

Муниципальное автономное общеобразовательное учреждение
«Средняя общеобразовательная школа № 6 г. Челябинска имени Зои
Космодемьянской»

(МАОУ «СОШ №6 г. Челябинска»)

454084, обл. Челябинская, г. Челябинск, ул. Кирова, 3А

тел. 8 (351) 791-58-63, E-mail: shkol6@mail.ru

Влияние активности ферментов после технологической обработки сырого
молока на изменение качества питьевого молока

Исследовательская работа

Автор: Глазунова Елизавета Руслановна,
10 класс, МАОУ «СОШ №6 г. Челябинска»,

Научный руководитель:

Ковина Виктория Александровна,

учитель химии

МАОУ «СОШ №6 г. Челябинска»

Челябинск, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1 ОБЩАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ОБРАБОТКИ СЫРОГО МОЛОКА.....	4
1.1 Виды тепловой обработки сырого молока	4
1.2 Ферменты молока.....	7
ГЛАВА 2 АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ КАЧЕСТВА ПИТЬЕВОГО МОЛОКА.....	9
2.1 Методы анализа ферментативной активности молока	9
2.2. Анализ проведенных исследований.....	9
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	12
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	13
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	14
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	15
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	16

ВВЕДЕНИЕ

Молоко – продукт питания, наиболее совершенный по своему составу. Ценность молока заключается в идеальной сбалансированности питательных веществ. Молочные продукты играют большую роль в питании человека, снабжая организм необходимыми для здоровья элементами. Молоко – наименее заменимый продукт, особенно для детского питания.

Молоко различных сельскохозяйственных животных отличается по химическому составу и питательной ценности. Наиболее широко в питании людей используется коровье молоко. В рационе народов различных регионов присутствует также молоко коз, овец, кобылиц, верблюдиц, ослиц, буйволиц, самок зебу, яка, северного оленя.

Молоко – сложный продукт по своему химическому составу. В состав молока входят: вода, белки, молочный жир, молочный сахар – лактоза, минеральные вещества и микроэлементы – кальций и фосфор, большинство известных витаминов, ферменты, способствующие пищеварению; гормоны, иммунные тела, газы, микроорганизмы, пигменты [4].

Анализ влияния активности ферментов после технологической обработки сырого молока на изменение качества питьевого молока необходим по нескольким причинам. Ферменты могут вызвать нежелательные изменения составных частей молока и молочных продуктов с последующим возникновением пороков. Некоторые свойства ферментов можно использовать для санитарно-гигиенической оценки сырого молока и контроля эффективности его пастеризации.

Объект исследования: сырое молоко, пастеризованное и стерилизованное молоко.

Предмет исследования: активность ферментов пероксидазы и нитратредуктазы в молоке.

Цель: осуществить анализ влияния активности ферментов после технологической обработки сырого молока на изменение качества питьевого молока.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

- 1) изучить по литературным источникам виды технологической обработки сырого молока;
- 2) провести химический анализ ферментативного состава сырого и обработанного молока;
- 3) провести сравнительный анализ полученных результатов.

Методы исследования: изучение и анализ научной литературы, химический анализ (определение титруемой кислотности, определение активности пероксидазы, определение активности нитратредуктазы).

Место и сроки проведения исследования: кабинет химии МАОУ «СОШ №6 г. Челябинска», сентябрь-ноябрь 2020 года.

ГЛАВА 1 ОБЩАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ОБРАБОТКИ СЫРОГО МОЛОКА

1.1 Виды тепловой обработки сырого молока

Тепловую обработку молочного сырья проводят для его обеззараживания. При этом необходимо не только надежно подавить жизнедеятельность микроорганизмов, но и максимально сохранить исходные свойства молока. Любое тепловое воздействие на молоко приводит к нарушению его первоначального состава и физико-химических свойств. Степень физико-химических изменений составных частей молока зависит, в первую очередь, от температуры и продолжительности тепловой обработки.

Молочные белки под действием тепла денатурируют. Денатурация – это лишение белка его природных, нативных свойств, сопровождающееся разрушением четвертичной, третичной, а иногда и вторичной структуры белковой молекулы, которое возникает при разрушении дисульфидных и слабых типов связей, участвующих в образовании этих структур. Наиболее чувствительны к нагреванию сывороточные белки, которые разрушаются при температурах выше 65 °С, казеин же обладает высокой тепловой стойкостью. При температурах выше 100 °С начинается частичное разложение лактозы, в результате которого молоко приобретает специфический вкус, запах и бурый цвет. Молочный жир при нагревании до 100 °С практически не меняется. В процессе тепловой обработки частично разрушаются витамины, особенно водорастворимые (С, В12, тиамин и др.), а также инактивируются ферменты (редуктаза, фосфатаза, пероксидаза). Минеральные соли в результате перехода растворимых солей кальция и фосфора в нерастворимое состояние частично выпадают в осадок. [3] Изменение составных частей молока, отрицательно влияющее на пищевую ценность и органолептические показатели, должно быть незначительным.

К видам тепловой обработки относятся пастеризация и стерилизация.

Пастеризация молока – это тепловая обработка молока, в результате которой происходит уничтожение вегетативных форм микрофлоры, в том числе патогенных. Режим пастеризации должен обеспечить также получение заданных свойств готового продукта, в частности органолептических показателей (вкус, нужные вязкость и плотность сгустка). Эффект пастеризации, вызванный степенью гибели патогенной микрофлоры, влияет на выбор режимов и способов пастеризации. Из патогенных микроорганизмов наиболее устойчивы к тепловой обработке бактерии туберкулеза. Поскольку работа по определению возбудителей туберкулеза сложна, то эффективность пастеризации принято определять по гибели не менее стойкой кишечной палочки. Эффект пастеризации зависит от температуры t и продолжительности тепловой обработки z , взаимосвязь которых установлена в виде следующего уравнения:

$$\ln z, = 36,84 - 0,48 t,$$

где 36,84 и 0,48 – постоянные величины.

В зависимости от этих факторов различают три режима пастеризации: длительная пастеризация – при температуре 60-63°C с выдержкой 30 мин; кратковременная – при 74-78 °С с выдержкой 20 с; моментальная – при температуре 85-87 °С или 95-98 °С без выдержки [6].

Выбор режимов пастеризации зависит от технологических условий и свойств продукта. При содержании в продукте компонентов, характеризующихся низкой термоустойчивостью, применяют длительную пастеризацию. Процесс длительной пастеризации обеспечивает надежное уничтожение патогенных микробов и наименьшее изменение физико-химических свойств молока, но при этом требует больших затрат, связанных с использованием малопроизводительного оборудования.

Наиболее распространенный способ в производстве пастеризованного молока – кратковременная пастеризация. При этом способе также происходит надежная инаktivация микробов с максимальным сохранением исходных свойств молока. Моментальная пастеризация по воздействию на микробы и свойства молока аналогична кратковременной. Она используется для пастеризации сливок, из которых вырабатывают масло, и при производстве молочных консервов. Следовательно, все способы пастеризации позволяют получить продукт, безвредный для непосредственного употребления в пищу, но имеющий ограниченный срок хранения.

При повышении содержания жира и сухих веществ в продуктах увеличивается сопротивляемость микроорганизмов тепловой обработке, так как жировые и белковые вещества оказывают защитное действие на микробные клетки. Поэтому для продуктов с повышенным содержанием жира и сухих веществ температура пастеризации должна быть выше на 10-15 °С, по сравнению с температурой пастеризации молока.

Стерилизация молока — это тепловая обработка молока (при температурах выше 100 °С), при которой происходит уничтожение как вегетативных, так и споровых форм микроорганизмов.

Эффективность стерилизации (Эс) определяется по разности десятичных логарифмов первоначальной концентрации спорообразующих микроорганизмов в исходном молоке (Сн) и конечной концентрации спор (Ск) в продукте после тепловой обработки:

$$Эс = \lg C_n - \lg C_k.$$

Она должна быть в пределах от 9 до 10. Эффективность стерилизации находится в такой же прямой зависимости от температуры и продолжительности ее воздействия, как и при пастеризации. Стерилизацию по сравнению с пастеризацией проводят при более высоких температурах, но с менее продолжительной выдержкой, поэтому физико-химические свойства молока претерпевают почти такие же изменения, как при пастеризации [6].

В зависимости от особенностей производства и фасования продукта различают периодическую и непрерывную стерилизацию в таре и в потоке с асептическим розливом.

Периодическую стерилизацию в таре осуществляют после фасования и герметического укупоривания продукта при 110-120 °С в течение 15-30 мин. Для периодической стерилизации в таре служат стерилизаторы периодического действия — автоклавы. При периодической стерилизации продукт в таре загружают в стерилизатор, нагревают паром, выдерживают определенное время и охлаждают водой или воздухом до 40-50 °С. Периодическая стерилизация обеспечивает высокую стойкость продукта при хранении даже в неблагоприятных условиях (при 50 °С) в течение 12 месяцев и более. Однако этот способ малопроизводителен и вызывает физико-химические изменения составных частей молока вследствие продолжительного теплового воздействия. В результате этих изменений молоко приобретает сильно выраженный кипяченый вкус, буровато-кремовую окраску.

Наиболее распространена непрерывная стерилизация с одноступенчатым и двухступенчатым режимами. При стерилизации с одноступенчатым режимом в потоке продукт подвергают кратковременной ультравысокотемпературной обработке (УВТ) при температуре 130-150 °С в течение нескольких секунд, после чего фасуют в асептических условиях в стерильную тару. Стерилизацию в потоке проводят прямым или косвенным нагревом. Прямой нагрев осуществляют путем смешивания теплоносителя (пара) с продуктом, а косвенный нагрев — через теплопередающую поверхность. При смешивании с паром продукт нагревается практически мгновенно, что позволяет использовать молоко более низкой термоустойчивости. Кроме того, мгновенное тепловое воздействие вызывает наименьшие физико-химические изменения. К существенным недостаткам описанного способа относятся низкий коэффициент регенерации теплоты, повышенные требования к качеству пара, используемого для нагревания продукта.

Для стерилизации продукта способом косвенного нагрева применяют трубчатые, пластинчатые, а для вязких продуктов — скребковые теплообменники. Теплообменники косвенного нагрева характеризуются надежностью в работе, простотой обслуживания и высокой степенью использования теплоты. Однако при стерилизации в таких теплообменниках быстрее образуется пригар на теплопередающих поверхностях.

Непрерывную стерилизацию с двухступенчатым режимом осуществляют в такой последовательности: первоначально продукт стерилизуют в потоке при 130-150°С в течение нескольких секунд, затем после розлива и укупоривания вторично стерилизуют продукт в таре при 110-118 °С в течение 15-20 мин. Двухступенчатый режим стерилизации предназначен для уничтожения микроорганизмов, не только имеющихся в сырье, но и попавших в продукт при его фасовании. Продукт, полученный при двухступенчатом режиме стерилизации, имеет высокую стойкость при длительном хранении.

При выборе способа стерилизации и типа установок следует учитывать качество исходного сырья, условия эксплуатации, вид вырабатываемого продукта и экономическую целесообразность.

1.2 Ферменты молока

Ферменты (от лат. *fermentum* — закваска) — биологические катализаторы, которые ускоряют химические реакции в живых организмах. Под действием ферментов происходит расщепление крупных молекул белков, углеводов, жиров на более мелкие. В свою очередь, продукты распада благодаря другим ферментам окисляются, освобождая энергию, содержащуюся в них.

Ферменты ускоряют реакции в десятки тысяч и миллионы раз. Действие ферментов строго специфично, то есть каждый фермент катализирует только одну химическую реакцию. Фермент соответствует своему субстрату. Субстрат — это вещество, химическое превращение которого катализирует фермент. На первой стадии ферментативной реакции фермент соединяется с субстратом и образуется так называемый фермент-субстратный комплекс, который затем преобразуется с разрывом химических связей субстрата, и продукты реакции отщепляются от фермента.

Ферменты действуют при определенной температуре, pH среды; их активность зависит от наличия химических веществ — активаторов и ингибиторов. Важнейшим фактором, от которого зависит действие фермента, является температура. Оптимальная температура, то есть температура, при которой наблюдается максимум активности ферментов, для большинства из них равна 40—50 °C (для ферментов человека 37—38 °C). При дальнейшем повышении температуры активность фермента снижается. При температуре 60—80 °C белок, образующий фермент, денатурирует, и фермент инактивируется [1].

Тепловая денатурация ферментов имеет важное практическое значение: пастеризация и стерилизация сырья способствуют разрушению ферментов и предохраняют пищевые продукты от ферментативной порчи.

Доказано, что некоторые ферменты обладают способностью восстанавливать свою активность после тепловой денатурации. Происходит самопроизвольное повторное свертывание полипептидной цепи белка с восстановлением первоначальной формы, обладающей ферментативной активностью. Это явление называется реактивацией фермента.

Важным фактором, влияющим на активность ферментов, является pH среды. Ферменты различаются по оптимальным для их действия значениям pH. Как правило, при слишком кислой или щелочной реакции среды происходит денатурация фермента, и он теряет свою активность.

В настоящее время известно более 1500 различных ферментов. Ферменты подразделяют на шесть классов: оксидоредуктазы (ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции); трансферазы (ферменты, переносящие группы); гидролазы (гидролитические ферменты);

лиазы (ферменты отщепления групп); изомеразы (ферменты изомеризации); синтетазы.

Из всех перечисленных классов ферментов наибольшее практическое значение имеют оксидоредуктазы и гидролазы.

Оксидоредуктазы — это большая группа ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции в живых организмах. К ним относят дегидрогеназы, оксидазы, пероксидазу и каталазу. Дегидрогеназы и оксидазы катализируют реакции окисления веществ путем отщепления от них водорода. Дегидрогеназы передают водород промежуточному веществу, оксидазы — кислороду воздуха (непосредственно или через промежуточные переносчики водорода) [5].

Нитратредуктаза. Этот фермент клетки молочной железы почти не вырабатывают. Он накапливается в молоке при размножении в нем бактерий. По количеству редукасы судят о санитарном благополучии и степени свежести молока, по данному показателю определяют общую бактериальную обсемененность молока. С увеличением количества бактерий в молоке активность редукасы, как правило, возрастает [2].

Пероксидаза. Нативная пероксидаза молока продуцируется клетками молочной железы. Часть её может высвободиться из лейкоцитов. Фермент содержится в молоке в больших количествах, от 30 до 100 мг/дм³. Он обладает антибактериальными свойствами. Пероксидаза термостабильна, инактивируется при 80 °С в течение 25 сек., катализирует окисление различных органических соединений перекисью водорода и может окислять некоторые неорганические соединения, например йодид калия. Реакцией на пероксидазу в молочной промышленности определяют эффективность пастеризации молока [2].

ГЛАВА 2 АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ КАЧЕСТВА ПИТЬЕВОГО МОЛОКА

2.1 Методы анализа ферментативной активности молока

Определение кислотности молока (Приложение 1). По кислотности молока судят о его свежести. Кислотность необходимо знать для установления сорта молока, а также для определения возможности пастеризации и переработки молока на молочные продукты. Кислотность можно определять с помощью прибора рН-метра (активную кислотность). Активная кислотность молока находится в пределах 6,5 – 6,7. Обычно же определяют титруемую кислотность в условных градусах или градусах Тернера (°Т).

Под градусом Тернера подразумевается количество миллилитров 0,1 н. раствора щелочи, пошедшей на нейтрализацию (титрование) 100 мл молока, разбавленного вдвое дистиллированной водой, при индикаторе фенолфталеине.

Свежее молоко имеет кислотность 16 – 19 °Т, молоко достаточно свежее 20 – 22 °Т, молоко несвежее 23 °Т и более. Молоко разбавленное или с примесью соды имеет кислотность ниже 16° Т. В теплое время года молоко должно иметь кислотность не выше 20° Т, а в холодное – до 22 °Т.

Определение эффективности пастеризации по реакции на пероксидазу (Приложение 2). Метод основан на разложении перекиси водорода ферментом пероксидазой, содержащейся в молоке и молочных продуктах. Освобождающийся при разложении перекиси водорода активный кислород окисляет йодистый калий, освобождая йод, образующий с крахмалом соединение синего цвета.

При наличии пероксидазы в молоке содержимое пробирок приобретает темно-синее окрашивание.

Определение активности нитратредуктазы (Приложение 3). Метод основан на восстановлении нитратредуктазой молока добавленного в него нитрата до нитрита, дальнейшем связывании нитрита реактивом Грисса и визуальное фиксирование изменения окраски смеси молока с реагентами.

Изменение окраски: белое – 1-й класс; от слабо-розового до ярко-розового – 2-й класс; интенсивно-розовое, красное, иногда с коричневым или желтоватым оттенком – 3-й класс.

2.2. Анализ проведенных исследований

Для проведения исследования были взяты пробы молока с разной степенью тепловой обработки: проба 1 – стерилизованное молоко «Домик в деревне», проба 2 – пастеризованное молоко «Первый вкус», проба 3 – пастеризованное молоко «Домик в деревне», проба 4 – домашнее молоко, не подвергавшееся тепловой обработке.

Каждую пробу анализировали на кислотность (рис. 1), активность пероксидазы (таблица 1) и активность нитратредуктазы (таблица 2) в течение

двух недель, что соответствовало началу, середине, концу и истечению срока хранения молока 2 и 3 проб, при этом соблюдая условия хранения молока.

Параллельно проводился анализ отдельно взятой части данных проб молока, условия хранения которых были нарушены.

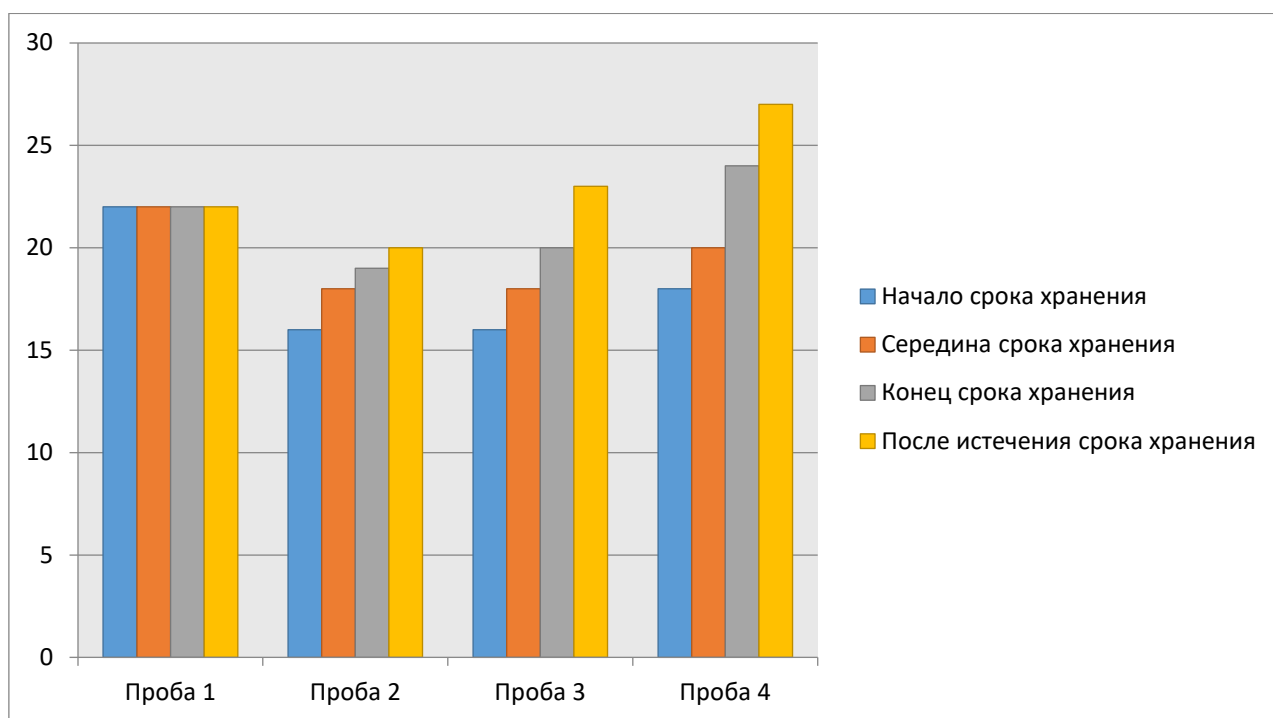


Рис. 1 Определение кислотности молока (°T)

Исходя из графика, видно, что кислотность молока пробы 1 не изменяется с течением времени, молоко являлось достаточно свежим, так как подверглось стерилизации, срок его хранения достаточно длителен. Кислотность молока проб 2, 3, 4 закономерно увеличивается, что свидетельствует об ограниченном сроке хранения молока, особенно домашнего – проба 4.

Таблица 1

Определение активности пероксидазы

№ пробы	Наличие окрашивания				
	Начало срока хранения	Середина срока хранения	Конец срока хранения	После истечения срока хранения	При несоблюдении условий хранения
Проба 1	нет окрашивания	нет окрашивания	нет окрашивания	нет окрашивания	нет окрашивания
Проба 2	нет окрашивания	нет окрашивания	нет окрашивания	нет окрашивания	нет окрашивания
Проба 3	нет окрашивания	нет окрашивания	нет окрашивания	нет окрашивания	нет окрашивания
Проба 4	Темно-синее окрашивание	Темно-синее окрашивание	Темно-синее окрашивание	Темно-синее окрашивание	Темно-синее окрашивание

По полученным данным видно, что фермент пероксидаза активен лишь в 4 пробе – домашнем молоке, которое не подвергалось тепловой обработке. В остальных пробах фермент инактивирован воздействием высоких температур при стерилизации и пастеризации.

Таблица 2

Определение активности нитратредуктазы

№ пробы	Изменение окрашивания				
	Начало срока хранения	Середина срока хранения	Конец срока хранения	После истечения срока хранения	При несоблюдении условий хранения
Проба 1	белое	белое	белое	белое	слабо-розовое
Проба 2	белое	белое	белое	белое	интенсивно-розовое
Проба 3	белое	белое	белое	белое	интенсивно-розовое
Проба 4	ярко-розовое	ярко-розовое	ярко-розовое	ярко-розовое	интенсивно-розовое

Полученные результаты свидетельствуют о том, что фермент нитратредуктаза, накапливающийся в молоке при размножении в нем бактерий, активен лишь в домашнем молоке – проба 4. В молоке остальных проб фермент инактивирован при соблюдении условий хранения. Но при несоблюдении условий хранения бактериальная обсемененность молока увеличивается, нитратредуктаза активируется.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ влияния активности ферментов после технологической обработки сырого молока на изменение качества питьевого молока можно использовать для санитарно-гигиенической оценки сырого молока и контроля эффективности его тепловой обработки.

По результатам исследования, можно сделать ряд выводов:

1. К видам тепловой обработки относятся пастеризация и стерилизация.

Пастеризация молока – это тепловая обработка молока с целью уничтожения вегетативных форм микрофлоры, в том числе патогенных. Стерилизация молока — это тепловая обработка молока (при температурах выше 100 °С) с целью повышения стойкости в хранении путем уничтожения как вегетативных, так и споровых форм микроорганизмов.

2. Кислотность молока закономерно увеличивается от начала к концу срока хранения. Наименьший срок хранения у домашнего молока, которое не подвергалось тепловой обработке. Большой срок хранения у молока пастеризованного, так как оно подвергалось тепловой обработке, уничтожившей вегетативные формы микрофлоры. Наиболее длительный срок хранения у стерилизованного молока, которое подвергалось тепловой обработке, уничтожившей не только вегетативные, но и споровые формы микрофлоры.

3. Фермент пероксидаза активен лишь в домашнем молоке. В пастеризованном и стерилизованном молоке фермент инактивирован воздействием высоких температур, это свидетельствует о том, что данная тепловая обработка эффективна.

4. Фермент нитратредуктаза, накапливающийся в молоке при размножении в нем бактерий, при соблюдении условий хранения активен лишь в домашнем молоке, а в стерилизованном и пастеризованном инактивирован. Но при несоблюдении условий хранения бактериальная обсемененность молока увеличивается, пробы на нитратредуктазу положительны и в стерилизованном, и пастеризованном молоке, что делает это молоко непригодным для употребления.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Алексеева Н. Ю. Состав и свойства молока как сырья для молочной промышленности: Справочник / Н. Ю. Алексеева, В. П. Аристова, А. П. Патратий [и др.] – М.: Агропромиздат, 1986. – 239 с.
- 2) Барабанщиков Н. В. Качество молока и молочных продуктов / Н. В. Барабанщиков. – М. : Изд. «Колос». – 2003.
- 3) Голубкина Н. А. Лабораторный практикум по экологии / Н. А. Голубкина, М. А. Шамина. – М. : ИНФРА. – 2003.
- 4) Горбатова К. К. Биохимия молока и молочных продуктов: учеб. / К. К. Горбатова, П. И. Гунькова; под общ. ред. К. К. Горбатовой. – 4-е изд. перераб. и доп. – СПб.: ГИОРД, 2010. – 336 с.: ил.
- 5) Крусь Г. Н. Технология молока и молочных продуктов / Г. Н. Крусь. - М.: Колосс, 2004. – 456 с.
- 6) Рогов И. А. Химия пищи/И. А, Рогов, Л. В. Антипова, Н. И. Дунченко - М.: Колосс, 2007. – 853 с.
- 7) Рогожин В. В. Биохимия молока и молочных продуктов: Учебное пособие / В. В. Рогожин - СПб: ГИОРД, 2006. – 320 с.
- 8) Савелькина Н. А. Биохимия и микробиология молока и молочных продуктов. В 2-х ч. Ч. 1.: учебное пособие / Сост. Н.А. Савелькина – Брянск: Мичуринский филиал ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет», 2015. – 129 с.
- 9) Степаненко, П.П. Микробиология молока и молочных продуктов: учебник для сузов / П.П. Степаненко. М.: Колос, 1996. – 271 с.
- 10) Твердохлеб Г. В. Технология молока и молочных продуктов / Г. В. Твердохлеб, Э. Х. Диланян, Л. В. Чекулаева, Г. Г. Шиллер. – М. :Агропромиздат, 1991. – 463 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Методика определения кислотности молока

Метод основан на нейтрализации кислот, содержащихся в продукте, раствором щелочи (NaOH, KOH) в присутствии индикатора фенолфталеина.

В колбу мерной пипеткой отмеряют 10 мл молока, добавляют 20 мл дистиллированной воды и 2 - 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина. Воду при определении прибавляют для того, чтобы отчетливее уловить розовый оттенок при титровании. Затем при медленном взбалтывании содержимого колбы приливают из бюретки децинормальный (0,1н.) раствор щелочи (едкий натр) до слабо-розового окрашивания, соответствующего контрольному эталону окраски, не исчезающего в течение 1 минуты. Количество пошедшей на титрование щелочи (отмеряют по уровню нижнего мениска), умноженное на 10 (то есть пересчитанное на 100 мл молока), будет выражать кислотность молока в градусах Тернера. Расхождение между параллельными определениями должно быть не более 1°T (рис. 1.1)



Рис. 1.1 Определение кислотности молока

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Методика определения эффективности пастеризации по реакции на пероксидазу

В пробирку отмеривают 5 мл молока, добавляют по 2-3 мл дистиллированной воды, приливают 0,5 см³ 1%-ного раствора крахмала, 2 капли 10%-ного раствора йодистого калия и 5 капель 0,5%-ного раствора перекиси водорода (рис 2.1).

После добавления каждого реактива содержимое пробирки тщательно перемешивают вращательными движениями, затем определяют окраску. При отсутствии фермента пероксидазы в молоке и молочных продуктах цвет содержимого пробирки не изменится. Следовательно, молоко и молочные продукты подвергались пастеризации при температуре не ниже 80 °С.

При наличии пероксидазы в молоке содержимое пробирок приобретает темно-синее окрашивание. Появление окраски в пробирках более чем через 2 мин после добавления йодистокалиевого крахмала и перекиси водорода не указывает на отсутствие пастеризации, так как может вызываться разложением реактивов.



Рис. 2.1 Определение активности пероксидазы

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Методика определения активности нитратредуктазы

В стеклянную пробирку вместимостью 20 мл отмеривают 1 мл 1%-ного раствора нитрата калия (или натрия) и 10 мл молока. Пробирку закрывают резиновой пробкой, перемешивают, помещают в водяную баню с температурой $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и выдерживают при этой температуре в течение 4 ч.

Затем в пробирку отмеривают 2 мл реактива Грисса (реактив готовят перед употреблением путем смешивания в соотношении 1:1 двух растворов: 0,6...0,8%-ный раствор сульфаниловой кислоты в 20...28%-ном растворе уксусной кислоты и 0,3...0,5%-ный раствор α -нафтиламина в том же растворе уксусной кислоты), перемешивают и через 5 мин определяют класс молока по нитратредуктазной активности в зависимости от окрашивания смеси молока с реагентами (рис. 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5).

Изменение окраски: белое – 1-й класс; от слабо-розового до ярко-розового – 2-й класс; интенсивно-розовое, красное, иногда с коричневым или желтоватым оттенком – 3-й класс.



Рис. 3.1 Определение активности нитратредуктазы в начале срока хранения



Рис.3.2 Определение активности нитратредуктазы в середине срока хранения



Рис. 3.3 Определение активности нитратредуктазы в конце срока хранения



Рис. 3.4 Определение активности нитратредуктазы после истечения срока хранения



Рис. 3.5 Определение активности нитратредуктазы при несоблюдении условий хранения