

МЕЖДУНАРОДНЫЙ СТАНДАРТ

**ISO
23058**

**IDF
199**

Первое издание
2006-09-15

Молоко и молочные продукты. Сычужные ферменты ягнят и козлят. Определение общей молокосвертывающей активности

*Milk and milk products – Ovine and caprine rennets – Determination of
total milk-clotting activity*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 23058:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b8267ac-90e9-4ed7-b0d2-3c79435f93df/iso-23058-2006>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочные номера
ISO 23058:2006(R)
IDF 199:2006(R)

© ISO и IDF 2006

Отказ от ответственности при работе в PDF

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или вывести на экран, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на загрузку интегрированных шрифтов в компьютер, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe торговый знак фирмы Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованным для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General info файла; параметры создания PDF были оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами-членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 23058:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b8267ac-90e9-4ed7-b0d2-3c79435f93df/iso-23058-2006>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO и IDF 2006

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO или IDF по соответствующему адресу, указанному ниже.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

International Dairy Federation
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Brussels
Tel. + 32 2 733 98 88
Fax + 32 2 733 04 13
E-mail info@fil-idf.org
Web www.fil-idf.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
Введение	vi
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	1
4 Принцип	2
5 Реактивы и материалы.....	2
6 Аппаратура.....	4
7 Отбор проб.....	5
8 Приготовление испытуемого образца	5
8.1 Жидкий сычужный фермент ягнят (или козлят)	5
8.2 Пастообразный сычужный фермент ягнят (или козлят)	5
8.3 Порошковый сычужный фермент ягнят (или козлят).....	5
9 Процедура	6
9.1 Приготовление субстрата	6
9.2 Приготовление эталонных растворов сычужного фермента телят и взрослого крупного рогатого скота	6
9.3 Приготовление контрольных рабочих растворов сычужных ферментов телят и взрослого крупного рогатого скота	6
9.4 Приготовление испытательного раствора сычужного фермента ягнят (или козлят).....	7
9.5 Свертывание	7
10 Вычисление и выражение результатов.....	8
10.1 Вычисление	8
10.2 Выражение результатов	9
11 Прецизионность.....	9
11.1 Межлабораторное испытание	9
11.2 Повторяемость	10
11.3 Воспроизводимость	10
12 Протокол испытания.....	11
Приложение А (информативное) Результаты межлабораторного испытания	12
Библиография.....	15

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. Что касается стандартизации в области электротехники, ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC).

Проекты международных стандартов разрабатываются по правилам, указанным в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Главная задача технических комитетов состоит в разработке международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Обращается внимание на возможность патентования некоторых элементов данного международного стандарта. ISO не несет ответственности за идентификацию какого-либо или всех таких патентных прав.

ISO 23058|IDF 199 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*, и Международной федерацией молочных продуктов (IDF). Он публикуется совместно ISO и IDF.

[ISO 23058:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b8267ac-90e9-4ed7-b0d2-3c79435f93df/iso-23058-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b8267ac-90e9-4ed7-b0d2-3c79435f93df/iso-23058-2006>

Предисловие

Международная федерация производства молочных продуктов (IDF) является всемирной федерацией молочного сектора в национальных комитетах каждой страны-члена IDF. Каждый национальный комитет имеет право быть представленным в постоянных комитетах IDF, выполняющих техническую работу. IDF сотрудничает с ISO в разработке стандартных методов анализа и отбора образцов молока и молочных продуктов.

Проекты международных стандартов, принятые рабочими группами и постоянными комитетами рассылаются национальным комитетам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения не менее 50% национальных комитетов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы настоящего международного стандарта могут быть объектом патентных прав. ISO не может нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 23058|IDF 199 подготовлен Международной федерацией молочных продуктов (IDF) и Техническим комитетом ISO/TC 34 *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5 *Молоко и молочные продукты*. Этот стандарт публикуется совместно ISO и IDF.

Вся работа проделана совместной группой экспертов ISO-IDF по *Ферментам в сыроделии* Постоянного комитета по *Компонентам молока и характеристикам физических свойств* при поддержке руководителей этого проекта г-жи М. Harboe (DK) и г-жи С. Repelius (NL).

[ISO 23058:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b8267ac-90e9-4ed7-b0d2-3c79435f93df/iso-23058-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b8267ac-90e9-4ed7-b0d2-3c79435f93df/iso-23058-2006>

Введение

Животные сычужные ферменты охватывают все продукты коагуляции молока, образованные из жвачных животных, но до сих пор состав и молокосвертывающая активность сычужных ферментов описаны в стандартах ISO/IDF только для крупного рогатого скота. Сычужные ферменты ягнят и козлят также имеются на рынке и обычно соответствуют тем же самым техническим условиям, что и сычужные ферменты крупного рогатого скота. Каждый из этих энзимов имеет свои собственные характеристики для молокосвертывающей активности и для сыроделия. Имеются различия в температуре и чувствительности к pH и особенно в органолептических свойствах производимых сыров. Эти специфические сычужные ферменты производятся ограниченным числом изготовителей и в различных видах (жидкость, порошок или сычужная паста). До сих пор нет международно-признанных эталонных методов, специально предназначенных для описания и выделения образцов этих продуктов.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 23058:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9b8267ac-90e9-4ed7-b0d2-3c79435f93df/iso-23058-2006>

Молоко и молочные продукты. Сычужные ферменты ягнят и козлят. Определение общей молокосвертывающей активности

1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод определения общей молокосвертывающей активности фермента ягнят и козлят, включая сычужную пасту, содержащего только химозин и пепсин в качестве активных коагулирующих ферментов, на стандартном молочном субстрате, приготовленном с использованием раствора хлорида кальция 0,5 г на литр ($\text{pH} \approx 6,5$).

Этот метод позволяет анализировать сычужные ферменты ягнят и козлят согласно соответствующему испытанию молокосвертывающей активности (REMCAT) сычужных ферментов крупного рогатого скота, описанному в ISO 11815|IDF 157.

2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные нормативные документы являются обязательными при применении данного документа. Для жестких ссылок применяется только цитированное издание документа. Для плавающих ссылок необходимо использовать самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

ISO 648, *Посуда лабораторная. Пипетки с одной меткой*

ISO 1042, *Посуда лабораторная. Колбы с одной меткой*

IDF 110B, *Сычужные ферменты телят и взрослого крупного рогатого скота. Определение содержания химозина и говяжьего пепсина. (хроматографический метод)*

3 Термины и определения

Применительно к настоящему документу используются следующие термины и определения.

3.1

общая молокосвертывающая активность стандартной молочной подложки при pH 6,5
total milk-clotting activity of a standard milk substrate at pH 6,5

величина активности, установленная относительно международных эталонных образцов телячьего порошкового сычужного фермента и порошкового сычужного фермента взрослого крупного рогатого скота

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Для первой партии эталонных образцов телячьего порошкового сычужного фермента и порошкового сычужного фермента взрослого крупного рогатого скота (также используемых для анализа сычужных ферментов крупного рогатого скота и козлят) эта величина была определена как 1 000 международных единиц свертывания молока на грамм (IMCU/g). Впоследствии приготовление новых эталонных образцов будет устанавливаться согласно предыдущим эталонам.

NOTE 2 Общая молокосвертывающая активность эталонного образца порошкового микробного коагулянта составляет приблизительно 1 000 IMCU/г, но на стеклянных ампулах указывается действительная активность относительно международного эталонного образца телячьего порошкового сычужного фермента.

ПРИМЕЧАНИЕ 3 Общая протеолитическая (молокосвертывающая) активность эталонного образца порошкового микробного коагулянта проверяется на синтетическом гексапептидовом субстрате каждый второй год NIZO ¹⁾.

4 Принцип

Определяется время, необходимое для визуальной флокуляции стандартной молочной подложки, приготовленной с использованием раствора хлорида кальция 0,5 г на литр (рН ≈ 6,5). Время свертывания образца сычужного фермента ягнят (или козлят) сравнивается с соответствующим временем свертывания эталонного образца сычужного фермента крупного рогатого скота с определенным энзимным составом 75:25 и с известной молокосвертывающей активностью.

Измерение проводится относительно эталонного образца, содержащего 75 % телячьего химозина и 25 % говяжьего пепсина, потому что состав испытуемых образцов не известен и эталонный образец с отношением 75/25 должен охватить большинство образцов с достаточной точностью. Нет смысла в измерении действительного состава химозина/пепсина в сычужных ферментах ягнят и козлят, так как их состав обычно близок к вышеуказанному отношению.

NOTE Состав жидких или порошковых сычужных ферментов ягнят и козлят можно определять по IDF 110B, но точность для этих типов сычужных ферментов не была подтверждена.

5 Реактивы и материалы

Используются только реактивы признанной аналитической чистоты, если нет других указаний, и дистиллированная или деминерализованная вода или вода эквивалентной чистоты.

5.1 Буферный раствор, рН 5,5.

Добавляют с помощью пипетки (6.1) 10,0 мл уксусной кислоты концентрацией 1 моль/л (CH₃COOH) к 10,0 г тригидрата ацетата натрия (CH₃COONa·3H₂O) и перемешивают. Разбавляют водой до 1 000 мл. Регулируют рН до 5,5, если необходимо.

5.2 Исходный раствор хлорида кальция, c(CaCl₂) = 500 г/л.

Растворы хлорида кальция с требуемой точной концентрацией хлорида кальция 500 г/л и фактической указанной плотностью имеются в продаже ²⁾. Раствор следует хранить согласно инструкциям изготовителя.

Перед использованием исходный раствор хлорида кальция доводят до комнатной температуры (18 °C до 22 °C). Концентрацию раствора проверяют каждый год титрованием с использованием EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота).

5.3 Рабочий раствор хлорида кальция, c(CaCl₂) = 0,5 г/л.

Используют плотность исходного раствора хлорида кальция (5.2) для вычисления массы хлорида кальция, необходимой для получения окончательной величины 0,5 г/л хлорида кальция в рабочем

1) Netherlands Institute for dairy research (NIZO), P.O. Box 20, 6710 BA Ede, The Netherlands. Эта информация дается для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекомендацией ISO или IDF для этих продуктов.

2) Адрес для заказа: Chr. Hansen A/S, 1-27 Jernholmen, 2650 Hvidovre, Denmark (Fax: +45 36 86 77 76). Эта информация дается для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекомендацией ISO или IDF для этих продуктов.

растворе хлорида кальция.

Масса раствора должна быть эквивалентна добавлению 2,00 мл исходного раствора с точной требуемой концентрацией, $c(\text{CaCl}_2) = 500$ г/л; в этом случае масса раствора $\approx 2,70$ г.

Взвешивание исходного раствора хлорида кальция (5.2) рекомендуется для того, чтобы можно было приготовить рабочий раствор хлорида кальция, так как вязкий раствор трудно набирать в пипетку.

Отвешивают с точностью 0,01 г около 2,70 г исходного раствора хлорида кальция (5.2) точно известной концентрации при комнатной температуре (18 °С до 22 °С) в мерную колбу емкостью 2 000 мл с одной меткой. Разбавляют до метки водой и перемешивают. Раствор хлорида кальция следует готовить в день использования.

Альтернативно можно готовить промежуточный раствор концентрацией 50 г/л и затем разбавлять перед использованием.

5.4 Молочные порошки низкотемпературной обработки, с низким содержанием жира, высушенные распылением, хорошей сычужной свертываемости и хорошего бактериологического качества.

ПРИМЕЧАНИЕ Молочные порошки низкотемпературной обработки, с низким содержанием жира, высушенные распылением, имеются в продаже^{2), 3)}.

5.5 Эталонный образец телячьего порошкового сычужного фермента⁴⁾, в пакетах по 2,7 г порошка, содержащего > 98 % химозина и < 2 % говяжьего пепсина в единицах энзимной активности, определенной по IDF 110B.

Точная общая молокосвертывающая активность указывается на сертификате анализа и должна быть около 1 000 IMCU/г.

Эталонный образец телячьего порошкового сычужного фермента является первичным эталоном; вторичный жидкий эталон можно приготовить и использовать, если гарантируется, что будет получен такой же результат.

Хранят эталонный образец телячьего порошкового сычужного фермента в темноте при -18 °С защищенным от влаги. В короткие периоды, например при транспортировке, его можно держать при температуре окружающей среды.

5.6 Эталонный образец порошкового сычужного фермента взрослого крупного рогатого скота⁴⁾, в пакетах по 2,7 г порошка, содержащего < 2 % химозина и > 98 % говяжьего пепсина в единицах энзимной активности, определенной по IDF 110B.

Точная общая молокосвертывающая активность указывается на сертификате анализа и должна быть около 1 000 IMCU/г.

Эталонный образец порошкового сычужного фермента взрослого крупного рогатого скота является первичным эталоном; вторичный жидкий эталон можно приготовить и использовать, если гарантируется, что будет получен такой же результат.

3) Institut national de la Recherche agronomique, France, который не зависит от the Station expérimentale laitière, P.P. No. 94, 39800 Poligny, France. Эта информация дается для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекомендацией ISO или IDF для этих продуктов.

4) AMAFE. Адрес заказа: Chr. Hansen A/S, 1-27 Jernholmen, 2650 Hvidovre, Denmark (Fax: +45 36 86 77 76). Эта информация дается для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекомендацией ISO или IDF для этих продуктов.

Хранят эталонный образец порошкового сычужного фермента взрослого крупного рогатого скота в темноте при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ защищенным от влаги. В короткие периоды, например при транспортировке, его можно держать при температуре окружающей среды.

6 Аппаратура

Обычное лабораторное оборудование и, в частности, следующее.

6.1 Микropипетка, или любая другая пипетка, обеспечивающая подачу 0,5 мл менее чем за 1 с с повторяемостью 0,2 % или лучше.

6.2 Пипетки с одной меткой, по ISO 648, для подачи соответствующих количеств.

Альтернативно для разбавления коагулянтов можно использовать смеситель (например, смеситель Гамильтона) с такой же высокой точностью. Для измерения субстрата можно также использовать шприц или дозатор, обеспечивающий подачу соответствующего количества с повторяемостью 0,4 %.

6.3 Мерные колбы с одной меткой, по ISO 1042, требуемой емкости.

6.4 Термометр, калиброванный, градуированный от $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, с точностью $\pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.5 pH-Метр, обеспечивающий измерение pH в единицах 0,01.

6.6 Аналитические весы, обеспечивающие взвешивание с точностью 1 мг.

6.7 Секундомер, обеспечивающий считывание в секундах.

6.8 Колбы или пробирки, для испытания свертываемости молока, с подходящей емкостью (см. 6.9.1 и 9.5.1).

6.9 Водяная баня, поддерживающая температуру $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, но также обеспечивающая поддержание постоянной температуры в пределах $\pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ во всей бане (см. также 9.5.1), со следующими приспособлениями.

6.9.1 Электродвигатель, оснащенный вращающимся шпинделем, к которому можно прикрепить колбу или пробирку (6.8), обеспечивающим вращение под подходящим углом 30° с водной поверхностью водяной бани.

ПРИМЕЧАНИЕ Скорость вращения не имеет большого значения для этого метода; скорость от 2 об/мин до 4 об/мин является подходящей.

6.9.2 Электрическая лампа, помещенная в таком месте, чтобы эффективно освещать колбу или пробирку (6.8).

Экран с темным фоном, помещенный в водяную баню, можно использовать для улучшения определения точки флокуляции в колбе или пробирке.

6.10 Гомогенизатор стомахер, для растворения пастообразного сычужного фермента, например от Seward⁵⁾.

5) Seward Ltd., London, United Kingdom. (www.seward.co.uk). Эта информация дается для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекомендацией ISO или IDF для этих продуктов.

7 Отбор проб

В лабораторию должна быть отправлена представительная проба. Ее следует оберегать от повреждений или изменений во время транспортировки или хранения.

Отбор проб не является частью метода, установленного в данном международном стандарте. Отбор проб жидкого сычужного фермента (8.1) и порошкового сычужного фермента (8.3) следует проводить по инструкциям, данным в ISO 707|IDF 50 для “Молока и жидких молочных продуктов” and for “Молочного порошка и порошковых молочных продуктов” соответственно.

Хранят испытуемые образцы в темноте при температуре от 0 °C до 5 °C.

8 Приготовление испытуемого образца

8.1 Жидкий сычужный фермент ягнят (или козлят)

Перемешивают испытуемый образец путем вращения, избегая образования пены. Доводят образец до комнатной температуры (18 °C до 22 °C) и затем начинают приготовление испытательного раствора коагулянта (9.4).

8.2 Пастообразный сычужный фермент ягнят (или козлят)

Перемешивают испытуемый образец пастообразного сычужного фермента, для того чтобы получить однородную пасту. Растворяют образец известной массы 8 ± 2 г в пластиковом пакете буферным раствором 200 мл (5.1), используя стомахер (6.10), установленный на рекомендованную скорость 230 об/мин, в течение 60 с.

Альтернативно растворение пасты можно выполнить вручную в пакете стомахера в течение 60 с.

Записывают точную величину взятого образца, в граммах, до трех десятичных знаков. Фильтруют экстракционный раствор через марлю или фильтр Бюхнера.

Устанавливают коэффициент разбавления пасты относительно жидкостного экстракта путем деления (200 г + масса пасты) на массу пасты для использования в вычислении окончательного коэффициента разбавления (см. 9.4).

ПРИМЕЧАНИЕ Альтернативно можно использовать Bagfilter^{®6)} для проведения экстракции и фильтрации в одной операции.

8.3 Порошковый сычужный фермент ягнят (или козлят)

Тщательно перемешивают испытуемый образец, чтобы получить однородный порошок. Доводят образец до комнатной температуры (18 °C до 22 °C), после чего начинают приготовление испытательного раствора сычужного фермента (9.4).

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Отмечается, что порошковые продукты можно приготовить быстро.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Обращается внимание на выбор размера образца, который берется для испытания. Часто образцы от 3 г до 5 г бывают достаточными, но для испытаний однородных образцов или когда требуются очень точные результаты, для анализа нужны образцы более крупных размеров, такие как 10 г.

6) Bagfilter[®] доступен для приобретения в Interscience, 30, chemin du Bois-des-Arpents, 78860 St-Nom-la-Bretèche, France (www.interscience.fr). Эта информация дается для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекомендацией ISO или IDF для этих продуктов.