

---

---

**Молочные продукты. Определение  
сбраживающей активности молочных  
культур путем постоянного измерения  
рН (СрН)**

*Milk products — Determination of the acidification activity of dairy  
cultures by continuous pH measurement (CpH)*

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 26323:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e1b1b7d-9159-4cb6-8a52-2a52deda55f5/iso-26323-2009>

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



Ссылочные номера  
ISO 26323:2009(R)  
IDF 213:2009(R)

**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. Ни Центральный секретариат ISO, ни IDF не несут 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 и национальными комитетами IDF. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 26323:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e1b1b7d-9159-4cb6-8a52-2a52deda55f5/iso-26323-2009>



**ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ**

© ISO и IDF 2009

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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://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](mailto:info@fil-idf.org)  
Web [www.fil-idf.org](http://www.fil-idf.org)

Опубликовано в Швейцарии

## Содержание

Страница

Предисловие .....	iv
Предисловие .....	v
1 Область применения .....	1
2 Нормативные ссылки .....	1
3 Термины и определения .....	1
4 Сущность метода .....	2
5 Разбавители, культурные среды и реактивы .....	2
6 Оборудование .....	5
7 Отбор проб .....	5
8 Приготовление .....	6
8.1 Приготовление молока .....	6
8.2 Очистка и калибровка рН электродов .....	6
8.3 Очистка электродов от белка и жира .....	6
8.4 Стабилизация и хранение рН электрода .....	6
8.5 Калибровка рН электрода .....	7
8.6 Дезинфекция рН электрода этанолом .....	7
8.7 Обеззараживание рН электрода тепловой обработкой .....	7
9 Процедура .....	7
9.1 Замороженные культуры .....	7
9.2 Продукты сублимационной сушки (лиофилизированные) .....	9
9.3 Окончание анализа .....	11
10 Прецизионность .....	11
10.1 Межлабораторное испытание .....	11
10.2 Повторяемость .....	11
10.3 Воспроизводимость .....	12
11 Протокол испытания .....	13
Приложение А (информативное) Межлабораторный анализ. Кольцевое испытание СрН .....	14
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 26323|IDF 213 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5, *Молоко и молочные продукты*, и Международной молочной федерацией (IDF). Он публикуется совместно ISO и IDF.

[ISO 26323:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e1b1b7d-9159-4cb6-8a52-2a52deda55f5/iso-26323-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e1b1b7d-9159-4cb6-8a52-2a52deda55f5/iso-26323-2009>

## Предисловие

**Международная молочная федерация (IDF)** является некоммерческой организацией, представляющей мировой молочный сектор. Членами IDF являются национальные комитеты в каждой стране-члене, а также региональные молочные ассоциации, подписавшие официальное соглашение о сотрудничестве с IDF. Все члены IDF имеют право быть представленными в постоянных комитетах IDF, выполняющих техническую работу. IDF сотрудничает с ISO в разработке стандартных методов анализа и отбора проб молока и молочных продуктов.

Главной задачей постоянных комитетов является разработка международных стандартов. 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. IDF не несет ответственности за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 26323 | IDF 213 был подготовлен Международной молочной федерацией (IDF) и Техническим комитетом ISO/TC 34 *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 5 *Молоко и молочные продукты*. Этот стандарт публикуется совместно IDF и ISO.

Вся работа была проделана Совместной инициативной группой ISO-IDF по молочнокислым бактериям и закваскам Постоянного комитета по *Микробиологическим методам анализа* под руководством разработчика проекта L. V. Jørgensen (Дания)

[ISO 26323:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e1b1b7d-9159-4cb6-8a52-2a52deda55f5/iso-26323-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e1b1b7d-9159-4cb6-8a52-2a52deda55f5/iso-26323-2009>



# Молочные продукты. Определение сквашивающей активности молочных культур путем постоянного измерения pH (CpH)

## 1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод определения сквашивающей активности молочнокислых бактерий путем непрерывного измерения pH.

ПРИМЕЧАНИЕ Метод основан на Ссылке [9].

Настоящий метод применяется к молочным заквасочным культурам, в которых присутствуют эти специфические микроорганизмы.

Для испытания установлены два типа нормализованного молока: кипяченое молоко с массовой долей сухого вещества 9,5 % (B-молоко 9,5); и автоклавированное (стерилизованное в автоклаве) молоко с массовой долей сухого вещества 9,5 % (A-молоко 9,5). Возможно, что тепловая обработка B-молока 9,5 не инактивирует все присутствующие ферменты, которые могут влиять на активность некоторых культур. В этом случае культуры испытывают на A-молоке 9,5, в котором все ферменты были инактивированы.

## 2 Нормативные ссылки

ISO 26323:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e1b1b7d-9159-4cb6-8a52->

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

ISO 6887-5, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для анализа, первоначальных суспензий и десятичных разведений для микробиологического исследования. Часть 5. Специальные правила для приготовления молока и молочных продуктов*<sup>1)</sup>

## 3 Термины и определения

Применительно к настоящему документу используются следующие термины и определения.

### 3.1

#### **сквашивающая активность** **acidification activity**

способность молочной заквасочной культуры сквашивать стандартизованное молоко, определенная методом, описанным в настоящем международном стандарте

ПРИМЕЧАНИЕ Сквашивающая активность может быть измерена посредством следующих параметров.

1) Заменяет ISO 8261|IDF 122.

- a)  $t_a$  — Время, которое требуется, чтобы началось скисание нормализованного молока, т.е. время для понижения pH на 0,08 pH-единиц от первоначального pH (через 15 мин). Время  $t_a$  измеряется в минутах от времени инокуляции,  $t = 0$ . Если программные данные собираются каждые 4 мин,  $t_a$  определяется путем интерполяции.
- b)  $pH_{t,h}$  — pH через  $t$  ч (например, 4 ч, 6 ч, 12 ч или 16 ч) скисания нормализованного молока при 30 °C, 37 °C, 40 °C или 43 °C. Фактическое время для этого параметра зависит от характеристик закваски.
- c)  $t_{pH,x}$  — Время, которое требуется для скисания нормализованного молока до определенного pH, например pH 4,50. Фактическое время для этого параметра зависит от характеристик закваски и от цели, для которой она используется.

## 4 Сущность метода

Установленное количество закваски разводят и инокулируют в определенное количество нормализованного молока. Посеянную культуру инкубируют при заданной постоянной температуре 30 °C, 37 °C, 40 °C или 43 °C в течение определенного периода времени в зависимости от характеристик закваски. Во время инкубации сквашивающую активность определяют посредством непрерывного измерения pH, используя pH электрод и регистратор данных. Когда кривая ферментации получена, можно вычислить или извлечь ряд параметров кривой.

## 5 Разбавители, культурные среды и реактивы

Используются реактивы только признанной аналитической чистоты, если нет других указаний, и только дистиллированная и деминерализованная вода или вода эквивалентной чистоты. Вода не должна содержать вещества, которые могут тормозить или иначе влиять на рост микроорганизмов в восстановленном молоке. Если используется хлорированная вода, хлор нейтрализуют заранее.

Необходимо соблюдать следующие правила для качества воды: число клеток должно быть ниже 50 клеток/мл, а проводимость 5 мкСм/см. Испытания для определения пригодности воды для микробиологических исследований приведены в ISO/TS 11133-1 [5].

### 5.1 Основные материалы

**МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ** — Соблюдать необходимые меры безопасности при использовании очистителя электродов (5.1.2), раствора хлорида калия (5.1.3) или очистителя диафрагмы (5.1.4), которые могут оказывать раздражающее воздействие на кожу или глаза.

#### 5.1.1 Буферные растворы

**5.1.1.1 Буферный раствор с pH 4,00**, обеспечивающий буферизацию при 20 °C; например, Merck/VWR CertiPUR (Порядковый номер 1.09475) <sup>2)</sup>, или аналогичный.

**5.1.1.2 Буферный раствор с pH 7,00**, обеспечивающий буферизацию при 20 °C; например, Merck/VWR CertiPUR (Порядковый номер 1.09477) <sup>2)</sup> или аналогичный.

**5.1.2 Очиститель электродов**, средство, обеспечивающее очистку электрода; например, раствор пепсина/HCl из Mettler Toledo (Порядковый номер 9891) <sup>2)</sup>, или аналогичный.

---

2) Пример подходящего продукта, имеющегося в продаже. Эта информация дается для удобства пользователей данного международного стандарта и не является поддержкой этого продукта со стороны ISO или IDF. Можно использовать другие продукты, если есть данные, что они дают такие же результаты.



**5.1.3 Раствор хлорида калия**, концентрацией  $c(\text{KCl}) = 3$  моль/л; например, Mettler Toledo (Порядковый номер 9823)<sup>2)</sup>, или аналогичный.

**5.1.4 Очиститель диафрагмы**, обеспечивающий очистку диафрагмы; например, раствор тиомочевины/HCl из Mettler Toledo (Порядковый номер 9892)<sup>2)</sup>, или аналогичный.

**5.1.5 Раствор этанола**,  $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 70$  % объемной доли в воде, используемый для дезинфекции.

**5.1.6 Сухое молоко с малым содержанием жира, полученное распылением при среднем нагреве.** Использовать сухое молоко с малым содержанием жира, полученное распылением при среднем нагреве из молока хорошего качества и без детектируемых остаточных содержаний антибиотиков. Сухое молоко, полученное распылением, должно быть хорошего микробиологического качества (см. ссылку [8]), иметь натуральный приятный вкус, запах свежего молока низкой жирности и состоять из компонентов, установленных в Таблице 1.

**Таблица 1 — Состав сухого молока с малым содержанием жира, полученного распылением при среднем нагреве<sup>a</sup>, например из Chr. Hansen<sup>3)</sup>**

Компонент	Массовая доля %
Молочный белок	34 до 38
Лактоза	48 до 56
Молочный жир	< 1,25
Зола	7 до 9
Влага	< 4
Титруемая кислотность, молочная кислота	< 0,15

<sup>a</sup> pH раствора массовой долей 10 % должен быть в диапазоне от 6,5 до 6,8.

## 5.2 Субстраты

### 5.2.1 QC (нормализованное)-молоко 9,5

**5.2.1.1 Состав.** Использовать только нормализованное молоко с установленным содержанием сухого вещества, приготовленное из сухого молока низкой жирности, полученного распылением, согласно составу в Таблице 2.

Приготовленное количество может быть меньше количества, установленного в Таблице 2. Однако не должно быть меньше ~1,1 кг молока. При использовании небольших количеств используют аналитические весы (6.1) для взвешивания сухого молока с точностью до 1 мг.

Цель в том, чтобы приготовить молоко с содержанием сухого вещества  $9,5 \pm 0,2$  % массовой доли, аналогичное по составу бутилированному и стерилизованному молоку.

3) Пример подходящего продукта, имеющегося в продаже. Эта информация дается для удобства пользователей данного международного стандарта и не является поддержкой этого продукта со стороны ISO или IDF. Можно использовать другие продукты, если есть данные, что они дают такие же результаты.

Таблица 2 — Состав молока, приготовленного из сухого молока, полученного распылением

Компонент	Масса кг
Сухое молоко среднего нагрева <sup>a</sup>	10,9 до 11,2
Вода	100,0

<sup>a</sup> Количество меняется в зависимости от содержания воды в сухом молоке и от потери воды во время приготовления и тепловой обработки.

**5.2.1.2 Приготовление.** Сухое молоко среднего нагрева растворяют в воде не более чем 30 мин. При необходимости нагревают воду до 40 °С, чтобы полностью растворить порошок.

Приготовленное молоко разливают в цилиндрические бутылки, чтобы после тепловой обработки получить объем 200 мл. Объем контролируют, взвешивая бутылку, пока она не достигнет массы нетто 207 г ± 2 г (общая масса минус масса бутылки). Плотность QC-молока 9,5 составляет 1,033 г/мл.

В качестве альтернативы приготовленное молоко разливают в цилиндрические бутылки, чтобы получить массу 200 г ± 2 г (масса нетто). Разницу масс компенсируют в процедуре инокуляции.

**5.2.2 Тепловая обработка В-молока 9,5.** Приготовленное молоко (5.2.1.2) подвергают тепловой обработке согласно температурной программе в Таблице 3.

Таблица 3 — Температурная программа для тепловой обработки В-молока 9,5

Процедура	Температура °С	Время мин
Нагрев	> 99 ± 1	< 20
Выдержка	99 ± 1	30 ± 1
Охлаждение	99 ± 1 до 40 ± 5	< 40

Затем полученное В-молоко 9,5 хранят при температуре ниже 7 °С как минимум 16 ч.

Регистрируют испарение во время тепловой обработки и допуск на массу после тепловой обработки.

**5.2.3 Срок годности В-молока 9,5.** Перед использованием В-молоко 9,5 (5.2.2) можно хранить не менее 16 ч и не более 12 дней.

Некоторые ферменты, например протеазы, возможно, не были инактивированы и могут влиять на сквашивающую активность некоторых культур.

**5.2.4 Тепловая обработка А-молока 9,5.** А-молоко 9,5 используют для культур в тех случаях, когда В-молоко 9,5 не дает требуемой повторяемости, например из-за активности остаточной протеазы.

Приготовленное молоко (5.2.1.2) стерилизуют согласно температурной программе в Таблице 4.

Таблица 4 — Температурная программа для тепловой обработки А-молока 9,5

Процедура	Температура °C	Время мин
Нагрев	115 ± 1	< 20
Выдержка	115 ± 1	15 ± 1
Охлаждение	115 ± 1 до 40 ± 5	< 40

Затем полученное А-молоко 9,5 хранят при температуре ниже 7 °C как минимум 16 ч.

Регистрируют испарение во время тепловой обработки и допуск на массу после тепловой обработки.

**5.2.5 Срок годности А-молока 9,5.** Перед использованием А-молока 9,5 (5.2.2) можно хранить не менее 16 ч и не более 12 дней.

## 6 Оборудование

Используется обычное оборудование микробиологической лаборатории и, в частности, оборудование, требуемое для приготовления испытательных образцов и разбавителей, установленное в ISO 6887-5, а также следующее.

**6.1 Аналитические весы,** обеспечивающие взвешивание с точностью до 0,01 г и 1 мг (см. 5.2.1.1) соответственно.

**6.2 Автоклав,** обеспечивающий работу при 99 °C ± 1 °C и 115 °C ± 1 °C.

**6.3 Водяные бани,** способные поддерживать температуру 21 °C ± 1 °C, 30,0 °C ± 0,2 °C, 37,0 °C ± 0,2 °C, 40,0 °C ± 0,2 °C и 43,0 °C ± 0,2 °C при термостатическом регулировании.

**6.4 pH электроды,** подходящие для измерения требуемого pH; например, Mettler Toledo <sup>4)</sup> 405-DPAS-SC-K8S/150 или аналогичные электроды.

**6.5 Цилиндрические бутылки,** вместимостью 250 мл, высотой 16,5 см и внутренним диаметром 5,5 см.

**6.6 Температурные датчики,** калибровка точности ± 0,1 °C.

**6.7 Регистратор данных,** оснащенный каналами для pH и температуры; присоединен к компьютеру, обеспечивает регистрацию данных от датчиков pH и температуры.

## 7 Отбор проб

Отбор проб не является частью метода, установленного в этом международном стандарте. Рекомендованный метод отбора проб дан в ISO 707 | IDF 50<sup>[1]</sup>.

4) Пример подходящего продукта, имеющегося в продаже. Эта информация дается для удобства пользователей данного международного стандарта и не является поддержкой этого продукта со стороны ISO или IDF. Можно использовать другие продукты, если есть данные, что они дают такие же результаты.