаторні смужки можна підписати (вказати інформацію про зразок молока), підсушити (на столі, на аркуші паперу без спеціального підігріву) та підклеїти в журнал аналізів.



Комплектація тестів Betastar® Combo

Betastar® Combo 25

Betastar® Combo включає набір для проведення 25 аналізів, який містить: 25 флаконів з ліофілізованим рецептором, 1 контейнер з 25 індикаторними стрічками, 25 одноразових піпеток, інструкція з використання.

Betastar® Combo 250

Betastar® Combo 250 – це набір для проведення 250 аналізів, який містить: 250 флаконів з ліофілізованим рецептором, 1 контейнер з 250 індикаторними стрічками, 250 одноразових піпеток, інструкція з використання.

3.3.2.3. Тест Betastar® Combo S.

3.3.2.3.1. Інструкція з виконання аналізу на присутність антибіотиків в молоці за допомогою Betastar® Combo S.

Betastar® S Combo – це експрес тест для визначення одночасно бета – лактамів/цефалоспоринів (пеніцилін, ампіцилін, цефалоніум, цефтіофур тощо) і тетрациклінів у заготівельному коров'ячому, козиному або овечому молоці.



Підготовка до проведення аналізу

1. Ввімкніть
інкубатор і дайте досягти температури 47.5°C. (інтервал робочої температури становить 47.5°C ± 1.0°C)
Перевірте, щоб таймери інкубатора були налаштовані на 5 хв інкубування.
За умовчужанням, 1-й та 2-й таймери інкубатора налаштовані на 2 та 3 хв відповідно.

Для налаштування таймерів на тривалість 5 хв виконайте наступне:

- SET Натисніть та
- утримуйте кнопку ▼ ▲ Введіть код
- 105 використовуйте SET опки

- Натисніть кнопку (змінювати температуру інкубації не потрібно),
- Використовуючи кнопки ▼▲ задайте тривалість першого таймера 5.0 хв.
- Натисніть кнопку та використовуючи кнопки ▼▲ задайте тривалість першого таймера 5.0 хв.
- Натисніть кнопку , налаштування завершено.


Застереження

Беручи до рук тестові смужки, переконайтеся, що руки чисті та сухі – це убезпечить тест від можливого стороннього забруднення антибіотиками та отримання невірною результату аналізу.

Виконання аналізу

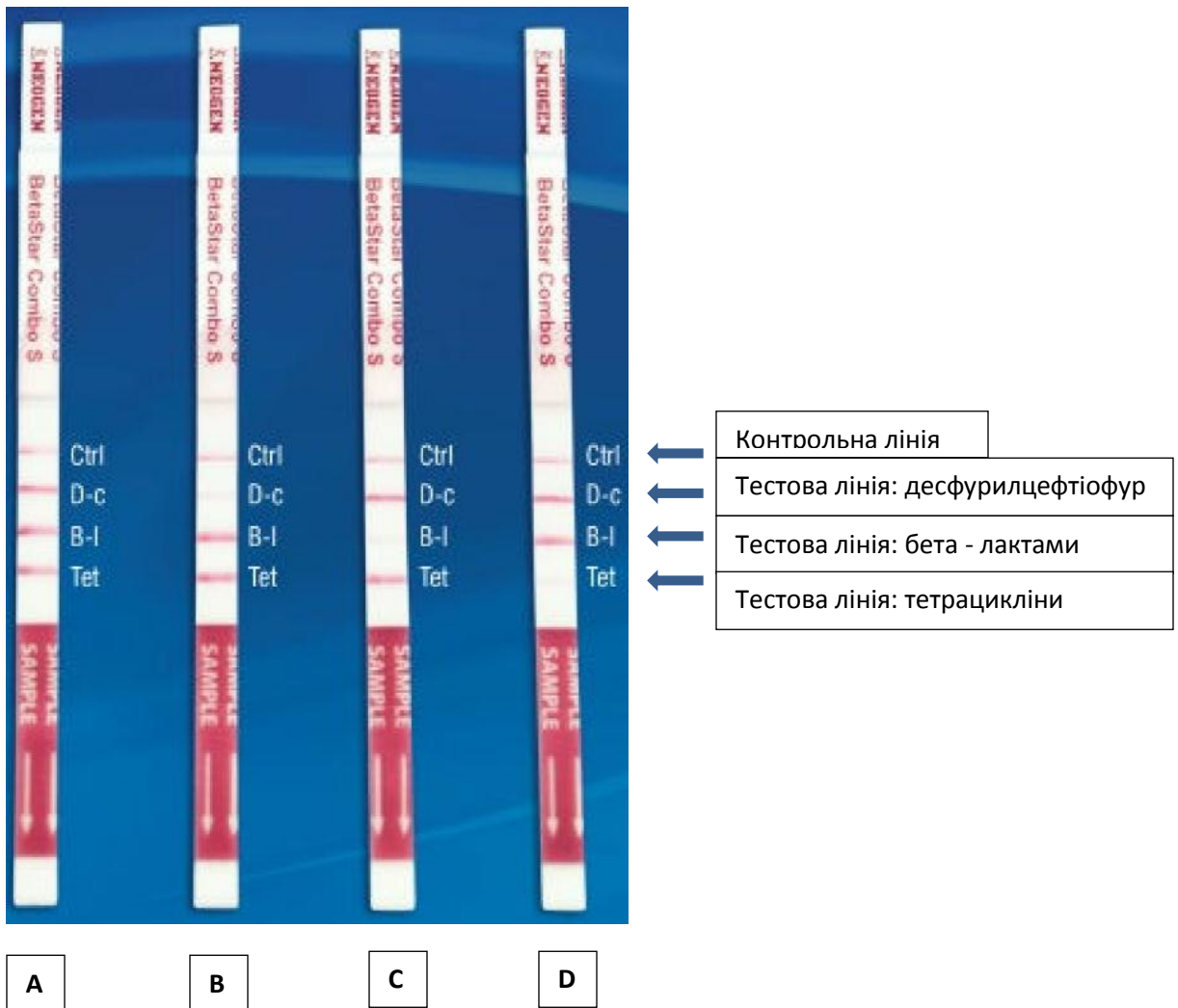
2. Дістаньте тестовий набір із холодильника та витримайте його при кімнатній температурі не менше 10 хв.
3. Ретельно перемішайте пробу молока.
4. Із набору тесту візьміть одноразову пробірку для аналізу.
5. За допомогою одноразової піпетки із набору тесту відберіть пробу молока та перенесіть її у тестову пробірку (одноразова піпетка розрахована на відбір 0,3 мл зразка молока. Зайва кількість проби залишиться у спеціальній камері піпетки).



6. Вставте пробірку з пробою молока в лунку інкубатора і помістіть в пробірку тестову смужку кінцем, який помічений стрілками донизу.
7.  Натисніть кнопку інкубатора для запуску таймера 5 хв.
8. По закінченні 5 хв таймер подасть звуковий сигнал і повідомлення на дисплеї. Знову натисніть кнопку інкубатора для зупинки звукового сигналу.
9. Дістаньте смужку із пробірки та проведіть зчитування результату аналізу візуально та/або за допомогою рідера AccuScan.

10.   Приклади інтерпретації результатів з вказаними тестовими лініями для антибіотиків: десфурилцефтора, β – лактамів та тетрациклінів приведені на малюнку. Якщо контрольна лінія відсутня – тест вважається недійсним.
11. Після проведення аналізу індикаторні стрічки можна підписати, підсушити та підклеїти в журнал аналізів.

Приклади інтерпретації результатів



A: негативний тест

B: позитивний тест на десфурилцефтіофур

C: позитивний тест на бета - лактами

D: позитивний тест на тетрацикліни

Комплектація тестів Betastar® S Combo

Betastar® S Combo 25

До тестового набору Betastar® S Combo 25 входять: контейнер із 25 індикаторними смужками (стрічками), 25 одноразових флакончиків та 25 одноразових піпеток.

Betastar® S Combo 250

Betastar® S Combo 250 містить 10 упаковок наборів Betastar® S Combo 25 (упаковки по 25 аналізів мають лише маркування номеру партії).

3.3.2.4. Тести Betastar® 4D.

3.3.2.4.1. Інструкція з виконання аналізу на присутність антибіотиків в молоці за допомогою тестів Betastar® 4D.

Betastar® 4D – це високочутливий експрес тест для визначення залишків антибіотиків групи бета – лактамів/цефалоспоринів (пеніциліну, ампіциліну, клоксациліну та ін.), тетрациклінів, хлорамфеніколу та стрептоміцину в коров'ячому, козиному та овечому молоці, жирністю до 10%.

Застосовується для перевірки сирого молока, термічно – обробленого молока, відновленого молока та сироватки кислотністю нижче рН 6,10.



Підготовка до проведення аналізу

1. Перед тим як
відкрити контейнер з індикаторними стрічками, треба щоб він нагрівся до кімнатної температури, тобто перебував при цій температурі не менше 10 хвилин.
2. Ввімкніть
термостат та виберіть температуру 47.5°C (± 1°C). Таймер має бути налаштований на інкубування протягом 10 хвилин.

Виконання аналізу

3. Дістаньте із набору Betastar® 4D необхідну кількість флаконів для аналізу.
4. Візьміть порожній тестовий флакончик із набору.
5. За допомогою одноразової піпетки (із набору) наберіть фіксовану кількість, 0.3 мл зразка молока, і додайте її у флакон.
6. Вставте в кожний флакон з молоком тестову смужку.
7. Запустіть таймер (10 хв) на термостаті. Під час інкубації молоко буде підійматися по тестовій смужечці та взаємодіючи з індикаторами, сформує результат у вигляді рожевих ліній.

Інтерпретація результатів

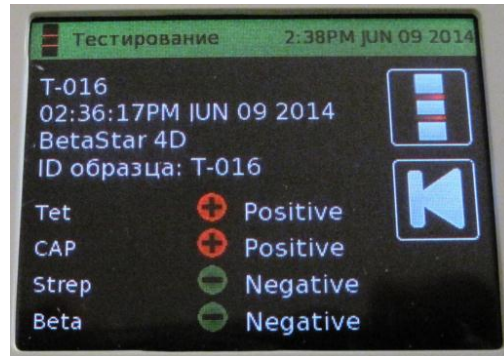
8. Після інкубування дістаньте смужки із флаконів та відразу оцініть результат. Результат потрібно зчитати не пізніше ніж через 5 хвилин після проведення аналізу.
9. Інтерпретація результатів відбувається візуально, шляхом оцінювання наявності чи відсутності тестових ліній, які проявляються на тестовій смужці. Якщо лінії проявляються – антибіотики відсутні. Якщо одна чи кілька тестових ліній не проявляються, то це свідчить про присутність відповідних груп антибіотиків.

AccuScan Pro Rider необхідний для допомоги зчитування, точнішому контролю і призначений для запобігання неправильного чи неточного оцінювання результатів в випадках, коли якась із тестових смужок має занадто слабку (невидиму) інтенсивність забарвлення. Якщо смужка проявляється чітко, то це свідчить про відсутність антибіотиків, в таких випадках немає необхідності в додатковій перевірці за допомогою AccuScan Pro.

Якщо контрольна лінія відсутня, тест є не придатним для зчитування результату.

У випадку використання для інтерпретації Betastar® 4D, до пам'яті AccuScan Pro перед початком оцінювання необхідно внести спеціальний QR – код, котрий міститься в кожній новій партії тестів.

Після чого в меню вибору типу тесту обрати «Betastar® 4D 2.0» та вставити після термостатування смужку до картриджа з міткою “R”, та вставити до гнізда рідера, після чого рідер відсканує тестову смужку та виведе отриманий результат на екран.



Комплектація Betastar® 4D

До комплекту експрес – тесту Betastar® 4D входить набір для 25 аналізів, який складається із 25 індивідуальних порожніх флаконів, 1 контейнера з 25 індикаторними стрічками, 25 одноразових піпеток та інструкція щодо виконання аналізів.

3.3.2.5. AccuScan Pro та AccuScan Gold – прилади для визначення результатів аналізу присутності антибіотиків тестами BetaStar.

Для отримання об’єктивних результатів аналізу присутності антибіотиків в молоці запропоновано застосовувати спеціальні прилади AccuScan Pro та AccuScan Gold, які дозволяють уникати помилок при визначенні, особливо в сумнівних ситуаціях, коли лінію, що погано проявилась на хроматографічній смужці дуже важко використовувати для остаточної відповіді про присутність або відсутність антибіотиків в молоці. Крім того, використання приладів AccuScan Pro та AccuScan Gold в випадку проведення великої кількості аналізів дозволяє під’єднати його до комп’ютерної мережі та здійснювати фіксацію результатів досліджень в поточному режимі та вносити до спеціального файлу для збереження цієї інформації.

Комплектація приладу для зчитування інформації AccuScan Pro відображена на мал. 3.



До його складу входять:

- 1) AccuScan Pro рідер.
- 2) Адаптор джерела живлення з можливістю всіх внутрішніх з'єднань.
- 3) Ручка – стилус.
- 4) Картриджі, які марковані як «А» та «R» для різних форматів теста та картридж з QR – кодом.
- 5) USB – ключ має інструкцію до використання та програмне забезпечення для AccuScan Pro.
- 6) Стрічки для калібрування.

Прилад AccuScan Gold – складається із сканера, тест – смужок та спеціального програмного забезпечення Data Manager PC. До комплекту AccuScan Gold входять наступні складові (мал.3):

Materials provided

1. AccuScan Gold reader
2. Cradle*
3. USB cable
4. Power supply cord
5. Reveal "R" cartridge adapter
6. Dairy antibiotics "A" cartridge adapter
7. QR code/calibration cartridge
8. Data Manager software CD
9. User's guide

*Assembly required



- 1) Сканер AccuScan Gold.
- 2) Підставка для прибора.
- 3) Кабель USB.
- 4) Кабель для з'єднання з електромережею.
- 5) Картридж «R» для визначення антибіотиків.
- 6) Картридж «A» для визначення антибіотиків.

7) Картридж для QR кода/калібровки.

8) CD з програмним забезпеченням Data Manager.

9) Інструкція користувача.

Прилади AccuScan Pro та AccuScan Gold перед використанням для зчитування результатів аналізу молока на антибіотики повинні пройти попередню підготовку згідно інструкції, яка входить в комплектацію.

Інструкції по перевірці молока на 4 групи антибіотиків експрес – тестом BetaStar 4D із застосуванням приладів AccuScan Pro II та AccuScan Gold приведені нижче.

3.3.2.6. Інструкція по визначенню присутності антибіотиків в молоці експрес – тестом BetaStar 4D за допомогою AccuScan Pro II.

Підготовка рідера – сканера AccuScan Pro II до роботи

1. Ввімкніть рідер – сканер AccuScan Pro II. На головному меню натисніть піктограму із зображенням QR – коду (зліва внизу).

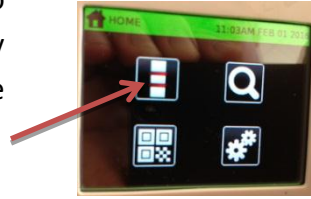
2. Дістаньте картку із QR – кодом “BS4D AS PRO» із карманчика (знаходиться в кожній коробці тестів BetaStar 4D) та вставте її в чорний картридж.

3. Вставте картридж із карткою QR в рідер і він почне розпізнавання партії тестів. На екрані з’явиться детальна інформація про партію тестів. Натисніть зелену галочку.

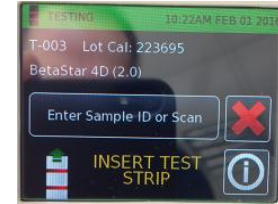
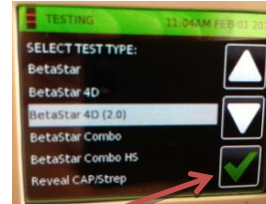


4. Після появи попереднього зображення натисніть червоний хрестик.

5. Після того, як рідер повернується до головного меню, натисніть на піктограму в верхньому лівому куті. Далі вибирайте «BetaStar 4D (2.0)».



6. Підтвердіть зеленою галочкою Ваш вибір. На екрані побачите запрошення до введення тестової стрічки тесту «INSERT TEST STRIP». І Вам необхідно буде лише вставити картридж «R» із тестовою стрічкою.



Визначення присутності антибіотиків експрес – тестом BetaStar 4D

1. Дістаньте тестовий набір із холодильника, та залиште його на 10 – 15 хв. при кімнатній температурі.



2. Перенесіть одноразовою каліброваною піпеткою 0,3 мл молока в одноразову тестову пробірку.



3. Вставте тестову пробірку в гніздо інкубатора, який має температуру $47,5 \pm 1^\circ\text{C}$. Сухими, чистими руками дістаньте із білого контейнера тестову стрічку, та вставте її у тестову пробірку із молоком.



4. Вмикайте таймер, та інкубуйте 10 хв.



5. Дістаньте тестову стрічку із пробірки. Помістіть її в чорний картридж «R» та вставте в підготовлений рідер – сканер.

6. Результат аналізу (5 рожевих ліній на тестовій стрічці) будуть розпізнані рідером, на екрані якого з'явиться відповідь для кожної групи антибіотиків. «Negative» означає відсутність антибіотиків відповідної групи. Щоб зробити наступний аналіз – натисніть праву нижню кнопку.



3.3.2.7. Інструкція по визначенню приступності антибіотиків в молоці експрес – тестом BetaStar 4D за допомогою AccuScan Gold рідера.

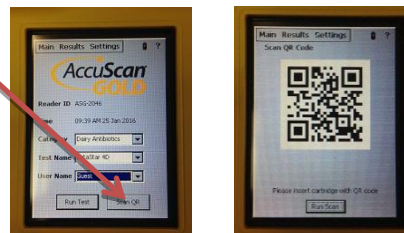
Підготовка рідера – сканера AccuScan Gold до роботи

1. Ввімкніть рідер – сканер AccuScan Gold. На головному меню виберіть категорію тесту «Dairy Antibiotics» та вид тесту «BetaStar 4D».

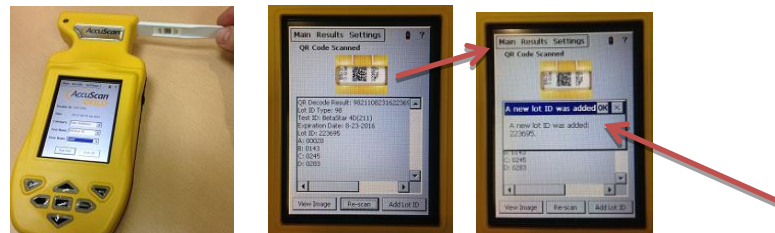


2. Дістаньте картку із QR - кодом «BS4D AS GOLD» із карманчика (знаходиться в кожній коробці тестів BetaStar 4D) та вставте її в білий картридж «CAL + QR».

3. Натиснувши на екрані кнопку «Scan QR» зайдіть в режим сканування картки із QR - кодом. На екрані з'явиться велика картинка із QR - кодом.



4. Вставте білий картридж «CAL + QR» із картою в рідер. Рідер зчитує інформацію із картинки та налаштується на роботу саме із цією партією тестів.

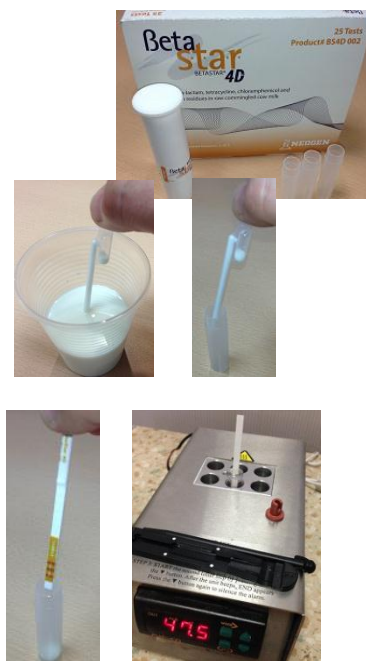


5. Натисніть «Main» на екрані (зліва вверху), та повернувшись в головне меню натисніть «Run Test». Впишіть назву зразка молока у віконці «Sample ID» (за бажанням. Інакше, йому автоматично буде присвоєно наступний номер).



Визначення присутності антибіотиків в молоці експрес – тестом BetaStar 4D за допомогою AccuScan GOLD рідера

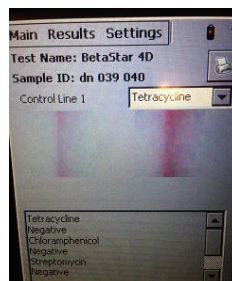
1. Дістаньте тестовий набір із холодильника та залиште його на 10 – 15 хв. при кімнатній температурі.
2. Перенесіть одноразовою каліброваною піпеткою 0,3 мл молока в одноразову тестову пробірку.
3. Вставте тестову пробірку в гніздо інкубатора, який має температуру $47,5 \pm 1^\circ\text{C}$. Сухими, чистими руками дістаньте із білого контейнера тестову стрічку та вставте її у тестову пробірку із молоком.
4. Вмикайте таймер та інкубуйте 10 хв.



5. Дістаньте тестову стрічку із пробірки. Помістіть її в картридж «R» та вставте в підготовлений рідер – сканер.



6. Результат аналізу (5 рожевих ліній на тестовій стрічці) будуть розпізнані рідером, на екрані якого з'явиться детальна відповідь для кожної групи антибіотиків. Щоб зробити наступний аналіз – натисніть «New Sample ID». Результати із рідера AccuScan GOLD можна передавати і на комп'ютер.



3.3.3. Мікробіальні тести визначення антибіотиків в молоці.

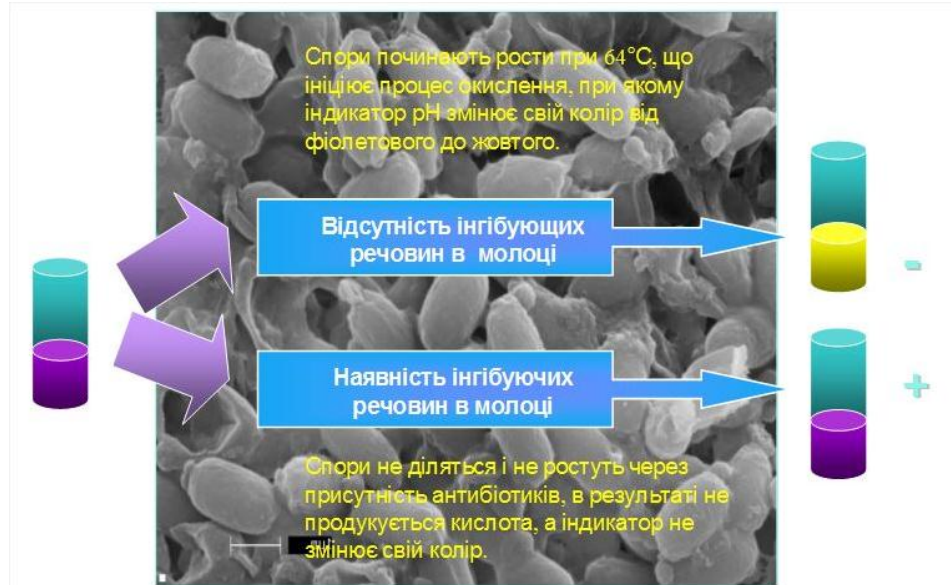
Мікробіальні тести визначення антибіотиків в молоці були першими інструментами, за допомогою яких контролювали заготівельне молоко по показникам безпеки. Так, в ДСТУ 3662 – 97 “Молоко коров’яче. Вимоги при заготівлі” в якості метода визначення антибіотиків в молоці рекомендований мікробіальний метод, в основу якого закладений метод дифузії в агаровий гель шляхом оцінки росту наступних тест – культур: *Vac. cereus* ATCC 11778, *Vac. mycoidis* 537 та *Str. lutea* ATCC 9341.

В останні роки на ринку тестів з’явилися нові мікробіальні експрес – тести, в яких використовується тестовий мікроорганізм *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, що є чутливим для дуже широкого спектру антибіотиків. До найбільш поширених мікробіальних тестів відносяться: Soran Test, CMT test та BRT – тест.

Суть мікробіального методу полягає в інгібуванні тестового мікроорганізму в випадку присутності антибіотиків в досліджуваному молоці. В цьому випадку субстрат фіолетового кольору, в якому не відбулося росту тестового штаму не змінює свій колір в зв’язку з відсутністю виділення будь – яких продуктів метаболізму, що можуть вплинути на зміну стану середовища. Якщо антибіотики в зразках молока відсутні, то при певних температурних умовах протягом незначного відрізка часу (2 – 3 години) має місце

інтенсивний розвиток тест – культури в субстраті, що виступає як поживне середовище для мікроорганізмів. Це приводить до появи метаболітів в вигляді кислоти, яка викликає зміну рН (активної кислотності) субстрату, що в свою чергу приводить до зміни кольору від фіолетового до жовтого. Така зміна кольору є індикатором відсутності антибіотиків в молоці. (мал. 3.5.).

Сутність мікробіальних тестів для визначення антибіотиків найкращим чином продемонстровано на малюнку 3.4.



Мал. 3.4. Сутність мікробіальних методів визначення антибіотиків в молоці.

Чутливість тест – культури *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* до деяких антибіотиків є дуже високою та стабільною, що стало причиною використання її як основного біологічного сенсора для виявлення антибіотиків в молоці.

3.3.3.1. Мікробіальні тести Соран (СН – АТК) для визначення антибіотиків в молоці. Тест – це комплектний набір мікробіальних тестів для визначення в молоці β – лактамів, тетрациклінів та сульфонамідів.

Існує 3 види Соран (СН – АТК) тестів: Соран (СН – АТК) 25, Соран (СН – АТК) 100 та Соран (СН – АТК).



Тест Соран (СН – АТК) 25

В комплект цього тесту входять: 25 пробірок з середовищем, що містить культуру *Bacillus stearothermophilus* та 25 спеціальних запатентованих піпеток, які гарантують відбір завжди однакової кількості молока (100 мікролітрів). Температура термостатування, протягом якого проходить аналіз повинна бути 64,5°C. пробірки, що входять до комплекту на 25 аналізів можуть бути використані також для проведення окремого одиничного аналізу.

В якості підігрівання може бути водяна баня з температурою води 64,5°C або спеціальні термостати, що розраховані на термостатування 10 пробірок (мал. 3).

Тест Соран (СН – АТК) 100

Соран (СН – АТК) 100 тест містить комплект 100 спеціальних пробірок з середовищем, в якому знаходиться тест – культура *Bacillus stearothermophilus* та 100 піпеток, ємністю 100 мікролітрів для відбору молока для аналізу на антибіотики. По суті комплектація Соран (СН – АТК) тесту включає в себе 4 набори Соран (СН – АТК) 25 тесту.

Тест Соран (СН – АТК) (мікропластини)

Комплект Соран (СН – АТК) мікропластини складається із упаковки, що містить 4 мікропластини, кожна з яких розрахована на 96 тестів (разом 384 теста). Пластини розділені на 6 рядів, в яких містяться 16 лунок для проведення аналізів. Мікропластини містять середовище з тест – культурою *Bacillus stearothermophilus* та термостатують зі зразками молока в водній бані або лабораторній шафі, або в спеціальному термостаті при 64,5°C. Для термостатування використовують спеціальні прилипаючі покривки (мал.).

Мінімальна кількість, що можна виконати одноразово – 16.

Соран (СН – АТК) повинні транспортуватися та зберігатися при температурах не більш ніж 40,5°C. Для контролю за температурним режимом транспортувальник обладнує кожний комплект спеціальною термочутливою пластиною, яка при температурі вище ніж 40,5°C змінює свій колір з сірого на чорний. В випадку, якщо під час транспортування пластина, що розміщується під покривкою коробки має чорний колір, то розпаковані тест – набори не слід використовувати для аналізу.

3.3.3.1.1. Інструкція по визначенню антибіотиків за допомогою Соран (СН – АТК)

Test.

1. Розпакуйте комплект набору Soran (CH – ATK) Test.



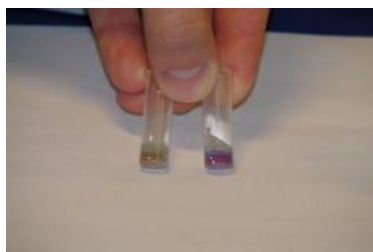
2. За допомогою спеціальної піпетки, що міститься в наборі додайте 100 мікролітрів молока в пробірку з середовищем.



Для дослідження кожного зразку використовуйте окрему пробірку.

3. Термостатуйте пробірку в термостаті або водяній бані при 64,5°C протягом 3 годин.

4. Після термостатування пробірки перевірте чи змінився колір середовища. Якщо колір змінився на жовтий, то тест свідчить про відсутність антибіотиків. Якщо колір став жовто – фіолетовим, тобто змінився незначно, значить результат є частково позитивним, але концентрація інгібуючих речовин в молоці є нижчою, ніж чутливість тесту. Якщо через 3 години фіолетовий колір середовища в пробірці зберігається, то це свідчить про присутність антибіотиків та інгібуючих речовин в молоці. Для спрощення інтерпретації результатів тестування в наборі додається таблиця кольорів.



3.3.3.1.2. Інструкція по визначенню антибіотиків за допомогою Soran (CH – ATK) Test Microplate.

Мікропластини є зручними для роботи в лабораторіях, де проводять значну кількість аналізів на присутність антибіотиків.

Методика проведення аналізу за допомогою мікропластин є подібною до виконання тесту при використанні пробірок.

Мінімальна кількість тестів, що визначається за допомогою мікропластини, що містить 16 лунок (ячеек). Будь-яку кількість пластинок по 16 лунок можна відрізати не пошкоджуючи фольгу на самих пластинах.

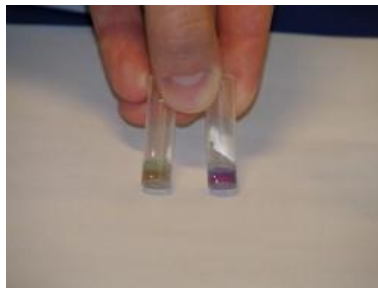
1. Зніміть фольгу та з допомогою мікропіпетки додайте в кожен лунку по 100 мікролітрів молока за допомогою мікропіпетки.



2. Закрийте лунки фольгою, що міститься в комплекті та термостатуйте пластину при 64,5°C в водяній бані або спеціальному термостаті протягом 3 годин.

3. Оцініть результати тестування молока на присутність антибіотиків та інгібуючих речовин. Якщо колір змінився на жовтий, то це значить, що тест негативний. Якщо колір залишився незмінним (фіолетовим), то в досліджуваному молоці присутні антибіотики та інгібуючі хімічні речовини. Якщо колір змінився незначно та став жовто – фіолетовим, то концентрація інгібіторів в молоці є поза межу чутливості тесту.

Межа чутливості Соран (CH – ATK) тестів до широкого спектру антибіотиків наведена нижче в табл. 3.5.



3.3.3.2. Мікробіальні тести СМТ для визначення антибіотиків в молоці.

Мікробіальний СМТ – тест представляє собою сучасну версію Соран (CH – ATK) тесту, аббревіатура якого розшифровується, як Соран Milk Test. Тому суттєвих відмінностей від Соран (CH – ATK) тесту немає.

Асортимент СМТ тестів є наступний:

- CMT Single Test
- CMT Microplate

До складу CMT Single Test для визначення антибіотиків та сульфамідів входить:

- 100 пробірок із середовищем, спорами *Bacillus stearothermophilus* та індикатором;
- 100 піпеток для відбору зразків та внесення їх в тестову пробірку.

Комплект CMT Microplate тесту складається із 4 – х мікропластин із середовищем та спорами *Bacillus stearothermophilus*. Кожна мікропластина містить по 96 лунок та із кольоровою шкалою.

Таблиця 3.5.

Мінімальні рівні чутливості до антибіотиків тестів Соран (СН – АТК).

| Інгібітори | Соран тест | Максимально допустимий рівень (мг/кг вимоги ЄС) |
|---------------------|------------|---|
| β – лактами | | |
| Пеніцилін G | 1 – 2 | 4 |
| Ампіцилін | <2 | 4 |
| Амоксицилін | 2 – 4 | 4 |
| Клоскацилін | 10 – 15 | 30 |
| Диклоксацилін | 10 – 15 | 30 |
| Оксацилін | 5 – 10 | 30 |
| Нафцилін | 5 – 10 | 30 |
| Цефтіофур | 50 – 100 | 100 |
| Цефквіном | 30 – 100 | 20 |
| Цефалірін | 2,5 – 5 | 60 |
| Цефоперазон | 25 – 50 | 50 |
| Цефалексин | >45 | 100 |
| Цефалоніум | - | 20 |
| Цефаксетріл | - | 125 |
| Цефуросим | - | - |
| Цефазолін | 5 – 10 | 50 |
| Піперацилін | | |
| Тетрацикліни | | |
| Хлортетрациклін | 250 – 500 | 100 |
| Окситетрациклін | 250 – 500 | 100 |
| Тетрациклін | 250 – 500 | 100 |
| Доксициклін | 150 | 100 |

| | | |
|-------------------------|-------------|-----|
| Сульфонаміди | | |
| Сульфатиозол | 50 – 100 | 100 |
| Сульфаметазин | 100 – 200 | 100 |
| Сульфадоксин | 100 – 200 | 100 |
| Сульфадиметоксин | 50 – 100 | 100 |
| Сульфадіазин | 50 – 100 | 100 |
| Сульфаметоксазол | <50 | 100 |
| Сульфаноетозин | <50 | 100 |
| Сульфамонетазин | - | 100 |
| Сульацетамід | - | 100 |
| Аміноглікоциди | | |
| DN – Стрептоміцин | <1000 | 200 |
| Стрептоміцин | <1000 | 200 |
| Неоміцин | 500 – 2000 | 500 |
| Канаміцин | - | 200 |
| Гентаміцин | 100 – 500 | 100 |
| Спектиноміцин | >300 | 200 |
| Макроліди | | |
| Еритроміцин | >200 | 40 |
| Спіраміцин | >200 | 200 |
| Тилозін | 50 – 100 | 50 |
| Тилмікозін | 75 – 100 | 50 |
| Інші антибіотики | | |
| Дапсон | 2 – 4 | 0 |
| Триметроприм | 100 – 150 | 50 |
| Тіамфенікол | >100 | 50 |
| Хлорамфенікол | 5000 – 7500 | 0 |
| Флюмеквін | 5000 – 6000 | 50 |
| Лінкоміцин | 500 – 700 | 150 |

3.3.3.2.1. Інструкція з виконання аналізу молока за допомогою тестового набору CMT Single Test з використанням інкубатора Test Tube Incubator.

1. Вставте виделку блоку живлення інкубатора в розетку мережі живлення 220 В, перемикач на задній панелі інкубатора поставте в положення «ввімкнено». На дисплеї інкубатора висвітиться фактичне значення температури та почнеться процес нагріву.

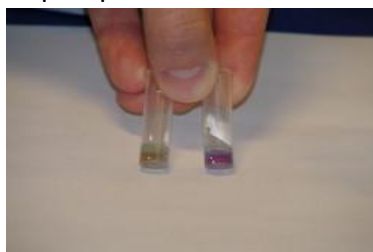


Важливо! Інкубатор повинен експлуатуватися за температури оточуючого середовища в діапазоні 10-35 °С.

2. Дочекайтеся поки температура інкубатора досягне робочого значення $64,5 \pm 1^\circ\text{C}$.
3. Дістаньте тестовий набір СМТ із холодильної шафи, відріжте необхідну кількість тестових пробірок для виконання аналізів (інкубатор дозволяє проводити до 10 аналізів-проб одночасно).
За потреби підпишіть за допомогою маркера тестові пробірки.



4. Обережно припідніміть край фольги, яка закриває тестову пробірку. За допомогою одноразових дозуючих піпеток із набору СМТ тесту внесіть проби молока в тестові пробірки. Закрийте фольгою пробірки із пробами молока.
5. Вставте пробірки з пробами молока в лунки інкубатора.
6. Натисніть на панелі інкубатора кнопку «▼».
У лівому верхньому кутку дисплея інкубатора висвітлиться горизонтальна риска, яка свідчить про початок інкубації та відліку часу.
7. Після закінчення 3-х годин інкубатор подасть звуковий сигнал і на дисплеї висвітлиться мигаюче повідомлення про закінчення процесу інкубації «End».
Вимкніть звуковий сигнал натиснувши кнопку «▼»
8. Вийміть тестові пробірки із лунок інкубатора та візуально проведіть оцінку аналізів, оцінюючи колір дна пробірок.
Жовтий колір середовища тестових пробірок - «**негативний тест**». Антибіотики відсутні або їх концентрація нижче порогу чутливості тесту.
У випадку присутності антибіотиків у молоці вище межі чутливості тесту колір середовища тестових пробірок **зміниться частково або залишиться без змін – «позитивний тест».**



9. Проведіть наступний цикл тестування при необхідності або вимкніть інкубатор перемикачем на задній панелі та від'єднайте від мережі 220 В.

- В кожному наборі тестів є кольорова шкала для порівняння отриманого результату із еталоном.

Чутливість тесту СМТ (мкг/кг) та відповідність до законодавства Європейської Співдружності (MRL = максимально допустимі залишкові кількості) для ветеринарних медичних залишків в продуктах харчування тваринного походження наведена нижче в табл. 3.6.

Таблиця 3.6.

Мінімальні рівні чутливості до антибіотиків СМТ - тесту

| Субстанція | СМТ тест | MRL (470/2009 EEG, resp. 37/2010 EEG) |
|----------------------|-----------------|--|
| Пеніциліни | | |
| Амоксицилін | 2 | 4 |
| Ампіцилін | 2 | 4 |
| Бензилпеніцилін | - | 4 |
| Клоксацилін | 12 | 30 |
| Диклоксацилін | 5 | 30 |
| Нафцилін | - | 30 |
| Оксацилін | 5 | 30 |
| Пеніцилін | 2 | 4 |
| Цефалоспоріни | | |
| Цефепірим | 4 | 60 |
| Цефазолін | 4 – 6 | 50 |
| Цефоперазон | - | 50 |
| Цефалексин | 20 – 40 | 100 |
| Цефалоніум | 10 – 15 | 20 |
| Цефквіном | - | 20 |
| Цефтіофур | 25 | 100 |
| Цефуроксим | 60 | Не визначено |
| Цефалорідин | 6 – 8 | Не визначено |
| Цефаетрил | - | Не визначено |
| Макроліди | | |
| Еритроміцин | 600 | 40 |
| Спіраміцин | 5000 | 200 |
| Тилозин | 100 | 50 |

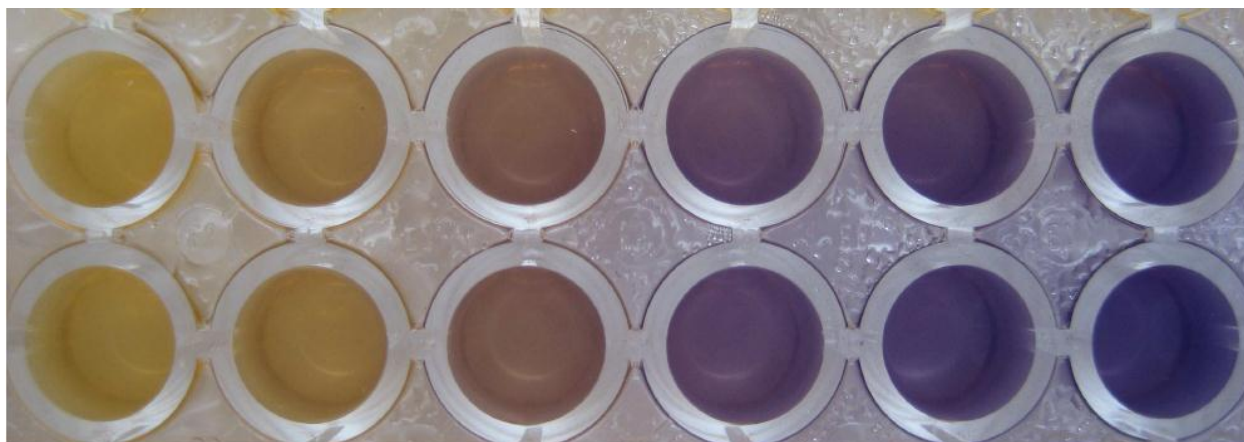
| | | |
|--------------------------------|-------------|-----------------|
| Тетрацикліни | | |
| Окситетрациклін | 450 | 100 |
| Тетрациклін | 450 | 100 |
| Хлортетрациклін | 450 | 100 |
| Доксициклін | 150 | 100 |
| Сульфонаміди | | |
| Сульфадіазин | 50 | 100 |
| Сульфадиметроксин | 50 | 100 |
| Сульфаметазин | 125 – 150 | 100 |
| Сульфатіазол | 50 | 100 |
| Аміноглікозиди | | |
| DN/Стрептоміцин | 1750 | 200 |
| Гентаміцин | 400 | 100 |
| Неоміцин | 500 – 2000 | 1500 |
| Інші | | |
| Лінкоміцин | - | 150 |
| Тилмікозин | 75 – 100 | Не визначено |
| Хлорамфенікол (левоміцетин) | 5000 – 7000 | Не допускається |

3.3.3.3. Мікробіологічні тести BRT для визначення антибіотиків в молоці.

BRT – тест – це мікробіальний тест для визначення інгібіторів таких, як залишки антибіотиків в коров'ячому молоці, молоці кіз та овець.

В основу принципу дії BRT – тесту покладена чутливість особливих тест – мікроорганізмів до присутності антибіотиків та інших інгібіторів. У випадку присутності інгібуючих речовин метаболічна активність та власний ріст тест – культур зупиняється або уповільнюється.

Тест BRT базується на реакції відновлення Діамантового чорного, а рівень його відновлення використовується для фіксації метаболічної активності тест – мікроорганізмів забарвленим індикатором. Забарвлення індикатора змінюється від блакитного (синього) до жовтого відповідно до процесу метаболізму кислоти, що виробляє тест – культура під час її розвитку. (мал. 3.5.)



Мал. 3.5. Зміна забарвлення індикатора BRT тесту при визначенні антибіотиків а молоці.

У випадку інкубування із молоком вільним від антибіотиків та інгібіторів, тестова культура буде рости та викличе зміну забарвлення від синього до жовтого кольору. Якщо інгібуючі субстанції є присутніми в молоці, то зміни забарвлення не відбудеться за рахунок інгібуючого впливу на ріст тест – мікроорганізму.

Асортимент тестів BRT

BRT – тести надають широкий спектр аналізів, але за умови, коли тривалість аналізу не має критичного значення. До них належать два тести: Тест на інгібітори (Inhibitor Test) та Скрінінг Тест (Screening Test), що відносяться до найшвидших на ринку серед тестів такого типу.

Ці тести показують стійкий результат – дуже низька чутливість до природніх інгібіторів знижує кількість помилкових результатів; високий рівень толерантності до жирів, протеїнів та рівня рН робить їх адаптивними та гнучкими, а різноманітність форматів полегшує впровадження BRT тестів у будь – яких ситуаціях.

1. Тест на інгібітори (Inhibitor Test) BRT

Тест на інгібітори BRT – ідеальний мікробіальний тест для молочної промисловості, який перевіряє молоко на присутність антибіотиків, головним чином, бета – лактамної групи за найкоротший час для мікробіальних тестів. Inhibitor Test може контролювати

залишки антибіотиків групи бета – лактамів відповідно до гранично допустимих концентрацій (MRL), встановлених у ЄС. Інші присутні антибіотики також виявляються. Тест успішно використовується для офіційного тестування молока та оцінки якості, та сплати за молоко у Баварії та Бадені, що в Німеччині, та інших країнах.

Час отримання результатів: 2 год. 15 хв. ± 30 хв.

2. BRT MRL Скрінінг Тест (BRT MRL Screening Test)

BRT MRL Скрінінг Тест першочергово призначений для використання на фермах для тестування молока як збірного, так і молока окремої тварини, особливо для антибіотиків групи бета – лактамів та цефалоспоринових. Це є удосконалений BRT, який має підвищену чутливість до певних антибіотиків. Окрім задокументованих гранично допустимих концентрацій (MRL) для антибіотиків бета – лактамів, також тест здійснює аналіз і інших груп антибіотиків (сульфаноміди, макроліди та аміноглікозиди) відповідно до рівня MRL. Чутливість до інших груп є також вищою ніж у тесту Inhibitor Test BRT. Окрім використання на фермах, BRT MRL Скрінінг тест практично використовується для визначення антибіотиків у молоці, що у подальшому застосовується у виробництві сиру та ферментованих молочних продуктів.

Час отримання результатів: 2 год. 15 хв. ± 30 хв.

3. BRT Високочутливий (BRT hi-sense)

BRT Високочутливий – дуже чутливий мікробіальний тест серед присутніх сьогодні на ринку тестів, що має здатність виявляти найбільший спектр антибіотиків, і який призначений для задоволення вимог споживачів щодо безпечності для здоров'я людей, відсутність залишків антибіотиків в їжі.

BRT Високочутливий тест розроблений відповідно до Рішення Комісії ЄС 91/180/EEC. Характерною рисою цього тесту є особливо висока чутливість до широкого спектру антибіотиків. Надійний контроль на рівні гранично допустимих концентрацій (MRL встановлених ЄС), антибіотиків груп бета- лактамів, тетрациклінів, сульфонамідів, макролідів та аміноглікозидів здійснюється за допомогою тесту (BRT hi-sense). Це дійсно вдвійний тест для виробників молока та контролюючих лабораторій, які поставили за ціль досягти найвищого рівня підтвердження того, що молоко є чистим та без домішок.

Час отримання результатів: 3 год. 15 хв. ± 15 хв.

Чутливість BRT тестів до антибіотиків приведена нижче в таблиці 3.7.

Таблиця 3.7.

Чутливість BRT тестів до антибіотиків

| Субстанція | BRT Інгібітор тест (код 700574) | Новий BRT Інгібітор тест (код 714298) | BRT MRL Скринінг тест | BRT Високочутливий тест | MRL (470/2009 EEG, resp. 37/2010 EEG) |
|----------------------|---|---|---|--|---------------------------------------|
| | Тривалість аналізу 2 год. 15 хв. – 2 год. 45 хв. | Тривалість аналізу 1 год. 45 хв. – 2 год. 45 хв. | Тривалість аналізу 1 год. 45 хв. – 2 год. 45 хв. | Тривалість аналізу 3 год. – 3 год. 30 хв. | |
| Пеніциліни | | | | | |
| Амоксицилін | 2 – 3 | 2 – 3 | 2 – 3 | 1 – 1,5 | 4 |
| Ампіцилін | 2 – 3 | 2 – 3 | 2 – 3 | 1 – 1,5 | 4 |
| Бензилпеніцилін | 2 – 3 | 2 – 3 | 1 – 2 | 0,5 – 1 | 4 |
| Клоксацилін | 20 – 30 | 20 – 30 | 10 – 20 | 8 – 12 | 30 |
| Нафцилін | 10 – 15 | 10 – 15 | 5 – 10 | 2 – 6 | 30 |
| Оксацилін | 10 – 20 | 10 – 20 | 5 – 10 | 4 – 8 | 30 |
| Цефалоспоріни | | | | | |
| Цефепірин | 4 – 5 | 4 – 5 | 4 – 5 | 2 – 3 | 60 |
| Цефазолін | 10 – 25 | 10 – 25 | 10 – 25 | 2 – 6 | 50 |
| Цефоперазон | 25 – 50 | 25 – 50 | 20 – 30 | 10 – 20 | 50 |
| Цефалексин | 200 – 300 | 200 – 300 | 100 – 200 | 60 – 80 | 100 |
| Цефквіном | 100 – 200 | 200 – 400 | 100 – 200 | 30 – 50 | 20 |
| Цефтіофур | 50 – 100 | 100 – 150 | 50 – 100 | 20 – 30 | 100 |
| Макроліди | | | | | |
| Еритроміцин | 40 – 60 | 80 – 100 | 60 – 100 | 40 – 80 | 40 |
| Тилозин | 25 – 50 | 50 – 100 | 25 – 50 | 20 – 30 | 50 |
| Тетрацикліни | | | | | |
| Окситетрациклін | 500 – 750 | 200 – 400 | 100 – 200 | 50 – 100 | 100 |
| Тетрациклін | 200 – 400 | 200 – 400 | 100 – 200 | 50 – 100 | 100 |
| Хлортетрациклін | | 400 – 600 | 200 – 400 | 100 – 150 | 100 |
| Сульфонаміди | | | | | |
| Сульфадіазин | 500 – 750 | 200 – 400 | 100 – 200 | 50 – 100 | 100 |
| Сульфадиметроксин | 500 – 750 | 200 – 400 | 100 – 200 | 50 – 100 | 100 |
| Сульфаметазин | 500 – 750 | 300 – 500 | 200 – 400 | 100 – 200 | 100 |

| | | | | | |
|--------------------------------|-------------|----------------|----------------|-------------|------------------------|
| Сульфатіазол | 200 – 400 | 200 – 400 | 100 – 200 | 50 – 100 | 100 |
| Аміноклікозиди | | | | | |
| ДН/Стрептоміцин | 1000 – 1500 | 600 – 800 | 400 – 600 | 150 – 300 | 200 |
| Гентаміцин | 200 – 300 | 50 – 100 | 50 – 100 | 20 – 30 | 100 |
| Неоміцин | 500 – 750 | 300 – 500 | 200 – 300 | 50 – 100 | 1500 |
| Інші | | | | | |
| Лінкоміцин | 150 – 300 | 150 – 300 | 150 – 200 | 100 – 150 | 150 |
| Хлорамфенікол (левоміцетин) | 5000 – 7500 | 5000 – 7500 | 5000 – 7500 | 4000 – 6000 | Не допускаєт ься |

3.3.3.3.1. Інструкція з виконання аналізу молока за допомогою тестових наборів BRT Inhibitor Test, BRT MRL Screening Test, BRT hi-sense з використанням Test Tube Incubator

1. Вставте виделку блоку живлення інкубатора в розетку мережі живлення 220 В, перемикач на задній панелі інкубатора поставте в положення «ввімкнуто». На дисплеї інкубатора висвітиться фактичне значення температури та почнеться процес нагріву.



Важливо! Інкубатор повинен експлуатуватися за температури оточуючого середовища в діапазоні 10-35 °С.

2. Дочекайтеся поки температура інкубатора досягне робочого значення $65 \pm 1^\circ\text{C}$.
3. Дістаньте тестовий набір BRT із холодильної шафи, візьміть необхідну кількість тестових пробірок для виконання аналізів (інкубатор дозволяє проводити до 10 аналізів-проб одночасно).
За потреби підпишіть за допомогою маркера тестові пробірки.



4. Відкрийте тестову пробірку. За допомогою одноразових дозуючих піпеток із набору BRT тесту внесіть проби молока в тестову пробірку. Знову закрийте пробірки із пробами молока.



Замість одноразових піпеток можна використовувати калібрований піпет – дозатор на 100 мкл та нову насадку кожного разу.

5. Вставте пробірки з пробами молока в лунки інкубатора.
6. Натисніть на панелі інкубатора кнопку «▼».
У лівому верхньому кутку дисплея інкубатора висвітиться горизонтальна риска, яка свідчить про початок інкубації та відліку часу.
7. Після закінчення 3-х годин інкубатор подасть звуковий сигнал і на дисплеї висвітиться мигаюче повідомлення про закінчення процесу інкубації «End».
Вимкніть звуковий сигнал натиснувши кнопку «▼»
8. Вийміть тестові пробірки із лунок інкубатора та візуально проведіть оцінку аналізів, оцінюючи колір дна пробірок.
Жовтий колір середовища тестових пробірок - «**негативний тест**». Антибіотики відсутні або їх концентрація нижче порогу чутливості тесту.
У випадку присутності антибіотиків у молоці вище межі чутливості тесту колір середовища тестових пробірок **зміниться частково або залишиться без змін – «позитивний тест»**.

«негативний»
результат,
молоко вільне
від інгібіторів



«позитивний»
результат, є
інгібітори



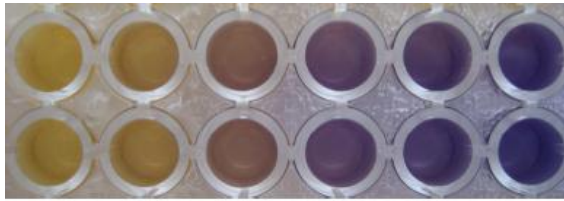
9. Проведіть наступний цикл тестування при необхідності або вимкніть інкубатор перемикачем на задній панелі та від'єднайте від мережі 220 В.

До уваги користувачів тестів:

- Велика концентрація бактерій ($>4 \times 10^7$ КУО/мл), а також соматичних клітин в зразку молока може викликати позитивний результат.
- Зразок, рН якого $<5,8$ може викликати ускладнення в проведенні аналізу, може з'явитися графітово – сіре забарвлення замість голубого чи жовтого.

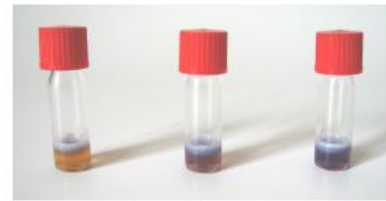
- Присутність Бета – лактамів в пробі молока (<1 мкг/кг) дає появу коричневого відтінку.
- Похідні бета – лактамів дають чисте темно – голубе забарвлення.
- Сульфонаміди дають коричневий відтінок.
- Жир (вершки) на поверхні зразка молока може змінювати забарвлення до голубого. Тому перевіряйте забарвлення знизу пробірки (лунки). Лише забарвлення в нижній частині є достовірним.

Приклади оцінювання результатів аналізів із тестами BRT



- - + ++ +++ +++

- negative control / negative sample
- + dubious sample
- +++ positive control / positive sample



- + +++

IV. ОРГАНІЗАЦІЯ КОНТРОЛЮ ЗА ЯКІСТЮ КОРОВ'ЯЧОГО МОЛОКА ТА ВИЯВЛЕННЯ ЙОГО ФАЛЬСИФІКАЦІЇ ПІД ЧАС ЗАГОТІВЛІ.

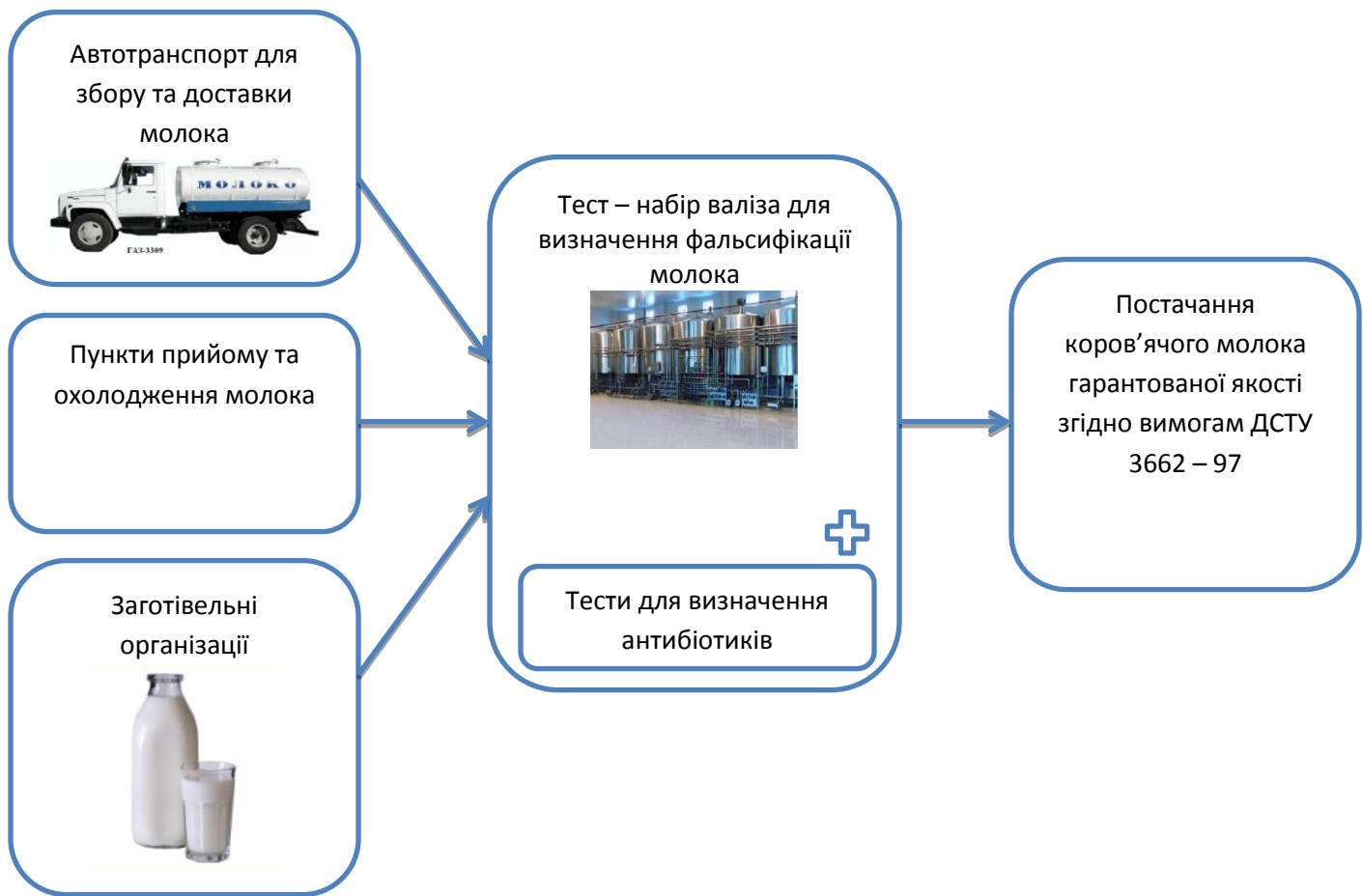
4.1. Організація контролю якості заготівельного коров'ячого молока.

Існуюча система заготівлі коров'ячого молока, що практикується молокопереробними підприємствами в дійсності не передбачає контроль його якості під час заготівлі. Заготівельники молока (приватні особи, кооперативи, молокопереробні підприємства та інші) фактично не здійснюють контроль за основними фізико – хімічними та показниками безпеки згідно ДСТУ 3662 – 97 «Молоко коров'яче незбиране. Вимоги при закупівлі.», а перекладають дану процедуру на лабораторії виробників молочної продукції (міські молочні заводи, сирзаводи, маслозаводи, молочноконсервні підприємства). Така організація контролю за якістю заготівельного молока є хибною в зв'язку з тим, що в Україні існує практично діючий дефіцит молочної сировини, який спонукає приватних осіб – виробників молока, а також заготівельні організації вдаватися до різноманітної фальсифікації молока для подовження термінів зберігання з метою його накопичення та реалізації молокопереробним підприємствам.

Слід констатувати, що на жаль, значна кількість молокопереробних підприємств толерує низьку якість заготівельного коров'ячого молока, яка в багатьох випадках визначається його фальсифікацією з метою корекції показників титрованої кислотності до 16 - 21°C, які закладені ДСТУ 3662 – 97 і в більшості випадків є визначальними під час прийому молочної сировини виробниками молочної продукції. Як показала діюча практика заготівлі коров'ячого молока, фальсифікація молочної сировини здійснюється заготівельниками, заготівельними організаціями, а також безпосередньо на сільських подвір'ях, де утримується худоба.

В зв'язку з цим, з метою вилучення цієї ганебної практики в українській молочної галузі пропонується впровадити безпосередній контроль фальсифікації молока за допомогою простих у використанні експрес – методів, що були описані в попередніх розділах даної праці.

Для цього заготівельні організації, пункти збору та охолодження молока, а також автотранспорт, що доставляє молочну сировину на підприємства повинні бути оснащені компактними тест – наборами для визначення фальсифікації молока. (мал. 4.1.)



Мал. 4.1. Необхідні заходи для уникнення фальсифікації заготівельного коров'ячого молока.

4.2. Виявлення фальсифікації коров'ячого молока під час заготівлі.

Для молочної промисловості, яка більшу частину молочної сировини закуповує у приватних невеликих господарствах та доставляє збірне/коров'яче молоко на переробку, дуже важким є своєчасне визначення фальсифікованої партії молока, щоб запобігти його змішуванню з якісною сировиною. Тому найкращим вирішенням цієї проблеми є визначення фальсифікації молока під час його відбору у виробника. В такому випадку молоковози та заготівельні охолоджувальні пункти збору молока повинні бути забезпечені експрес – методами визначення фальсифікації молока. До них слід віднести практично всі вищеописані методи, які не передбачають обов'язкову наявність спеціальних дозволів на використання хімічних реагентів у вигляді концентрованих кислот та лугів, а також хімічних субстанцій, що можна віднести до класу прекурсорів. Як

показала практика використання добревідомих, стандартних, а також цілого ряду авторських методик визначення фальсифікації коров'ячого молока, переважна більшість із них може бути розміщена в спеціальній валізі – скринці в вигляді самого необхідного тест – набору, що необхідний для оцінки присутності в молоці сторонніх субстанцій, за допомогою яких і здійснюється фальсифікація молочної сировини.

4.2.1. Тест – набір (валіза) для визначення фальсифікації коров'ячого молока.

Багаторічний досвід співпраці з молочною галуззю, що сприяв виявленню головних хімічних субстанцій та прийомів для фальсифікації дозволив авторам запропонувати для фізичних та юридичних осіб “мобільну пересувну лабораторію” з контролю за якістю (фальсифікацією) заготівельного коров'ячого молока. Ця “лабораторія” може бути розміщена в спеціальній валізі, що комплектується спеціальним набором хімічних реактивів та посуду, експрес – тестами для визначення антибіотиків та переносним рН – метром для контролю за активною кислотністю молока.

Враховуючи існуючі вимоги Мінохорони здоров'я та інших державних інституцій щодо дозволу на використання агресивних хімічних речовин, таких як кислоти – прекурсори (H_2SO_4 , HCl та інші) в комплектність валізи входять такі методики по визначенню фальсифікації коров'ячого молока, що передбачають використання тільки безпечних реактивів.

Всі хімічні реактиви, що містяться в валізі повинні відповідати кваліфікації не нижче ч.д.а. До них відносяться наступні:

1. Бромтимоловий синій згідно з чинними нормативними документами.
2. Розолова кислота згідно з чинними нормативними документами.
3. Фенолрот згідно з чинними нормативними документами.
4. Нейтральрот згідно з чинними нормативними документами.
5. Етиловий спирт (96%).
6. Реактив Неслера згідно з чинними нормативними документами.
7. 10% - вий розчин оцтової кислоти (ГОСТ 61 – 75).
8. 0,5% - вий розчин нітрату срібла згідно з чинними нормативними документами.
9. 10% - вий розчин хромовоокислого калію згідно ГОСТ 4459 – 75.

10. 2% - вий розчин перекису водню згідно з чинними нормативними документами.

11. 0,5% - вий розчин йоду.

12. Бромтимолблау ч.д.а. згідно з чинними нормативними документами.

13. Лимонна або оцтова кислоти.

14. Розчин йодистого калію згідно з чинними нормативними документами (ГОСТ 4232 – 74).

15. Вода дистильована згідно ДСТУ ISO 3696 або ГОСТ 6709, фенолфталеїн ч.д.а. згідно з чинними документами.

16. Крохмаль картопляний згідно з чинними нормативними документами.

17. Молібдат амонію згідно з чинними нормативними документами.

18. Борна кислота, ч.д.а., згідно з чинними нормативними документами.

19. Саліцилова кислота, ч.д.а., згідно з чинними нормативними документами.

Окрім реактивів в комплект валізи входить посуд та прилади необхідні для визначення фальсифікації молока:

1. рН – метр переносний (рекомендується “Knick”).

2. Термостат з терморегулятором, що працює від 12 В та 220 В та може бути використаний для визначення антибіотиків.

3. Ареометри для молока типу АМЗ з ціною ділення шкали 0,5 кг/м³ або типу АМТ з ціною ділення 1,0 кг/м³ згідно з ГОСТ 18481 – 81.

4. Пробірки скляні висотою 120 і діаметром 14 мм, або іншими розмірами.

5. Піпетки скляні або одноразові полімерні об’ємом 5 см³, 10 см³ з ціною поділки 0,1 см³.

6. Циліндри скляні для ареометрів зовнішнім діаметром 31, 39 та 50 мм по ГОСТ 18481 – 81.

7. Предметне скло.

8. Стакан хімічний скляний або полімерний об’ємом 150 см³.

9. Штатив для пробірок.

10. Лійки діаметром 5, 10, 20 см.

11. Набір експрес – тестів для визначення антибіотиків в молоці (Penzym – тест або BetaStar).

12. Набір мікробіальних тестів для визначення антибіотиків та інгібуючих речовин в молоці (Sorap – тест або СМТ – тест або BRT – тест).

13. Фільтрувальний папір.

14. Препарат «Мастоприм» згідно з чинними нормативними документами.

За допомогою набору хімічних реактивів та спеціального посуду, що містяться у валізі, можна визначити фальсифікацію молока наступними субстанціями:

- Содою;
- Аміаком;
- Миючими засобами (порошки, мило);
- Фосфатами;
- Водою;
- Крохмалем, борошном, картопляним відваром;
- Крейдою, вапном, гіпсом.

Для визначення присутності антибіотиків в молоці валіза комплектується експрес – тестами, які детально описані в III розділі цієї друкованої праці. В залежності від необхідності визначення виду антибіотиків, валіза містить необхідні експрес – тести та прилади для їх виконання.

На мал. 4.2. представлені фотографії тест – набору (валізи) для визначення фальсифікації коров'ячого молока, що рекомендується до використання в заготівельних пунктах збору молочної сировини, а також може бути присутня на молоковозах, що здійснюють її доставку на переробку.



Мал. 4.2 а



Мал. 4.2 б



Мал. 4.2 в

Мал. 4.2. Фотографії тест – набору (валізи) для експрес – визначення фальсифікації коров'ячого молока під час заготівлі.

а) Загальний вигляд валізи з частиною необхідних хімічних реагентів та посуду.

б) Вигляд вмісту валізи з частиною приладів, реагентів та тестів на антибіотики, що розташовані на дні тест – набору.

в) Вигляд верхньої частини валізи з посудом та реагентами.

4.3. Перелік законодавчих документів та фізико – хімічних, хімічних та мікробіологічних методів необхідних для організації контролю за якістю та показниками безпеки заготівельного коров'ячого молока.

1. ДСТУ 3662:97. Молоко коров'яче незбиране. Вимоги при закупівлі.

2. ДСТУ 2212:2003. Молочна промисловість. Виробництво молока та кисломолочних продуктів. Терміни та визначення понять.

3. ДСТУ 4834:2007. Молоко та молочні продукти. Правила приймання, відбирання та готування проб до контролювання.

4. ДСТУ ISO 707 – 2002. Молоко та молочні продукти. Настанови з відбирання проб. (ISO 707:1997, IDT).

5. ДСТУ ISO 8197:2004. Молоко та молочні продукти. Відбирання проб. Контроль за кількісними ознаками (ISO 8197: 1988 IDT).

6. ДСТУ 6082: 2009. Молоко та молочні продукти. Методи визначення густини.

7. ДСТУ 6083: 2009. Молоко. Методи визначення чистоти.

8. ДСТУ ISO 488: 2007. Молоко. Визначення масової частки жиру. Жироміри Гербера (ISO 488: 1983 IDT).

9. ДСТУ 6066: 2008. Молоко та молочні продукти. Методики визначення температури і маси нетто.

10. ДСТУ ISO 1211 – 2002. Молоко. Гравіметричний метод визначення вмісту жиру (контрольний метод) (ISO 1211:1999 IDT).

11. ДСТУ ISO 11870: 2007. Молоко та молочні продукти. Визначення масової частки жиру. Загальні рекомендації щодо використання методів із застосування жиромірів. (ISO 11870: 2000 IDT).

12. ГОСТ 3624 – 92. Молоко и молочные продукты. Титрометрические методы определения кислотности.

13. ГОСТ 28283 – 89. Молоко коровье. Метод органолептической оценки запаха и вкуса.

14. ДСТУ ISO 6731: 2007. Молоко, вершки та згущене молоко. Визначення масової частки сухих речовин (контрольний метод) (ISO 6731: 1989, IDT).

15. ДСТУ ISO 14537/IDF 195:2009. Молоко. Ферментативний метод визначення вмісту сечовини з використанням різниці рН. (Контрольний метод) (ISO 14537/ IDF 195:2004, IDT) (01.01.2011 р.).

16. ДСТУ 5073:2008. Молоко та вершки. Метод визначення термостійкості за алкогольною пробою.

17. ГОСТ 30562:2003 (ISO 5764 – 87). Молоко. Определение точки замерзания. Криоскопический метод (ГОСТ 30562 – 97).

18. ГОСТ 23454 – 79. Молоко. Методы определения ингибирующих веществ.

19. ГОСТ 24065 – 80. Молоко. Методы определения соды.

20. ГОСТ 24066 – 80. Молоко. Метод определения аммиака.

21. ГОСТ 24067 – 80. Молоко. Метод определения перекиси водорода.

22. ДСТУ EN 12014 – 2002. Продукти харчові. Визначення вмісту нітрату і/або нітриту. (EN 12014:1997, IDT).

23. ДСТУ ISO 14501/ IDF 171:2009. Молоко та молочний порошок. Визначення вмісту афлотоксину М1. Очищення методом імуноафіної хроматографії та визначення методом високоефективної рідинної хроматографії (ISO 14501/ IDF 171:1998, IDT) (01.01.2011 р.).

24. ДСТУ ISO 14675:2005. (IDF 166:2003). Молоко та молочні продукти. Настанови щодо стандартизованого описування конкурентоспроможного імуноферментного випробовування. Визначення вмісту афлотоксину М1 (ISO 14675:2003, IDT; IDF 186:2003).

25. ДСТУ 7047:2009. Молоко та молочні продукти. Визначення вмісту афлотоксину М1 методом рідинної хроматомаспектрометрії.

26. ДСТУ ISO 18330:2005 (IDF 188:2003). Молоко та молочні продукти. Настанови щодо стандартизованого описування імунного або рецепторного випробовування для виявлення антимікробних залишків (ISO 18330:2003, IDT; IDF 188:2003).

27. ДСТУ ISO 13969:2005 (IDF 183:2003). Молоко та молочні продукти. Настанови щодо стандартизованого описування випробовування інгібіторів мікроорганізмів (ISO 13969:2003, IDT; IDF 183:2003).

28. ДСТУ ISO 3890:2007. Молоко та молочні продукти. Визначення залишків хлорорганічних сполук (пестицидів).

29. ДСТУ 93A:2003. Молоко та молочні продукти. Визначення Salmonella (IDF 93A:1985, IDT).

30. ДСТУ IDF 73A:2003. Молоко та молочні продукти. Підрахування кількості коліформ. (IDF 73A:1985, IDT).

31. ДСТУ IDF 83:2003. Молоко та молочні продукти. Стандартний метод визначення термонуклеази, продиктованої коагулазопозитивними стафілококами у молоці та молочних продуктах (IDF 83:1978, IDT).

32. ДСТУ IDF 100B:2003. Молоко та молочні продукти. Визначення кількості мікроорганізмів (IDF 100B:1991, IDT).

33. ДСТУ ISO 5944:2005 (IDF 60:2001). Молоко та продукти на основі молока. Визначення кількості коагулазопозитивних стафілококів (ISO 5994:2001, IDT; IDF 60:2001).

34. ДСТУ ISO 6611/ IDF 94:2007. Молоко та продукти на основі молока. Визначення колонієутворювальних одиниць дріжджів та/чи плісені. (ISO 6611/ IDF 94:2004, IDT).

35. ДСТУ ISO 11290:230. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Метод виявлення та підрахування *Listeria monocytogenes*.

Список літератури

1. Моніторинг розвитку ринку молока та молочних продуктів (10–й випуск). Спілка молочних підприємств України. Київ, 2015, 70 с.
2. Методичні рекомендації з визначення фальсифікації коров'ячого молока, що заготовлюється молокопереробними підприємствами для студентів, які навчаються за навчальними планами бакалаврів, спеціалістів і магістрів спеціальностей 6.091700 (709), 7.091709 і 8.091709 денної та заочної форм навчання, для працівників лабораторій молокопереробних підприємств, для підприємств, які займаються заготівлею коров'ячого молока (О. П. Чагаровський, Н. А. Дідух, Є. О. Ізбаш, А. С. Чагаровська – Київ – Одеса: Міністерство аграрної політики України, Спілка Молокопереробних підприємств України, ОНАХТ, ТОВ «Науково – виробнича організація Лактол», ТОВ «Хр. Хансен Україна», 2010. – 46 с.
3. Науково–методичні основи моніторингу якості сирого молока (Є. В. Руденко, С. О. Шаповалов, Л. М. Россо, Н. П. Русько, Т. О. Бредіхіна, В. В. Цюпко, О. Т. Гріцина – Харків: Інститут тваринництва НААН України. – 2010. – 122 с.
4. Безпека харчування: сучасні проблеми:/А. В. Бабюк, О. В. Макарова, М. С. Рогозинський, Л. В. Романів, О. Є. Федорова – Чернівці: Книги – XXI, 2005. – 456 с.
5. Чагаровський О. П. Хімія молочної сировини: навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів./ О. П. Чагаровський, Н. А. Ткаченко, Т. А. Лисогор. – Одеса: «Сімекс–прінт», 2013. – 268 с.
6. ДСТУ 3662 – 97. Молоко коров'яче незбиране. Вимоги при закупівлі.
7. Методические указания по оценке подлинности и выявлению фальсификации молочной продукции. МУ 4.1/4.2. 2482 – 09. – М.: Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. – 26 с.

8. Дубініна А. А., Овчинікова І. Ф., Дубініна О. С. та ін. Методи визначення фальсифікації товарів. Підручник. – К.: Видавничий дім «Професіонал», 2010. – 272 с.
9. Коломієць Т. М. Експертиза товарів: Підручник / Т. М. Коломієць. – К.: КНТУ, 2001. – 130 с.
10. Коваленко Д. Н. Фальсифікація молока и молочных продуктов. <http://www.milkbranch.ru/publ/view/543.html>
11. Бурыкина И. М. Фальсифікація молока–сырья /И. М. Бурыкина // Молоч. пром–сть. – 2007. – № 6. – С. 16–17.
12. Бурыкина И. М. Выявление посторонних веществ в молоке–сырье / И. М. Бурыкина // Молоч. пром–сть. – 2007. – № 2. – С. 7–8.
13. Бурыкина И. М. Научные и практические аспекты формирования качества сырого молока. Монография / И. М. Бурыкина // Вологда–Молочное. – 2009. – 111 с.
14. Святкина Л. И. Идентифікація и фальсифікація пищевых продуктов: лабораторный практикум / Л. И. Святкина. – Иркутск: Изд–во Иркут. сос. ун–та, 2011. – 60 с.
15. Назаренко Л. О. Ідентифікація та фальсифікація продовольчих товарів: Слайд–курс. Навчальний посібник / Л. О. Назаренко – К.: «Центр учебовой літератури», 2014. – 248 с.
16. Шидловская В. П. Органолептические свойства молока и молочных продуктов: Справочник. – М.: Колос, 2000. – 280 с.
17. Тепел А. Химия и физика молока. Перевод с нем. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 623 с.
18. Засоби та способи фальсифікації молока та методи її виявлення./www.studfiles.ru/preview/5424152/page:37/
19. Лепилкина О. В., Тетерева Л. И. Методы установления фальсифікації жировой фазы продуктов. – Сыроделие и маслоделие/ – № 5/ – 2011.
20. Паронян В. Х., Скрыбина Н. М. Аналитический контроль и оценка качества масложировой продукции. – М.: ДеЛи принт, 2007. – 312 с.

21. Меркулова Н. Т., Меркулов М. Ю., Меркулов И. Ю. Производственный контроль в молочной промышленности. Практическое руководство. – СПб.: ИД «Профессия», 2010. – 656 с.
22. Ветеринарні імунобіологічні засоби / За заг. ред. А. М. Головка та В. О. Ушкалова. – Х. НТМТ, 2012. – 684 с.
23. Молоко. Виробництво та переробка / за ред. О. М. Якубчак. – К.: «Компанія Біопротект». – 2011. – 60 с.
24. Шепелев А. Ф., Кожухова О. И. Товароведение и экспертиза молока и молочных продукто: учебное пособие. – Ростов н/Д: Издательский Центр «МарТ», 2001. – 128 с.
25. Булдаков А. С. Пищевые добавки. Справочник. 2–е изд. перераб. и доп. – М.: ДеЛи принт, 2001. – 436 с.
26. Рудавська А. Б., Дейниченко Г. В., Козлов В. М., Дюкарева Г. І. Товарознавство молочних товарів. Навчальний посібник. – К.: ВД «Професіонал», 2004. – 312 с.
27. Szymhorski J. Z., Bogusz C., Jazdzewski K. Praktyczne zastosowanie wymagan Unii Europejskiej s Polski w sektorze mleczaeskim. Praca zbiorowa Wydanie 1. Zwiasek Pzywatnych Pczetowcow Mleka oraz Stowazzyszenie Naukowo – Techniczne Inzynierow I Technikow Pzzemysclu Spozywczego. Warszawa, 2001. – 197 s.
28. Пономарьов П. Х., Сирохман І. В. Безпека харчових продуктів та продовольчої сировини. Навчальний посібник. – К.: Лібра, 1999. – 272 с.
29. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт із застосуванням рішень компанії “CHR. HANSEN” в молочній промисловості / О. П. Чагаровський, В. М. Поліщук, В. В. Вашека та ін. Навчальне видання. – К.: НУХТ, 2015. – 44с.
30. Молоко без антибіотиків. Портфоліо тестових наборів від компанії Хр. Хансен, 2016, www.chr-hansen.com/.