

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

**ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
НАУКИ И КАДРОВ**

**УО «ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Кафедра гигиены животных**

**Методические указания**

к лабораторно-практическим занятиям **«Ветеринарно-санитарная экспертиза и контроль качества молока»** по дисциплине: «Ветеринарно-санитарная экспертиза» для студентов 5 курса по специальности 1 740302 – «Ветеринарная медицина»

**Гродно 2008**

УДК 637.14.05 (072)

619:614.31:637.14 (072)

ББК 48.1 я 73

М 54

Авторы: А.П. Свиридова, О.В. Копоть, Л.С. Кипцевич

Рецензент: доцент, кандидат биологических наук В.М. Обуховский

Методические указания к лабораторно-практическим занятиям «Ветеринарно-санитарная экспертиза и контроль качества молока» по дисциплине: «Ветеринарно-санитарная экспертиза» для студентов 5 курса по специальности 1 740302 – «Ветеринарная медицина» / А.П. Свиридова, О.В. Копоть, Л.С. Кипцевич. – Гродно: ГГАУ, 2008 – 43 с.

Методические указания предназначены для проведения лабораторно-практических занятий для студентов факультета ветеринарной медицины.

**УДК 637.14.05 (072)**

**619:614.31:637.14 (072)**

**ББК 48.1 я 73**

Рекомендовано учебно-методической комиссией факультета ветеринарной медицины УО «ГГАУ» (Протокол № 7 от 26 июля 2008 года).

А.П. Свиридова, О.В. Копоть, Л.С. Кипцевич, 2008

## Содержание

Введение .....	4
Занятие 1. Органолептические методы исследования молока .....	5
Занятие 2. Лабораторные методы исследования качества молока .....	15
Занятие 3. Определение натуральности молока .....	34

## Введение

Молоко – один из самых ценных продуктов питания человека. По пищевой ценности оно может заменить любой продукт, но ни один продукт не заменит молоко. Наряду с высокой питательной ценностью молоку присущи диетические и лечебные свойства. Со времен глубокой древности молоко используют в лечебных целях. «Источником здоровья», «белой кровью» называли молоко древние философы.

Молоко содержит все необходимые для питания человека вещества - белки, жиры, углеводы, которые находятся в сбалансированных соотношениях и легко усваиваются организмом. Кроме того, в нем содержатся многие ферменты, витамины, минеральные вещества и другие важные элементы питания, необходимые для обеспечения нормального обмена веществ.

Молоко используют либо как продукт питания в переработанном или переработанном виде, либо как сырье для молочной и пищевой отраслей промышленности. К отличительным особенностям молока как сырья относится то, что, являясь источником полноценного белка, оно поликомпонентно по составу, неадекватно по функционально-технологическим свойствам, биологически активно и под влиянием внешних факторов лабильно изменяет свои свойства и параметры.

Однако молоко – скоропортящийся продукт, так как служит хорошей средой для развития различных микроорганизмов, в том числе патогенных, возбудителей опасных болезней животных и человека (бруцеллез, туберкулез, дизентерия, ящур и др.). Учитывая это, ветеринарным законодательством запрещается использовать молоко от коров, больных сибирской язвой, бешенством, чумой и др. опасными заболеваниями. При некоторых болезнях животных (мастит, ящур, бруцеллез, туберкулез) молоко должно подвергаться соответствующей обработке (кипячение, пастеризация и т.д.).

Нарушение режима содержания и кормления молочных

животных, невыполнение санитарно-гигиенических требований при первичной переработке и транспортировке молока могут существенно изменить его технологические качества или даже сделать негодным или вредным для человека и животных.

## **Ветеринарно-санитарная экспертиза молока**

### **Занятие 1**

**Тема: Органолептические методы исследования молока**

**Цель занятия:** ознакомиться с правилами работы и техникой безопасности в лаборатории. Изучить правила отбора средних проб молока для анализов, их хранение и консервирование. Освоить методы органолептической оценки молока

### **Правила техники безопасности при работе в молочной лаборатории**

(Инструктаж на рабочем месте)

1. При выполнении анализов работать стоя. На рабочем столе не должно быть никаких посторонних предметов, кроме тетради для записи.
2. Категорически запрещается пить воду из химической посуды.
3. При пользовании реактивами соблюдать особую аккуратность: банки с сухими реактивами и склянки с растворами держать закрытыми, открывать их только во время употребления; использованные растворы выливать в специальные банки.
4. Реактивы должны стоять на определенных местах. Необходимо соблюдать порядок в расстановке реактивов.
5. Бумагу, фильтры, битую посуду выбрасывать в специальные сосуды или ведра.
6. Не включать и не выключать без разрешения преподавателя рубильники и приборы.
7. Нельзя пробовать реактивы на вкус.
8. Не втягивать кислоту в пипетку ртом, для этого использовать резиновую грушу; для отмеривания кислоты,

изоамилового спирта лучше всего использовать дозаторы; при отсчете показателя жира жиромер держать за расширенную часть, завернутую в салфетку.

9. Если кислота попала на руки или лицо, нужно пораженные места тотчас же промыть чистой водой, затем слабым раствором соды и снова чистой водой. Если кислота попала на одежду, ее нейтрализуют сухой содой и смывают водой. При попадании кислоты на стол, штатив, пол ее нейтрализуют сухой содой, смывают водой и тщательно вытирают.

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

11. Если в центрифуге разобьется жиромер, немедленно промыть диск содовым раствором, чистой водой и вытереть насухо.

12. Сухую хлорную известь и ее растворы хранить в темном сухом месте в хорошо закрытой посуде.

13. При выполнении работ, связанных с кипячением растворов в пробирках (проба кипячением и лактоальбуминовая проба, определение молочного сахара), их отверстия держать в сторону от себя и от работающих рядом.

Каждый студент обеспечивается инструкцией правил по технике безопасности в молочной лаборатории, которую изучает. Дополнительно с преподавателем изучают особенности соблюдения безопасных приемов при работе с кислотой, щелочью и другими агрессивными реактивами, устанавливают порядок проведения анализов. После этого студенты расписываются в журнале регистрации инструктажа по технике безопасности.

### **Правила ветеринарно-санитарной экспертизы молока**

Ветеринарно-санитарной экспертизе подлежат молоко сырое, полученное на молочно-товарных фермах сельскохозяйственных организаций, личных подсобных и крестьянских (фермерских) хозяйств и предназначенное для производства молочных продуктов на

молокоперерабатывающих предприятиях, а также молоко и молочные продукты домашнего изготовления для реализации на рынках Республики Беларусь.

Правилами предусмотрено:

1. На рынке разрешается продажа молока, прошедшего экспертизу в лаборатории ветсанэкспертизы, поступающего из индивидуальных и общественных хозяйств, благополучных по заразным болезням животных.

При выявлении молока, полученного от больных коров, овец, коз, кобыл, доставленного на экспертизу, оно уничтожается под контролем ветврача в присутствии владельца. Фальсифицированное молоко смешивается с суррогатом кофе и возвращается владельцу. В этих случаях изымается удостоверение (ветеринарная справка) на право продажи молока и составляется акт в двух экземплярах, один направляется главному ветврачу района.

Не допускают к продаже молоко:

- от коров в течение первых 7 дней после отела (молозиво) и последних 7 дней до запуска (стародойное);
- не отвечающее установленным требованиям по физико-химическим показателям (плотность, кислотность, жирность) и бактериальной обсемененности;
- при наличии нейтрализующих и консервирующих веществ,
- с остаточным количеством химических средств защиты растений и животных, антибиотиков и других вредных веществ, предусмотренных действующим законодательством;
- с органолептическими пороками;
- доставленное на рынок в оцинкованной и грязной посуде, а также при использовании для упаковки тканевого материала;
- при выявлении фальсификации: подсытие жира, добавление воды, крахмала, соды, др. примесей.

2. Молоко и молочные продукты, предназначенные для реализации в торговой сети, проходят производственно-лабораторный контроль на молокоперерабатывающих предприятиях и сопровождаются документами, гарантирующими их качество и безопасность.

3. Ветеринарно-санитарная экспертиза молока сырого на молочно-товарных фермах сельскохозяйственных организаций осуществляется непосредственно в местах его производства на показатели, предусмотренные действующим ТНПА.

4. Молоко, поступившее для продажи на рынок, исследуют органолептически, определяют группу чистоты, плотность, кислотность, содержание жира, белка, общее количество микроорганизмов, количество соматических клеток. Исключают фальсификацию молока и молоко, полученное от маститных коров.

Пробы молока исследуют не позже I часа после взятия.

5. На доставленное для продажи молоко, хозяйства должны представить:

- сертификат (анализ);

- ветеринарную справку о благополучии хозяйства по заразным болезням, о прививке против сибирской язвы, о дате и результатах исследования на туберкулез, бруцеллез и субклинические маститы.

Индивидуальные поставщики предъявляют санитарную книжку и вышеуказанную справку.

Срок действия ветеринарной справки - I мес.

Продажу молока производят в молочных павильонах или отведенных для этого на рынке местах при соблюдении санитарных правил торговли и с наличием на посуде этикетки ветсанэкспертизы.

### **Отбор проб молока**

Это самый ответственный момент исследования. Состав молока изменяется даже в течение суток и неумело отобранная проба может явиться причиной неправильного заключения.

Пробу надо отобрать так, чтобы она отражала состав исследуемого молока. Тщательно перемешав в течение 1-3 минут мутовкой, из любой посуды пробу молока берут металлической (из алюминия и др.) или пластмассовой трубкой-отборником (Д - 9 мм). Каждый раз, в начале ее прополаскивают исследуемым молоком.

Трубку медленно и вертикально погружают в молоко до



дна посуды, чтобы столбик (молока) в трубке заполнился всеми слоями молока из емкости. Закрыв верхнее отверстие большим пальцем руки, извлекаем и выливаем молоко в чистую стеклянную посуду.

Пробу можно взять мерными черпачками, цилиндрами и мензурками.

Бутылочки должны быть заполнены на  $\frac{3}{4}$ , чтобы во время транспортировки при сбалтывании не образовывались кусочки масла.

**Средняя проба** - часть продукта, отобранная из всех емкостей (любой посуды) или упаковок (выборки), представленных на экспертизу.

Когда средняя проба оказывается большой по массе из нее отбирают **лабораторный образец**. Это часть средней пробы, необходимая для полного санитарно-гигиенического исследования объемом 250 мл. Для определения кислотности и жира достаточно 50 мл молока.

**Отбор средней пробы молока** проводят для характеристики отдельных животных или группы животных по хозяйству.

**Среднюю стойловую пробу** отбирают при изучении состава молока у отдельных животных. Пробу берут на скотном дворе, пропорционально объему каждого удоя от одной или группы коров в течение двух сменных суток (она составляет 5-15 мл от каждого надоенного литра молока). До отбора проб надо хорошо ознакомиться с продуктивностью животных, чтобы определить объем порций от каждого литра надоенного молока и следить за соблюдением режима кормления и содержания животных.

При нарушении режима следует воздержаться от взятия пробы.

Пример: Удой в первые сутки - 25 л (допустим утром - 13, вечером - 12 л), за вторые сутки также 25 л (утром - 14, вечером - 11 л). Всего надоено 50 л молока. Следовательно, от 1 л каждого удоя следует брать  $(250 : 50)$  по 5 мл молока. Для удобства отмеривания дробные величины надо округлить. Такой же порядок расчета средней пробы молока от группы коров (если стадо большое, делят условно на группы).

**Стойловую контрольную пробу** берут в случаях:

- когда оспариваются результаты исследования;
- возникает сомнение в натуральности молока (фальсификации),
- возникает подозрение в получении молока от больных животных и т.д.

Ее отбирают не позднее чем через двое суток после исследования подозреваемого молока - от тех же коров и той же дойки (утром, вечером) при тех же условиях кормления и содержания. Выдаивание должно быть полным. Разница в контроле и в стойловой не должна превышать 0,3%.

Среднюю пробу для характеристики молока по хозяйству берут после окончания доения коров.

**Отбор проб из партии молока** (т.е. выпущенного одним заводом, одного режима обработки, в одной таре и оформленного одним сопроводительным документом). От партии отбирают объединенную пробу, состоящую из точечных, помещенных в одну емкость. Из объединенной пробы выделяется проба для лабораторного анализа - лабораторный образец (250 мл).

**Точечная проба** - часть нештучной продукции, единовременно взятая из фляги, отсека цистерны и т.п.

В цистернах поступающее молоко перемешивают 1-3 мин. мутовкой. Из каждого отделения цистерны берут отдельные (точечные) пробы, из которых составляют объединенную, а из нее выделяют лабораторный образец.

Из молока, доставленного в флягах (транспортная тара), пробу берут (после 8-10 разового перемешивания мутовкой) из каждой 20-ой фляги (5% от общего количества фляг), если менее 20-ти фляг - отбирают из одной. Отобранные (точечные) пробы тщательно перемешивают и из объединенной пробы (выборки) отбирают отборником лабораторный образец.

Органолептику и кислотность определяют в каждой упаковочной единице партии (отсеке цистерны, фляге).

Из молока, поступающего в реализацию и расфасованного в бутылки или пакеты (потребительская тара) отбор проб производят следующим образом (ГОСТ 26809-86):

2 единицы расфасовки до 100 ящиков

- 3 единицы от 100 - 200 ящиков
- 4 единицы от 201 – 500 ящиков
- 5 единиц от 501 - и более ящиков

Отобранные единицы упаковки исследуют каждую в отдельности.

Пробы анализируют на плотность, кислотность, чистоту, жирность, микробную загрязненность не ранее 2 часов после дойки и не позднее 4-5 часов после отбора.

В лабораториях ветсанэкспертизы рынков пробы отбирают только работники лаборатории из каждой предъявленной владельцем емкости в количестве не менее 250 мл для полного и 50 мл для неполного исследования. Исследования проводят не позднее 40 - 60 минут после взятия пробы. Для микробиологического исследования отбирают пробы в стерильную колбу и хранят при температуре до 6<sup>0</sup> С не более 4 ч.

Исследуемые пробы отбирают в заранее подготовленные чистые сухие бутылочки. После заполнения их закрывают резиновой или корковой пробкой с указанием на этикетке клички коровы, фермы, бригады, хозяйства. Если не исследуют в день отбора, их консервируют и опечатывают сургучом (мастикой) и охлаждают.

### **Консервирование и хранение проб**

Пробы молока для последующих исследований консервируют холодом или добавлением химических веществ. Для сохранения молока в течение двух суток его достаточно охладить и держать при температуре +2 - +5 °С.

Для более длительного хранения применяют следующие химические вещества:

- 30-33% раствор перекиси водорода ( $H_2 O_2$  – пергидроль). На 100 мл молока вносят 2-3 капли пергидроля. Пробы сохраняются 8 - 10 суток. Под действием ферментов молока (оксидазы, каталазы) перекись водорода, расщепляясь, выделяет кислород, который проникает в бактериальную клетку и вызывает ее гибель.

- 2-10 % раствор двухромовокислого калия ( $K_2 Cz_2 O_5$  -хромпик). На каждые 100 мл молока 1 мл (10 – 12 капель) 10

%-ного консерванта, приготовленного на свежеекипяченной воде. Если определяют плотность молока, тогда рекомендуется 4,3 – 5,0 % хромпик (2 мл на 100 мл молока), поскольку плотность консерванта при такой концентрации близка к плотности молока. Сохраняются пробы до 10 - 12 суток. Сущность консервирования в том, что при разложении  $K_2 C_2 O_5$  образуется кислород, губительный для микроорганизмов - разрушает протоплазму микробной клетки.

- 40% формалин (НСОН). На 100 мл молока берут 2 - 3 капли консерванта. Пробы сохраняются до 15 суток. Формалин, взаимодействуя с белками бактерий, вызывает их гибель. Но при избытке он также взаимодействует и с белками молока (соединение его с казеином плохо растворяется в кислоте, что затрудняет определение жира). Поэтому, чтобы не повлиять на точность показаний не допускается избыток формалина.

Современные консерванты:

-Грапол

-Бронопол

Консервированные пробы молока не оценивают органолептически и не исследуют на кислотность, бактериальную обсемененность и биологические свойства. Консервированное молоко хромпиком и формалином нельзя использовать в пищу людям и животным. Пробы, консервированные перекисью водорода, после кипячения можно использовать в корм животным.

### **Подготовка проб к исследованию**

Консервированные или длительно хранившиеся пробы молока перед исследованием для равномерного распределения жировых шариков и удаления излишков газа подогревают (открыв пробки) в воде до 40 - 50°C, затем перемешивают, перевертывая бутылочки 4-5 раз или переливая из сосуда в сосуд, и охлаждают в воде (15-18°C) до 20°C. Объем пипеток для отмеривания молока устанавливается также при 20°C. Переливать или перемешивать молоко следует так, чтобы не образовывалась пена, которая влияет на точность результатов.

### **Органолептическая оценка качества молока**

Органолептические свойства обусловлены составом входящих веществ. Так жир придает нежность, лактоза - сладость, белки и минеральные соли - полноту вкуса и т.п.

Оценка органолептических качеств молока основывается на умении сенсорного определения цвета, запаха, вкуса, консистенции и наличия тех или иных пороков.

**Цвет** определяют в цилиндре из бесцветного стекла, просматривая при отраженном естественном (дневном) свете.

Молоко от здоровых животных белого цвета с желтоватым (коровье, козье) или синеватым (кобылиц) оттенком. Желтоватый оттенок зависит от наличия каротина и липохромов в молочном жире. Белый цвет обусловлен корпускулярным строением белка казеина и белковыми оболочками жировых шариков.

**Запах** молока определяют в проветренном помещении в момент открывания сосуда, в котором доставлено молоко или при переливании молока.

В лаборатории запах следует определять при комнатной температуре или после легкого подогревания молока (до 35<sup>0</sup>С) в закрытом сосуде. Правильное представление получают при коротких попеременно прерываемых вдохах через носовую полость.

Свежее натуральное молоко приятного, специфического, едва различимого для данного вида животных, запаха. Следует отметить, что молоко очень быстро адсорбирует запах окружающего воздуха насыщенного остропахнущими продуктами (силоса, аммиака) и веществами. Это нужно учитывать при получении и хранении молока.

**Консистенцию** определяют при медленном переливании тонкой струйкой по стенке из одного сосуда в другой. Качественное молоко однородное, не слизистое, без хлопьев белка, нетягучее, но у буйволиц и овец - вязкое.

Молоко, разбавленное водой или обратом, имеет излишне жидкую, водянистую консистенцию.

**Вкус и привкус** молока от заведомо здорового животного устанавливают, набрав его в рот, не заглатывая, а смачивая им полость рта до корня языка. С молоком необходимо захватить побольше воздуха и медленно выдохнуть через нос. Слабые привкусы лучше выявляются при повышенной температуре. Но нужно учитывать, что при температуре воздуха выше 36°C снижается чувство кислого, горького, а ниже 15°C - солёности и пр.

Вкус доброкачественного молока - специфический слегка сладковатый, приятный.

**Задание.** Отобрать пробы молока и провести органолептические исследования. Результаты занести в таблицу 1. Сделать выводы.

**Таблица 1.** Органолептические свойства молока

№ п/п	Показатели	№ пробы				
		1	2	3	4	5
1	Цвет					
2	Запах					
3	Вкус и привкус					
4	Консистенция					

### Задачи для самостоятельного решения

1. Составить среднесуточную пробу молока в количестве 50 мл от удоев коровы Малины.

Время дойки	Удой коровы, л	Объем пробы, мл
Утро	7	
Полдень	8	
Вечер	5	

2. Составить среднюю пробу от следующих количеств молока: в первой ванне 425 кг, во второй – 370 кг, в третьей – 504 кг.

## **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ**

1. Понятие о молоке и его пищевое значение.
2. Правила работы в лаборатории и техника безопасности.
3. Описать порядок и правила отбора средней пробы молока.
4. Консервирование проб молока (цель, консервирующие вещества).
5. Описать подготовку пробы молока для анализа.
6. Как проводят органолептические исследования молока.
7. Требования к заготавливаемому молоку по органолептическим показателям.

### **Занятие 2**

#### **Тема: Лабораторные методы исследования качества молока**

**Цель занятия:** освоить лабораторные методы оценки качества молока

#### **Физико-химические свойства молока**

##### **Определение плотности молока**

Для определения плотности служит лактоденсиметр (ареометр комбинированный с термометром), градуированный при 20<sup>0</sup> С, который имеет две шкалы: верхняя показывает температуру молока, нижняя истинную плотность. Чтобы упростить расчеты плотность выражают в градусах лактоденсиметра (ареометра) - это сотые и тысячные доли истинной плотности и обозначаются - <sup>0</sup> А.

**Техника определения.** Плотность молока следует определять не раньше 2 часов после доения, за это время, улетучивается часть газов, растворенных в парном молоке, жир из жидкого состояния переходит в твердое.

В стеклянный цилиндр (емкостью 250 мл) по стенке (без образования пены) наливают 170-200 мл хорошо перемешанного

молока. Медленно погружают чистый сухой лактоденсиметр (ареометр), не касаясь стенок и дна цилиндра. Через 1 - 2 мин. снимают показания лактоденсиметра по верхнему мениску с точностью до половины минимального деления.

Если температура молока выше или ниже 20°C, вводят поправки на температуру по таблице или определяют ее, умножая на специальный коэффициент – 0,2 ° А ( 0,0002) на каждый градус отклонения от 20°C. При температуре молока выше 20°C - поправку прибавляют, если ниже 20°C - поправку вычитают.

Пример. Показания на шкале термометра - 16°C, по шкале ареометра - 29,5°А или (1029,5 кг/м<sup>3</sup>). Поправка на температуру 20-16=4<sup>0</sup>; 4 x 0,2=0,8. Плотность молока с поправкой, выраженная в градусах ареометра: 29,5-0,8=28,7°А. Истинная плотность молока будет 28,7°А или 1028,7 кг/м<sup>3</sup>.

Показатель плотности используют:

- для перерасчета молока из килограммов в литры и наоборот,
- для установления натуральности его,
- для расчета по формулам количества сухих веществ и сухого обезжиренного остатка молока.

На точность показания плотности влияет кислотность, примеси, правильность перемешивания, чистота ареометра и т.п.

### **Определение содержания жира в молоке**

Содержание жира. в молоке имеет большое значение при санитарно-гигиенической оценке (при многих болезнях у лактирующих животных количество жира резко изменяется). Этот показатель необходим для пересчета количества молока фактической жирности на базисную, для нормализации молока на молочных заводах и составления жирового бальнса с целью контроля работы молокозаводов.

Это можно сделать разными способами. Стандартным и обязательным для всех лабораторий является **сернокислотный метод** (метод Гербера). Он основан на том, что в результате действия концентрированной серной кислоты на казеин образуется растворимое комплексное соединение казеиновой и



серной кислот. Кроме комплексного соединения, образуется кальциевая соль серной кислоты в виде белого осадка (гипс). Серная кислота растворяет белки молока, в т.ч. и белковые оболочки жировых шариков. Реакция сопровождается повышением температуры смеси до 70-75<sup>0</sup>С.

Изоамиловый (или амиловый) спирт применяют для более полного и быстрого выделения жира. Последний, соединяясь с кислотой, образует изоамилово-серный эфир, уменьшающий поверхностное натяжение на границе сред Жира и нежировой части) и способствует соединению жировых шариков в сплошной слой. При последующем центрифугировании молочный жир, как наиболее легкая составная часть смеси, собирается в верхней части прибора - бутирометра.

Бутирометр - резервуар со шкалой и делениями (большими и малыми), которые показывают содержание жира. Резервуар наполняют строго определенным количеством молока и реагентов.

Заполнять бутирометр надо в определенной последовательности:

кислота - молоко - изоамиловый спирт.

Техника определения: В штатив установить пронумерованные жиромеры.

1. В чистый сухой молочный жиромер вносят пипеткой - автоматом, стараясь не смочить горлышко, 10 мл (см<sup>3</sup>) серной кислоты (плотностью - 1,81 - 1,82).

2. Специальной пипеткой отмерить 10,77мл (см<sup>3</sup>) (уровень по нижнему мениску) тщательно перемешанного молока и осторожно по стенке жиромера влить не смешивая его с кислотой. Для полного удаления молока, кончик пипетки прижать к стенке (молоко не выдувать из пипетки). Слой молока должен находиться над слоем кислоты.

3. Влить 1мл (см<sup>3</sup>) изоамилового спирта (П-0,81) автоматической пипеткой. При внесении реактивов нельзя смачивать горлышко жиромера.

Жиромер плотно закрыть специальной резиновой пробкой (горлышко должно быть сухое). Жиромер держать за расширенную часть, предварительно завернув его салфеткой, во избежание ожога. Содержимое перемешать, перевернув

несколько раз, до полного растворения сгустка белка (бурого цвета). Безопаснее встряхивать, заложив жиरोмер в патрон от центрифуги.

Убедившись в полном разрушении белковых веществ молока, движением резиновой пробки регулируем содержимое жиромера так, чтобы оно заходило в трубку со шкалой. Если содержимое не доходит до нужного уровня (несколько выше шестого деления), тогда открывают пробку и доливают необходимое количество серной кислоты, но не изоамилового спирта.

5. Жиरोмеры поместить пробкой вниз в водяную баню при температуре  $65-70^{\circ}\text{C}$  на 5 мин. Вода должна доходить до уровня содержимого в жиромерах..

6. Вынуть жиरोмеры из водяной бани, обтереть и вставить в центрифугу (пробкой к периферии). Помещать жиरोмеры в центрифугу надо симметрично. Для уравнивания нечетного патрона можно использовать жиромер с водой. Завинтить прочно крышку центрифуги и центрифугировать 5 минут со скоростью не менее 1000 об/мин..

7. Повторить выдержку жиромеров в водяной бане при  $65-70^{\circ}\text{C}$  пробкой вниз.

8. Жиरोмеры вынуть из бани, установить нижнюю границу столбика жира на ближайшем целом делении шкалы. Для этого достаточно ввинтить или вывинтить пробку жиромера. Отсчет проводят по нижней точке мениска. Большие деления шкалы жиромера соответствуют целым, а малые - десятым долям процента жира.

Граница раздела жира и кислоты должна быть четкой, а столбик жира – прозрачным. При наличии кольца (пробки) бурого или темно-желтого цвета, а также различных примесей в жировом столбике анализ проводят повторно. Жир в молоке следует определять параллельно в двух или трех жиромерах. Расхождения в результатах параллельных определений жира не должны превышать 0,1% (одного малого деления).

За окончательный результат принимают среднее арифметическое параллельных определений.

При выполнении анализов необходимо соблюдать правила техники безопасности.

На точность анализа влияют:

- нарушение правил отбора проб и хранения молока;
- погрешности градуировки жиромера и пипетки для молока;
- некачественные реактивы;
- недостаточная температура водяной бани;
- низкая скорость центрифуги.

Цельное молоко должно содержать не менее 3,2 % жира.

**Базисная жирность** - процент жира в молоке установленный с учетом породности и средней жирности молока коров данной республики. Этот показатель используется для расчетов молокозаводов с поставщиками.

### **Определение кислотности молока**

Кислотность молока - биохимический показатель, имеющий важное значение при оценке санитарного качества, сортности молока и определения возможности его пастеризации при переработке на молочные продукты.

Кислотность свежего молока обусловлена кислотным характером казеина, растворенной углекислоты, образующейся при растворении углекислого газа в плазме молока, наличием лимонной кислоты, фосфорнокислых и лимоннокислых солей. В тоже время оно проявляет буферные свойства и обладает амфотерной реакцией.

Различает активную и общую кислотность.

**Активная кислотность** - показатель степени диссоциации кислот и кислых солей и выражается показателем концентрации водородных ионов, которая определяется рН-метром.

При развитии микроорганизмов, сбраживающих молочный сахар, в молоке накапливается молочная кислота, повышающая общую (титруемую) кислотность, по которой судят о его свежести. Однако изменение рН молока при повышении общей кислотности в начале не происходит. Это обусловлено его буферными свойствами.

**Общая кислотность** молока выражается в условных градусах, обозначаемых - градусы Тернера ( $^{\circ}\text{T}$ ). Под **условными градусами** понимается количество миллилитров 0,1 н. раствора

гидроксида натрия (NaOH) или калия (KOH), необходимое для нейтрализации 100 мл (см<sup>3</sup>) молока (разбавленного двойным количеством воды).

Кислотность проверяют, спустя два часа после доения, чтобы выделился углекислый газ, содержащийся в молоке.

### **Титриметрический метод (арбитражный).**

Перед исследованием готовят контрольный эталон окраски. Для этого в колбу наливают 10 мл молока, 20 мл дистиллированной воды и 1 мл (см<sup>3</sup>) 2,5%-ного сернокислого кобальта. Эталон пригоден для работы в течение суток.

В колбу отмеривают 10 мл молока, 20 мл дистиллированной воды и добавляют 2-3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина. Смесь встряхивают и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия (калия) до появления бледно-розового окрашивания, не исчезающего в течение минуты и соответствующего контрольному эталону окраски.

Количество миллилитров щелочи, израсходованной на титрование, умножают на 10, чтобы привести количество молока к 100 мл и находят кислотность в градусах Тернера.

### **Определение предельной кислотности**

Этот метод удобно применять при массовых исследованиях для ускоренной сортировки молока (например, на колхозных рынках).

Предварительно готовят раствор для определения соответствующего градуса кислотности.

В мерную колбу, вместимостью 1 л отмеривают нужное количество 0,1 н. раствора едкого натра (таблица 2), приливают 10 мл 1%-ного раствора фенолфталеина и добавляют до метки (до 1 л) дистиллированную воду.

Таблица 2 - Оценка результата при определении предельной кислотности молока

Номер раствора	Кислотность молока, °Т	Требуется мл 0,1 н. раствора щелочи на 1 л дистиллированной воды
1	16	80

2	17	85
3	18	90
4	19	95
5	20	100
6	21	105
7	22	110

В пробирки наливают по 10 мл полученного раствора и 5 мл исследуемого молока и хорошо перемешивают.

Оценка результата: если смесь в пробирке обесцветилась, значит кислотность исследуемого молока превышает предельную; красный или розовый цвет содержимого пробирки указывает, что кислотность ниже предельной. Кислотность молока соответствует той пробирке, где сохраняется бледно-розовое окрашивание смеси.

#### Проба кипячением

Несколько миллилитров молока кипятят в химической пробирке. Молоко с кислотностью выше 26<sup>0</sup>T свертывается. При кислотности 30<sup>0</sup>T молоко свертывается при температуре 77<sup>0</sup>C, при кислотности 50<sup>0</sup>T - при нагревании до 44<sup>0</sup>C, при кислотности 60<sup>0</sup>T – при 22<sup>0</sup> C, при кислотности 65<sup>0</sup>T- при 20<sup>0</sup>C и при кислотности 65<sup>0</sup>T - при 16<sup>0</sup>C.

Пробой кипячением можно установить факт смешивания свежего молока с кислым (фальсификация). В таких случаях показатели кислотности соответствуют норме, но при кипячении молоко свертывается.

Общая кислотность зависит: от кормов, возраста, здоровья животных, периода лактации. При повышенном количестве концентратов в рационе или использовании кислых трав, кислого жома - кислотность молока увеличивается до 23-28<sup>0</sup>T.

Снижение титруемой кислотности молока ниже 15<sup>0</sup> T указывает о заболевании коров маститом и т.п., или разбавлении водой, или несвоевременном запуске коров. Снижение на 2-3<sup>0</sup>T наблюдают при пастеризации (улетучивание углекислоты).

### **Определение степени чистоты молока**

Большое количество механических примесей в молоке (частицы сена, соломы, навоза) свидетельствуют об антисанитарных условиях его получения, хранения, транспортировки. Поэтому необходимо проводить определение загрязнения молока механическими примесями, устранять причины загрязнения.

Чистоту молока определяют фильтрованием. Сущность метода в том, что пробу (250 мл) молока пропускают через ватный или марлевый фильтр, а количество и качество осевших на фильтре посторонних частиц сравнивают со специальным эталоном. Для этого используют приборы типа «Рекорд».

Прибор "Рекорд" - чаще конический (стеклянный или металлический сосуд) на горловину которого надета металлическая сетка или сетка в виде отъемного столика. На сетку накладывают фильтр и фильтруют 250 мл хорошо перемешанного молока. Для ускорения фильтрования рекомендуется молоко подогреть до 30-40°C.

После фильтрации кружок-фильтр вынимают (наложив на белую, желательно пергаментную бумагу) высушивают и сравнивают со специальным эталоном.

По степени чистоты молоко по эталону делят на 3 группы:

I группа - на фильтре отсутствуют отдельные частицы механических примесей (менее 3 мг);

II группа - имеются отдельные частицы механических примесей (4-6 мг);

III группа - допускаются механические примеси в виде точек (заметный осадок). Фильтр принимает сероватый цвет (7-10 мг примесей - волоски, частицы сена, соломы, песка).

### **Определение содержания белка в молоке**

Метод основан на том, что водный нейтральный раствор аминокислот в присутствии нейтрального формалина способен повышать кислотность с образованием соединений, в которых оба водорода аминогруппы замещаются метильной группой.

Техника определения. В колбу отмеривают 10 мл молока, 10-12 капель 1%-ного раствора фенолфталеина и по каплям добавляют 0,1 н. раствор гидроксида натрия до появления

бледно-розового окрашивания, не исчезающего при взбалтывании. Затем вносят 2 мл нейтрального (по фенолфталеину) формалина. При этом окраска исчезает. Вновь титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия до появления бледно-розового окрашивания, не исчезающего в течение минуты. Количество щелочи, пошедшее на титрование после добавления формалина, умножают на коэффициент 1,92 и получают общее содержание белков в молоке, а при умножении на коэффициент 1,51 определяют содержание казеина (в %).

Чтобы получить нейтральный формалин к нему добавляют несколько капель фенолфталеина и по каплям 0,1 н. раствор гидроксида натрия до появления устойчивого бледно-розового окрашивания раствора.

### **Определение содержания сухих веществ (СВ) и сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО)**

#### **Арбитражный метод**

В химический стаканчик с песком наливают 10 мл молока и взвешивают, после чего высушивают в сушильном шкафу при температуре  $102 \pm 2^{\circ} \text{C}$  в течение 2 ч. Затем взвешивают и снова высушивают. Взвешивание повторяют через каждый час до установления постоянной массы.

Содержание сухих веществ в молоке (%) можно определить по формуле:

$$\text{СВ} = ((4,9 \cdot \text{Ж} + \text{П} \cdot \text{А} \cdot 4) / 4) + 0,5,$$

где СВ – сухие вещества, %;

Ж - содержание жира, %;

П - плотность молока, °А.

Сухой обезжиренный молочный остаток (%) определяют по формуле:

$$\text{СОМО} = \text{СВ} - \text{Ж},$$

где СОМО – сухой обезжиренный остаток, %;

СВ - содержание сухих веществ, %;

Ж - содержание жира, %.

### **Определение термоустойчивости молока по алкогольной пробе**

Метод основан на денатурации и коагуляции белков молока под действием этилового спирта определенной концентрации. По результатам пробы можно судить об изменении молока при тепловой обработке.

#### *Подготовка молока и сливок*

Молоко для определения термоустойчивости по алкогольной пробе исследуют при температуре  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ .

Пробу сливок перед проведением алкогольной пробы подогревают в стакане на водяной бане до температуры в пределах  $(43^\circ\text{C} \pm 2)$ , перемешивают и охлаждают до температуры  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ .

#### *Приготовление водного раствора этилового спирта*

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

#### Проведение испытаний

В чистую сухую чашку Петри наливают  $2\text{ см}^3$  исследуемого молока или сливок, приливают  $2\text{ см}^3$  этилового спирта требуемой объемной доли, круговыми движениями смесь тщательно перемешивают. Спустя  $(2 \pm 0,1)$  мин, наблюдают за изменением консистенции анализируемых молока или сливок.

#### Обработка результатов

Если на дне чашки Петри не появились хлопья белков, считается, что молоко выдержало алкогольную пробу, если появились мелкие или крупные хлопья – молоко имеет пониженную стойкость к нагреванию.

В зависимости от того, какую концентрацию спирта выдержало молоко (без осаждения хлопьев белка), его подразделяют на группы, указанные в таблице 3.

Таблица 3 – Группа термоустойчивости молока по алкогольной пробе

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



**Задание 1.** Отобрать пробы молока и определить физико-химические показатели. Данные занести в таблицу 4. Сделать выводы.

Таблица 4 – Физико-химические показатели молока

№ п/п	Показатели	№ пробы				
		1	2	3	4	5
1.	Плотность, г/см <sup>3</sup>					
2.	Содержание жира, %					
3.	Кислотность: а) активная кислотность, ед. б) общая кислотность, °Т в) предельная кислотность					
4.	Степень чистоты, группа					
5.	Содержание общего белка, %					
6.	Содержание казеина, %					
7.	Содержание СМО, %					
8.	Содержание СОМО, %					
9.	Термоустойчивость, группа					

### **Санитарно-гигиенические показатели**

#### **Общая микробная обсемененность молока**

Свежевыдоенное молоко, полученное в асептических условиях от здоровых животных, обычно стерильно и обсеменяется микрофлорой в процессе получения и переработки. Значит, содержание микроорганизмов характеризует санитарное состояние молока. Микрофлора в молоке в процессе жизнедеятельности выделяет ферменты, в том числе редуктазу. Установлено, чем больше в молоке микрофлоры, тем выше содержание фермента редуктазы. Получить представление о степени общей бактериальной загрязненности молока, не прибегая к длительному бактериологическому исследованию, с большой точностью и в короткие сроки позволяют методы по выявлению фермента

редуктазы.

Редуктаза относится к окислительно-восстановительным ферментам. При ее наличии в молоке происходит восстановление органических красок. Метиленовый синий восстанавливается до бесцветного соединения (лейкосоединения), а резазурин - в резозурин розового цвета.

Чем больше в молоке редуктазы, а, следовательно, и бактерий, тем быстрее обесцвечиваются или изменяют цвет окраски индикаторные соединения, взятые в строго определенном количестве.

Однако надо учитывать, что не все микроорганизмы выделяют ферменты с подобными редуцирующими свойствами, например, сальмонеллы и стафилококки слабее, а стрептококки - лишены этой возможности.

Следует также знать, что редуктаза может появляться в молоке и за счет метаболизма лейкоцитов.

Поэтому оценка результатов должна быть комплексная.

**Проба на редуктазу с метиленовым синим (арбитражный способ) – редуктазная проба**

**Техника определения:** В стерильную пробирку отмеряем 1 мл рабочего раствора метиленового голубого и 20 мл исследуемого молока, закрываем резиновой пробкой и перемешиваем. Ставим в редуктазник с температурой  $37 \pm 1^{\circ}$  С. Уровень воды в редуктазнике должен быть выше уровня молока в пробирках. Момент погружения пробирок в редуктазник считают началом анализа. Наблюдение за изменением окраски ведут через 40 мин, 2,5 и 3,5 ч с начала проведения анализа. Окончанием анализа считают момент обесцвечивания окраски молока. Остающийся небольшой окрашенный слой сверху или внизу (шириной не более 1 см) в расчет не принимается. Молоко относят к одному из 4 классов согласно таблице 5.

Таблица 5 – Определение количества бактерий и класса молока

Класс молока	Продолжительность обесцвечивания, ч	Ориентировочное количество бактерий в 1 см <sup>3</sup> молока, КОЕ
Высший	Более 3,5	До 300 тыс.

I	3,5	От 300 тыс. до 500 тыс.
II	2,5	От 500 тыс. до 4 млн.
III	40 мин	От 4 млн. до 20 млн.

**Ускоренная редуктазная проба с метиленовым синим.**

(Рекомендуемая для лабораторий ветсанэкспертизы рынков).

Для сокращения времени постановки редуктазной пробы в пробирку отмеряют 10 мл (см<sup>3</sup>) молока, нагретого до температуры 38 - 40° и добавляют 2 мл разведенного в 10 раз рабочего раствора метиленового синего (1 мл рабочего раствора + 9 мл дистиллированной воды). Раствор готовят перед постановкой реакции. Дальнейший ход определения как и в предыдущей пробе. Время обесцвечивания учитываем через 10 мин и через каждый час.

Молоко по количеству микрофлоры делят на 4 класса. Класс бактериальной обсемененности устанавливается по данным таблицы с учетом скорости обесцвечивания проб.

Факторы, влияющие на точность определения: неправильно приготовлен раствор метиленового синего, низкая температура водяной бани, грязные пробирки или негерметично закрытые пробирки.

**Резазуриновая проба**

Является ускоренным методом. Резазурин обладает активным восстановительным потенциалом. Резазурин восстанавливается, отдавая кислород, под влиянием фермента редуктазы в резозурин розового цвета. Но эта проба чувствительная на примесь аскорбиновой кислоты, лейкоцитов и соматических клеток, особенно у старородных коров.

**Техника определения.** В чистую пробирку наливают 10 мл молока, добавляют 1 мл 0,005% раствора резазурина. Пробирку закрывают пробкой, осторожно перемешивают несколько раз и ставят в редуктазник (водяную баню) при температуре 38-40°С. Наблюдают за изменением цвета через 20 мин и 1 час (не встряхивая, не перевертывая).

На точность определения влияют неправильное

приготовление реактивов, низкая температура водяной бани, грязные негерметично закрытые пробирки.

Молоко относят к высшему классу, если появится сине-стальной цвет, I – сине-фиолетовый, II – розовый, III – белый.

### **Исследование молока на мастит**

Для контроля за состоянием молочной железы руководствуются Методическими указаниями по диагностике, лечению и профилактике маститов у коров.

Для диагностики скрыто протекающих маститов используют пробы с димастином или мастидином. Если эти реакции положительные, их уточняют пробой отстаивания. Бромтимоловая проба для диагностики маститов не рекомендуется, она недостаточно объективна.

При заболевании у коров вымени в молоке увеличивается число лейкоцитов и появляется щелочная реакция (рН 7 и выше), что устанавливают с помощью димастина и мастидина. Последние содержат поверхностно-активные вещества, которые, взаимодействуя с лейкоцитами, образуют сгусток, а индикатор изменяет цвет в зависимости от реакции среды (рН).

#### **Проба с димастином.**

В луночки специальной пластинки от каждой доли вымени наливают по 1 мл молока последней порции удоя, добавляют по 1 мл 5%-ного раствора димастина. Содержимое луночки перемешивают стеклянной палочкой. Молоко, полученное от коров, больных маститом, образует плотный тягучий сгусток ярко-красного цвета. Если образуется сгусток желеподобной консистенции красного цвета, то считают, что молоко получено от коров, подозрительных по заболеванию маститом. Нормальное молоко остается однородным, цвет его оранжево-красный.

#### **Проба с мастидином.**

Проводят так же, как с димастином. Реакцию учитывают главным образом по густоте желе. Положительная реакция - сгусток похож на белок куриного яйца, фиолетового или темно-сиреневого цвета. Отрицательная - однородная жидкость или слабый сгусток светло-сиреневого, дымчатого цвета.

#### **Проба отстаиванием.**

В пробирку наливают 10-15 мл молока и отстаивают в течение 16-18 ч на холоде. На 2-й день учитывают реакцию. В молоке коров, больных маститом, на дне пробирки образуется осадок с желтоватым или синеватым оттенком высотой 0,1 см и более, а также уменьшается слой сливок, консистенция которых становится слизистой.

Молоко от здоровых коров осадка не образует. Если проба отстаиванием дает сомнительные результаты, то для уточнения диагноза молоко направляют на исследование в ветеринарную лабораторию, где определяют число лейкоцитов, активность каталазы и лизоцимов, исследуют бактериологически.

### **Контроль пастеризации молока**

Для контроля за режимом пастеризации, а также с целью определения примеси сырого молока к пастеризованному используют пробы на содержание ферментов пероксидазы, фосфатазы и лактоальбуминовую пробу.

**Проба на пероксидазу.** Применяют ее для контроля моментальной пастеризации молока от 80<sup>0</sup> С и выше или 75<sup>0</sup> С с выдержкой 10 мин, когда полностью разрушается фермент пероксидаза.

Проба основана на свойстве фермента пероксидазы разлагать перекись водорода. Освободившийся кислород окисляет йодистый калий, в результате освобождается йод, который при реакции с крахмалом дает синее окрашивание.

**Техника определения.** В пробирку наливают 5 мл молока и добавляют 5 капель йодисто-калиевого крахмала и 5 капель 0,5%-ного раствора перекиси водорода. Содержимое пробирки перемешивают. В молоке сыром или нагретом до температуры ниже 75 °С, а также в случае добавления к кипяченому молоку сырого появляется синее (темно-голубое) окрашивание. В пастеризованном или кипяченом молоке цвет не изменяется.

**Проба на фосфатазу.** Фермент фосфатаза наиболее чувствителен к высоким температурам. Он разрушается прогреванием до 63 °С в течение 30 мин или при 72 °С за 20 секунд. Проба рекомендуется для контроля пастеризации молока при режимах температуры 63-60 °С. Кроме того, с помощью этой пробы можно установить добавление к пастеризованному или

кипяченому молоку сырого в количестве 2 % и более.

**Техника определения.** В пробирку наливают 2 мл молока и добавляют 1 мл рабочего раствора фенолфталеинфосфата натрия. Пробирку помещают в водяную баню при 40-45 °С и наблюдают за изменением цвета через 10 мин и через 1 час. Молоко сырое или пастеризованное, но с добавлением к нему сырого молока, окрашивается в розовый цвет. В пастеризованном или кипяченом молоке цвет не изменяется.

Точность анализа нарушается при неправильном приготовлении или хранении реактивов, повышенной кислотности молока, а также низкой температуре в водяной бане.

**Лактоальбуминовая проба.** Применяют ее для контроля пастеризации с режимом выше 80 °С. Проба основана на свойстве белка альбумина коагулировать и выпадать в осадок при нагревании молока до температуры 80 °С.

**Техника определения.** В колбу наливают 5 мл молока, добавляют 20 мл воды и по каплям 0,1 н. раствор серной кислоты до появления хлопьев казеина. Полученную смесь фильтруют в пробирку, после чего фильтрат нагревают до кипячения. В молоке, сыром или нагретом до температуры ниже 80 °С, появляются хлопья альбумина, которые затем выпадают в осадок. В молоке, нагретом выше 80 °С, хлопья не появляются.

### **Определение примеси аномального молока в сборном**

Аномальным считается молоко с примесью молозива, молоко, полученное от коров в последние 7 дней перед сухостойным периодом (стародойное), при скрыто протекающем мастите или других нарушениях состояния организма животного, при которых увеличивается количество соматических клеток в молоке. Сборное молоко, полученное от здоровых коров, содержит в 1 мл до 500 тыс. соматических клеток, молоко с примесью аномального - более 500 тыс.

Метод основан на установлении количества соматических клеток при их взаимодействии с препаратом мастопримом, в результате чего изменяется консистенция молока в исследуемой

пробе.

Для приготовления раствора мастоприма в мерный цилиндр на 100 мл вносят 2,5 г препарата и доливают до метки дистиллированной водой, нагретой до 30—35° С, и хорошо перемешивают. Хранят раствор при 16-22° С. Срок годности 3 мес.

В случае, если раствор охлаждается ниже 16 °С, в нем выпадает осадок препарата, поэтому перед применением его следует подогреть до 30-35 °С на водяной бане.

*Техника определения.* В луночку пластинки ПМК-1 вносят 1 мл молока и 1 мл 2,5%-ного раствора мастоприма. Полученную смесь хорошо перемешивают деревянной палочкой в течение 10 с, периодически приподнимая вверх на 5-7 см, после чего в течение 1 мин оценивают результат по состоянию консистенции.

Если получится однородная жидкость или слабый сгусток, который слегка тянется за палочкой, то в 1 мл молока содержится до 500 тыс. соматических клеток. При наличии выраженного сгустка, который слегка тянется вслед за палочкой, но не извлекается из луночки, то в 1 мл молока содержится от 0,5 до 1 млн соматических клеток.

### **Исследование молока на бруцеллез** **(кольцевая проба)**

При заболевании коров бруцеллезом в молоке появляются антитела, которые при добавлении к молоку бруцеллезного антигена склеиваются (реакция агглютинации) и адсорбируются на жировых шариках.

*Техника определения.* В пробирку наливают 1 мл молока и добавляют 1 каплю цветного бруцеллезного антигена (взвесь бруцелл, окрашенных гематоксилином). Пробирку с содержимым встряхивают и помещают в термостат при 37 °С на 40-45 мин.

Положительная реакция характеризуется появлением в верхнем слое жидкости кольца синего цвета; сомнительная - кольцо слабо окрашено, синеватое; отрицательная - содержимое пробирки равномерно окрашено.

Молоко с положительной или сомнительной реакцией в продажу не допускают, его уничтожают на мясо-молочной и пищевой контрольной станции в присутствии владельца.

### **Определение примеси крови**

С этой целью используют центрифужный метод и бензидиновую пробу.

Центрифужный метод. Молоко может содержать кровь в результате травмирования вымени. При центрифугировании такого молока на дне пробирки образуется осадок розового цвета, который исследуют с помощью микроскопа.

В пробирку наливают молоко, нагретое до температуры 40- 45 °С, закрывают ее пробкой и центрифугируют 10 мин при 1000 об./ мин. При наличии крови виден красный осадок. При микроскопировании осадка обнаруживают форменные элементы крови.

Бензидиновая проба. Применяют для определения крови и гноя в молоке.

В пробирку наливают 2 мл этилового спирта и 2 мл 3%-ного раствора перекиси водорода и вносят немного (на кончике ножа) бензидина. После перемешивания содержимого добавляют 3-4 капли ледяной уксусной кислоты и 4-5 мл исследуемого молока.

При наличии крови или гноя через 20-30 с содержимое пробирки окрашивается в темно-синий цвет.

### **Определение кетоновых тел**

При нарушении белкового или углеводного обмена веществ, интоксикациях, некоторых болезнях, а также при белковых перекармах в молоке коров появляются кетоновые тела. Молоко, содержащее кетоновые тела, опасно использовать для пищевых целей.

Анализ. В пробирку вносят приблизительно 1 г реактива (1 г нитропрусида натрия и 100 г сульфата аммония), добавляют 5 мл молока и 1-2 кристаллика едкого натра. Пробирку хорошо встряхивают и через 3-5 мин устанавливают окраску содержимого.



Цвет молока, содержащего кетоновые тела, может быть от бледно-розового (слабоположительная реакция) до пурпурного (резко положительная).

**Задание 2.** Отобрать пробы молока и определить санитарно-гигиенические показатели. Данные занести в таблицу 6.

Таблица 6 – санитарно-гигиенические показатели молока

№ п/п	Показатели	№ пробы				
		1	2	3	4	5
1.	Общая микробная обсемененность, класс: - редуцтанная проба - резазуриновая проба					
2.	Исследование молока на мастит: - проба с димастином - проба с мастидином - проба отстаиванием					
3.	Контроль пастеризации: - проба на пероксидазу - проба на фосфатазу - лактоальбуминовая проба					
4.	Определение примеси аномального молока в сборном					
5.	Исследование молока на бруцеллез (кольцевая проба)					
6.	Определение примеси крови					
7.	Определение кетоновых тел					

### Задачи для самостоятельного решения

1. Какой объем занимает 1 кг молока, имеющего плотность: 1,0312; 1,030; 1,0292; 1,0285; 1,0268; 1,0273 г/см<sup>3</sup>.

2. Определить плотность молока, если известны показания ареометра и температура молока:

**Показания ареометра, г/см<sup>3</sup>**

**Температура молока, °С**

1,031	17
1,0265	23
1,030	15,5
1,0295	20

3. Определить среднюю жирность молока в суточном удое коровы Зорька, если утром получено 5 л молока жирностью 3,47 %, в полдень – 7 л жирностью 3,24 %, вечером – 8 л жирностью 3,5 %.

### **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ**

1. Каков средний химический состав молока коровы.
2. Какие факторы влияют на химический состав молока.
3. Какие физико-химические свойства молока контролируют на молочных заводах?
4. Как определить механическую загрязненность (степень чистоты) молока?
5. Перечислите главные белки молока и их значение в молочной промышленности.
6. Какими методами контролируют массовую долю белков?
7. Как определения титруемой кислотности молока.
8. Каким образом переводят показания рН-метра в градусы титруемой кислотности?
9. Можно ли точно определить количество добавленной к молоку воды по его плотности?
10. Дайте классификацию липидов молока.
11. Какие методы контроля массовой доли жира в молоке используют в промышленности?
12. Дать характеристику СМО и СОМО.
13. Как определить бактериальную обсемененность молока?
14. Для чего проводят исследование молока на наличие соматических клеток?
15. Назовите причины появления маститного молока.
16. Какие вы знаете методики исследования молока на мастит?
17. Как и для чего проводят контроль пастеризации молока?
18. Какие примеси молока представляют опасность для здоровья человека и как их определить?

### Занятие 3

#### Тема: Определение натуральности молока

**Цель занятия:** освоить методику определения натуральности молока. По изменению показателей молока изучить характер фальсификата и степень фальсификации молока

#### **Контроль натуральности молока**

Всякое преднамеренное изменение состава и свойств натурального молока называется фальсификацией.

При добавлении в молоко несвойственных ему веществ или изъятии составных частей (например, жира) оно считается фальсифицированным. Различают характер фальсификации – какие вещества добавлены к молоку и степень фальсификации – какое количество несвойственных веществ добавлено.

При фальсификации нарушается естественное соотношение между составными частями молока, изменяются его физико-химические свойства, пищевая ценность.

Для установления характера и степени фальсификации важно знать физико-химические показатели натурального молока.

#### **Определение добавления воды.**

При добавлении воды в молоко понижается содержание СМО, СОМО, жира и плотности, повышается температура замерзания.

Добавление воды в молоко определяют:

1. По плотности - ее показатель снижается. После добавления 3 % воды плотность снижается на 1 °А (или на каждые 10% добавленной воды плотность молока понижается на 3 кг/м<sup>3</sup>).

2. Более объективный показатель - количество сухих обезжиренных веществ. Установлено, что в молоке сразу же после выдаивания их содержится не менее 8%. При добавлении в молоко воды этот показатель снижается.

Степень фальсификации рассчитывают по формуле:

$$B = \frac{CОМО - CОМО_1}{CОМО} \times 100, (\%), \text{ где}$$

B – количество добавленной воды, (%);

CОМО – сухой обезжиренный молочный остаток молока стойловой пробы, (%);

CОМО<sub>1</sub> - сухой обезжиренный молочный остаток молока исследуемой пробы (%);

3. Определение количества добавленной воды к молоку по криоскопическому числу (точке замерзания). Точка замерзания натурального молока в среднем - 0,55 °С. При разбавлении молока водой температура замерзания его повышается (таблица 7).

Таблица 7 – Зависимость температуры замерзания молока от степени разбавления его водой

Степень разбавления молока водой, %	Температура замерзания молока, °С	Степень разбавления молока водой, %	Температура замерзания молока, °С
0	- 0,540	7	- 0,502
1	- 0,534	8	- 0,497
2	- 0,529	9	- 0,491
3	- 0,524	10	- 0,486
4	- 0,518	15	- 0,459
5	- 0,513	20	- 0,432
6	- 0,508	25	- 0,405

Определяется температура замерзания молока в приборе Бекмана.

При добавлении воды молоко плохо свертывается под действием сычужного фермента, причем получается дряблый сгусток, снижается выход продукции, увеличиваются потери.

**Определение добавления обезжиренного молока или подсытия жира**

При добавлении обрата или подсытия жира плотность повышается, содержание жира и СМО уменьшается, количество СОМО не изменяется или немного увеличивается.

Степень обезжиривания молока (%) можно рассчитать по формуле:

$$O = (Ж - Ж_1 / Ж) \cdot 100,$$

где Ж - содержание жира в натуральном молоке, %;

Ж<sub>1</sub> - содержание жира в исследуемом молоке, %.

Для большей достоверности при установлении характера фальсификации – добавлении обрата – проводят расчет по определению содержания жира в сухом веществе молока по формуле:

$$Ж_{с.в.} = \frac{Ж_1}{C_1} \times 100, (\%), \text{ где}$$

Ж<sub>с.в.</sub> - содержание жира в сухом веществе молока;

Ж<sub>1</sub> - содержание жира в исследуемой пробе молока;

С<sub>1</sub> – содержание сухого вещества в исследуемом молоке (%);

Если количество жира в сухом веществе менее 25 %, то это указывает на добавление обрата или подсытие сливок.

### **Определение двойной фальсификации**

При одновременном разбавлении молока водой и снятии жира (двойная фальсификация) плотность молока может не изменяться. В этом случае фальсификацию определяют по содержанию сухих обезжиренных веществ (менее 8 %), а количество добавленной воды и обезжиренного молока (%) рассчитывают по формулам:

$$D = 100 - (Ж_1 / Ж) \cdot 100,$$

где D - количество добавленной воды и обезжиренного молока, %;

Ж<sub>1</sub> - содержание жира в исследуемой пробе, %;

Ж - содержание жира в стойловой пробе, %.

$$B = 100 - (СОМО_1 / СОМО) \cdot 100,$$

где B - количество добавленной воды, %;

СОМО<sub>1</sub> - сухое обезжиренное вещество в исследуемом молоке, %;

СОМО - сухое обезжиренное вещество в стойловой пробе молока, %.

Количество добавленного обезжиренного молока (%)

определяют по формуле:

$$O = D - B,$$

где O – количество добавленного обезжиренного молока;  
D - количество добавленной воды и обезжиренного  
молока, %;  
B - количество добавленной воды, %.

### Определение примеси соды

При добавлении в молоко соды реакция его становится щелочной. Для определения этого вида фальсификации к молоку добавляют индикатор (фенолрот, розоловая кислота, бромтимолблау и др.), который в кислой и щелочной средах имеет различия в окраске.

**1. Проба с фенолротом.** В пробирку наливают 2 мл молока и добавляют 3-4 капли 0,1%-ного раствора фенолрота (индикатор готовят на 20%-ном растворе спирта). При наличии соды цвет молока становится ярко-красным. В натуральном молоке цвет желто-оранжевый.

**2. Проба с розоловой кислотой.** В пробирку наливают 3-5 мл молока и добавляют такое же количество 0,2%-ного спиртового раствора розоловой кислоты. При наличии соды появляется малиново-красный цвет, в натуральном молоке - оранжевый.

**3. Проба с бромтимолблау.** В пробирку наливают 5 мл молока и добавляют осторожно по стенке 5 капель 0,04%-ного спиртового раствора бромтимолблау. Через 2 мин в месте соприкосновения индикатора и молока определяют цвет. При содержании соды до 0,1 % появляется зеленый цвет, 0,2 % и более - сине-зеленый, в натуральном молоке - желтый или салатный.

### Определение содержания аммиака

Метод основан на изменении цвета выделенной молочной сыворотки при взаимодействии с реактивом Несслера. Метод чувствителен при содержании 6-9 мг% аммиака в молоке. Количество аммиака определяют не позже, чем через 2 ч после доения.

Техника определения. В стакан отмеривают 20 мл молока,

нагревают на водяной бане до 40-45<sup>0</sup> С и добавляют 1 мл 10%-ного раствора уксусной кислоты для осаждения белка. Смесь оставляют в покое на 10 мин до выделения сыворотки. Пипеткой отбирают в пробирку 2 мл сыворотки и добавляют 1 мл реактива Несслера. Содержимое пробирки перемешивают и наблюдают за появлением окраски в течение 1 мин. Появление оранжевой окраски различной интенсивности указывает на наличие в молоке аммиака. В случае отсутствия аммиака смесь окрашивается в лимонно-желтый цвет.

### **Определение примеси крахмала**

В пробирку наливают 5 мл молока и добавляют 2-3 капли 3-5%-ного раствора йода. При наличии крахмала молоко окрашивается в синий цвет.

### **Определение примеси перекиси водорода**

Чтобы молоко стало более устойчивым к свертыванию при нагревании, к нему иногда добавляют перекись водорода, что считается грубой фальсификацией.

Определение основано на взаимодействии перекиси водорода с иодидом калия, в результате которого выделяется иод, дающий с крахмалом синее окрашивание.

В пробирку отмеривают 1 мл молока, добавляют две капли приготовленного раствора серной кислоты и 0,2 мл (около 10 капель) крахмального раствора иодида калия (йодистокалиевого крахмала). Появление синего окрашивания свидетельствует о присутствии в молоке перекиси водорода.

### **Определение фосфорорганических ядохимикатов**

В две пробирки наливают по 2 мл молока: в первую - не содержащего ядохимикатов (контроль), во вторую - исследуемого. Затем добавляют по 0,5 мл холинэстеразы или по 0,5 мл сыворотки крови лошади и после перемешивания содержимое пробирки выдерживают в водяной бане в течение 30 мин. при температуре 38 °С. После этого добавляют по две капли 1%-ного раствора фенолфталеина и по каплям 1%-ный раствор гидроксида натрия до появления розового окрашивания одинаковой интенсивности. Затем в пробирки приливают по 2

мл 0,2%-ного раствора ацетилхолина (бромистого или хлористого). Содержимое хорошо перемешивают и пробирки помещают в водяную баню, наблюдая за скоростью обесцвечивания содержимого.

При наличии ядохимикатов обесцвечивание молока исследуемой пробы задерживается по сравнению с контролем. Одновременное обесцвечивание содержимого в обеих пробирках свидетельствует о том, что в молоке ядохимикаты отсутствуют. Метод позволяет устанавливать только наличие ядохимикатов, не определяя их количество.

#### Определение остаточных количеств ингибирующих веществ - антибиотиков

Молоко, содержащее антибиотики, снижает пищевую ценность молочного продукта, отрицательно влияет на здоровье людей, способствует возникновению аллергий. Кроме того, такое молоко и приготовленные из него продукты могут содержать антибиотикоустойчивые штаммы патогенных бактерий, которые образуют токсины, не разрушающиеся при пастеризации и вызывающие пищевые отравления у людей (например, золотистый стафилококк).

**Кислотный метод.** При наличии в молоке антибиотиков снижается интенсивность развития кисломолочной микрофлоры, что задерживает сбраживание лактозы и нарастание кислотности по сравнению с натуральным молоком (контрольным).

**Анализ.** В одну пробирку наливают 10 мл исследуемого, а в другую - 10 мл контрольного молока, предварительно прогретых до 80° С в течение 5 мин и охлажденных до 40 °С. В каждую пробирку добавляют 1 мл тест-культуры йогурта (или болгарской палочки, или молочнокислого стрептококка) и по 0,5 мл раствора лакмуса. Пробирки помещают в водяную баню при 40°С на 3-4 ч до тех пор, пока не свернется контрольное молоко.

Антибиотик отсутствует (реакция отрицательная), если молоко в обеих пробирках свернулось одновременно и окрасилось в красный цвет. Если молоко не свернулось и окрасилось в фиолетово-красный цвет, значит, оно содержит антибиотик (реакция положительная). Если молоко не свернулось, а цвет изменился до голубого или фиолетово-го-



лубого, это свидетельствует о том, что в нем находится большое количество антибиотиков (реакция резко положительная).

### **Метод с резазурином**

*Анализ.* В одну пробирку наливают 10 мл исследуемого, а в другую – 10 мл контрольного молока, предварительно прогретых до 90 °С в течение 5 мин. В обе пробирки добавляют по 0,1 мл суточной культуры термостабильного стрептококка и помещают их в термостат, где выдерживают при 37°С в течение 2,5 ч, затем добавляют по 1 мл 0,05%-ного раствора резазурина, снова пробирки помещают в термостат на 5 мин. При наличии антибиотиков молоко окрашивается в синий цвет, если в молоке антибиотики отсутствуют - в ярко-красный.

### **Контроль молока на содержание антибиотиков с использованием Copan Test®.**

Copan Test® - микробиальный тест, включает споры *Bacillus stearothermophilus* подвид *Calidolactis*, производства фирмы Copan Italia. «COPAN Test» - микробиальный метод, основанный на определении характера роста спорообразующих бактерий *Bacillus stearothermophilus* var. *Calidolactis*. Тест рассчитан на 100 анализов. Главные преимущества теста:

- определяет широкий спектр ингибирующих веществ: все виды антибиотиков, а также бета-лактамы, цефалоспорины, аминогликозиды, макролиды и др.;
- высокая чувствительность;
- все компоненты в одной пробирке;
- снижение риска посторонней контаминации;
- четкая интерпретация результата;
- устройство на коробке для замера температуры при транспортировке теста показывает пригодность теста к применению;
- запатентованные пипетки;
- не требуется новое оборудование и большой опыт работы;
- гибкость;
- подходит для козьего, овечьего молока.

**Методика исследований.** В пластиковую пробирку со средой добавить специальной пластиковой пипеткой 0,1 мл исследуемого молока и поставить в инкубатор при температуре 64,5 °С на 3 часа. По истечении времени сравнить цвет среды с

эталоном. Если цвет стал желтый или желтый с сиреневым оттенком, то в исследуемом молоке антибиотиков нет. Если цвет остался прежним, либо немного осветлился, то в исследуемом молоке есть антибиотики.

**Задание.** Отобрать пробы молока и определить фальсификацию молока. Данные занести в таблицу 7.

Таблица 7 – Фальсификация молока

Показатели	№ пробы				
	1	2	3	4	5
Добавление воды					
Добавление обезжиренного молока					
Определение двойной фальсификации					
Определение примеси соды					
Содержание аммиака					
Определение примеси крахмала					
Определение примеси перекиси водорода					
Определение фосфорорганических ядохимикатов					
Определение остаточных количеств ингибирующих веществ (антибиотиков)					

### ЗАДАЧИ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОГО РЕШЕНИЯ

1. На приемном пункте имеются две автомолцистерны со следующими показателями молока:

а) плотность  $1,030 \text{ г/см}^3$ , жирность 3,2 %

б) плотность  $1,030 \text{ г/см}^3$ , жирность 3,8 %

Каков характер и степень фальсификации молока?

В стойловой пробе: содержание жира - 4,2%, плотность -  $1,033 \text{ г/см}^3$ .

2. Определить характер и степень фальсификации молока в пробах, имеющих следующие данные:

Плотность, $\text{г/см}^3$	Содержание жира, %
1,0315	2,45
1,027	2,5
1,034	2,8

1,029

3,1

1,031

3,2

В стойловой пробе: содержание жира – 3,75 %, а плотность – 1,030 г/см<sup>3</sup>.

3. Определить характер фальсификации и рассчитать количество фальсификата в следующих пробах молока по сравнению с молоком среднего химического состава:

а) плотность – 1,027 г/см<sup>3</sup>, содержание жира – 2,9 %

б) плотность - 1,030 г/см<sup>3</sup>, содержание жира – 3,2 %

В стойловой пробе: содержание жира - 3,2%, плотность - 1,029 г/см<sup>3</sup>.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какое молоко является фальсифицированным?
2. Дать понятия характер фальсификации и степень фальсификации.
3. Назовите виды фальсификации молока.
4. Какие физико-химические показатели изменяются при добавлении воды в молоко?
5. Как определить добавление обезжиренного молока?
6. Как определить двойную фальсификацию молока?
7. Какие вы знаете методики по определению добавления нейтрализующих (сода, аммиака) и консервирующих (перекись водорода) веществ?
8. На чем основано обнаружение остаточных количеств ингибирующих веществ в молоке?

Учебное издание

Свиридова Алла Петровна  
Копоть Ольга Васильевна  
Кипцевич Людмила Сергеевна

## МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

к лабораторно-практическим занятиям **«Ветеринарно-санитарная экспертиза и контроль качества молока»** по дисциплине: «Ветеринарно-санитарная экспертиза» для студентов 5 курса по специальности 1 740302 – «Ветеринарная медицина»

Учебно-методическое пособие

Ст.корректор Ж.И.Бородина  
Компьютерная верстка: А.П.Свиридова

Подписано в печать  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.  
Печать Riso. Усл.печ.л. Уч.-изд.л.  
Тираж 100 экз. Заказ № .

Учреждение образования  
«Гродненский государственный аграрный университет»  
Л.И. № 02330/0133326 от 29.06.2004.  
230008, г.Гродно, ул.Терешковой, 28

Отпечатано на технике издательско-полиграфического отдела  
Учреждения образования «Гродненский государственный  
аграрный университет»  
230008, г.Гродно, ул.Терешковой, 28

