ГОСТ 10444.14—91

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОНСЕРВЫ

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПЛЕСЕНЕЙ ПО ГОВАРДУ

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

УДК 664.841/.851.001.4:006.354 Группа Н59

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОНСЕРВЫ

Метод определения содержания плесеней по Говарду

ГОСТ 10444.14—91

Canned foods. Method of Howard mould count

МКС 07.100.30
ОКСТУ 9109

Дата введения 01.01.93

Настоящий стандарт распространяется на томатные продукты, плодовые пюре и соки с мякотью, в которых отсутствуют видимые признаки плесневения, и устанавливает метод подсчета количества гифов плесеней по Говарду.

Требования настоящего стандарта являются обязательными.

1. СУЩНОСТЬ МЕТОДА

Метод основан на микроскопировании продуктов в определенных условиях и заключается в определении числа Говарда: процента полей зрения с плесенями, устанавливаемого в препаратах продуктов при непосредственном микроскопировании.

2. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

Метод отбора проб — по ГОСТ 26668, подготовка проб — по ГОСТ 26669.

3. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ И РАСТВОРЫ

Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 1 кг и пределом допускаемой погрешности ±10,00 мг по ГОСТ 24104*.

Рефрактометр, шкала которого градуирована в единицах показателя преломления, с ценой деления не более 0,001 и пределом основной допускаемой погрешности ±0,0002.

Баня водяная.

Центрифуга лабораторная типа ЦЛН-2 или центрифуга другого аналогичного типа, осуществляющая центрифугирование при факторе разделения около 5500, с центрифужными пробирками из полимерных материалов вместимостью 10 см^3 по ГОСТ 25336.

Термометр ртутный стеклянный с пределами измерений температуры 0—100 °С, погрешностью измерения не более ±1,0 °С по ГОСТ 28498.

Сито с сеткой диаметром отверстий 0,4 мм по ГОСТ 6613.

Микроскоп биологический с оптической системой, обеспечивающей просмотр препарата в плоском поле зрения диаметром 1,382 мм, с передвижным столиком, снабженным нониусом и препаратоводителем.

Камера Говарда, имеющая плоскую поверхность, опущенную на 0,1 мм окруженную канавками и имеющую выгравированный круг диаметром 1,382 мм, либо две параллельные линии на таком же расстоянии друг от друга.

* С 1 июля 2002 г. введен в действие ГОСТ 24104—2001. На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008.

Издание официальное ★ Перепечатка воспрещена

© ИПК Издательство стандартов, 1991
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

Допускается применять камеры Горяева, Тома, Бюргера и другие, имеющие плоские поверхности, ограниченные канавками, опущенные на 0,1 мм относительно общей плоскости, на которые нанесены сетки из квадратов со стороной 0,05 мм.

Стаканы вместимостью 250 и 400 см^3 по ГОСТ 25336.

Пипетки 1—2—10 по НТД.

Палочки из химико-лабораторного стекла по ГОСТ 21400.

Стекла покровные для камеры по ГОСТ 6672.

Мыло хозяйственное.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Спирт этиловый по ГОСТ 5962*.

Эфир или ацетон по ГОСТ 2603.

Сода кальцинированная техническая по ГОСТ 5100.

Метиленовый голубой, раствор с массовой концентрацией 10 г/дм^3.

Допускается применение аппаратуры с техническими характеристиками не ниже указанных.

4. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

4.1. Продукты перед анализом не термостатируют.

Каждую единицу продукции анализируют отдельно.

4.2. Подготовка к анализу томатных продуктов

Томатные продукты, содержащие целые или дробленые томаты, перед анализом протирают через сито.

В каждой пробе анализируемой продукции определяют массовую долю растворимых сухих веществ (m_4) по ГОСТ 28562.

В стакан отбирают 50,0 г продукта с известной массовой долей растворимых сухих веществ.

Концентрированные томатные продукты разбавляют дистиллированной водой и раствором метиленового голубого или только дистиллированной водой до массовой доли растворимых сухих веществ (8,4±0,4) % так, чтобы показатель рефракции при температуре (20±1) °С составлял 1,3446—1,3460.

Необходимую суммарную массу дистиллированной воды и раствора метиленового голубого для получения нормативного значения массовой доли растворимых сухих веществ (m_0) в граммах вычисляют по формуле

$$m_0 = m_1 + m_2,$$

$$m_1 = m_3\,(0{,}107 \cdot m_4 - 1),$$

$$m_2 = m_3 \cdot 0{,}012 \cdot m_4,$$

где m_1 — масса добавляемой дистиллированной воды, г;

m_2 — масса добавляемого раствора метиленового голубого, г;

m_3 — масса навески продукта, г;

m_4 — массовая доля растворимых сухих веществ, %.

При разбавлении концентрированных томатных продуктов только дистиллированной водой массу дистиллированной воды (m_5) в граммах вычисляют по формуле

$$m_5 = m_3 \cdot (0{,}119 \cdot m_4 - 1).$$

При вычислении массы воды для разбавления томатных продуктов с солью предварительно определяют массовую долю хлоридов по ГОСТ 26186 и вычитают полученное значение из массовой доли растворимых сухих веществ.

Томатные продукты с массовой долей растворимых сухих веществ (8,4±0,4) % и менее используют для анализа без разведения.

Массовую долю растворимых сухих веществ в разбавленных продуктах контролируют по рефрактометру непосредственно перед заполнением камеры.

---

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000.

4.3. Подготовка к анализу плодовых пюре и соков с мякотью

В каждой пробе анализируемой продукции определяют массу мякоти по ГОСТ 8756.10.

Осажденную в центрифужной пробирке мякоть разбавляют дистиллированной водой и раствором метиленового голубого до массовой доли 40 %.

Необходимую суммарную массу дистиллированной воды и раствора метиленового голубого (m_0) в граммах для получения нормативного значения массовой доли мякоти вычисляют по формуле

$$m_0 = 1{,}5\ m_6,$$

где m_6 – масса мякоти в навеске, г.

Массу добавляемого раствора метиленового голубого (m_2) в граммах вычисляют по формуле

$$m_2 = \frac{m_6 \cdot 14}{100}.$$

Массу добавляемой дистиллированной воды (m_1) в граммах вычисляют по формуле

$$m_1 = m_0 - m_2 \ .$$

Разбавленную мякоть используют для приготовления препарата.

4.4. Подготовка камеры

Непосредственно перед приготовлением препарата камеру последовательно промывают раствором детергента и дистиллированной водой, спиртом, эфиром или ацетоном. Камера считается подготовленной к анализу в том случае, если покровное стекло плотно притирается к ней с образованием ньютоновских (радужных) колец на внешней по отношению к канавкам поверхности камеры.

Бактериологической петлей, шпателем или скальпелем отбирают часть продукта и переносят в центр в углубление камеры между канавками. Углубление камеры заполняют анализируемым продуктом на столько, чтобы продукт полностью покрыл поверхность камеры между канавками, но не попал в канавки и по другую сторону от них. Затем на камеру помещают ребром покровное стекло так, чтобы оно касалось продукта, и, плавно наклоняя, опускают его на углубление камеры, заполненное продуктом. Края покровного стекла притирают к камере до появления ньютоновских колец.

4.5. Подготовка микроскопа

Оптическую систему микроскопа настраивают по калибровочным линиям (кругу) на камере Говарда до получения диаметра поля зрения 1,382 мм, что соответствует площади поля зрения 1,5 мм^2.

В случае применения камер Горяева, Тома, Бюргера и др. микроскоп настраивают таким образом, чтобы в его поле зрения вписался квадрат со стороной, равной 0,975–0,977 мм, что соответствует 19,5 квадратам со стороной, равной 0,05 мм. Для этого используют одно из сочетаний объектива 7$^\times$, 8$^\times$, 9$^\times$, 10$^\times$ с окуляром 7$^\times$, 10$^\times$, 15$^\times$ с соответствующей механической длиной выдвижного тубуса, выставленной по шкале тубуса. Если микроскоп имеет неподвижный тубус, то длину его, при необходимости, регулируют помещенной перед окуляром картонной или металлической насадкой, высота которой обеспечивает требуемый диаметр поля зрения. При работе с окуляром 10$^\times$ и объективом 9$^\times$ передвижной тубус микроскопа выдвигают до деления 165. При просмотре препарата свет должен быть сфокусирован на конденсор.

5. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

5.1. Из каждой пробы для анализа готовят четыре препарата.

5.2. Препарат помещают на препаративный столик микроскопа и просматривают, передвигая его так, чтобы одно и то же место препарата не попало повторно в поле зрения микроскопа. Подсчет гиф плесеней начинают с одного из углов препарата, передвигая поле зрения на (1,5±0,1) мм с помощью нониуса. Просмотрев поля в одном ряду, перемещают препарат в следующий ряд. Расстояние между центрами полей зрения в просмотренном ряду и новом должно быть (1,5±0,1) мм.

Для достижения максимальной четкости отдельных структур в препарате яркость света изменяют ирисовой диафрагмой. Каждое поле зрения тщательно исследуют, просматривая препарат по всей глубине, для чего фокус микроскопа непрерывно передвигают вверх и вниз с помощью

микровинта. При необходимости исследуемое место просматривают при большем увеличении (порядка 200×) и затем возвращаются к установленному увеличению, обеспечивающему диаметр поля зрения 1,382 мм.

Применение метиленового голубого позволяет установить на синем фоне препарата сине-зеленые нити гиф.

5.3. В каждом препарате просматривают 25 полей зрения, расположенных равномерно по всему препарату. В каждом поле зрения отмечают наличие или отсутствие гиф плесеней, пользуясь их характеристикой, приведенной в приложении.

5.4. Поле оценивается положительным (содержащим гифы плесеней), если длина одной или общая длина двух или трех гиф превышает $^1/_6$ диаметра поля зрения микроскопа. В общую длину входит длина нитей, мысленно вытянутых в одну линию с добавлением ответвлений.

Поле считается отрицательным, если оно не содержит гиф плесеней или если общая длина одной, двух или трех гиф менее $^1/_6$ диаметра поля зрения.

6. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

6.1. Число Говарда определяют в каждой пробе продукции.

Результат определения выражают как процент полей зрения, содержащих гифы плесеней.

6.2. В томатных продуктах число Говарда в пробе (X) в процентах по результатам просмотра четырех препаратов вычисляют по формуле

$$X = \frac{n}{n_1} \cdot 100,$$

где n — число положительных полей зрения;

n_1 — число просмотренных полей зрения.

6.3. В плодовых пюре и соках с мякотью число Говарда в пробе определяют в два этапа: число Говарда (X) в разбавленной мякоти и число Говарда (G) в пробе.

Число Говарда (X) в процентах в разбавленной мякоти вычисляют по формуле, приведенной в п. 6.2.

Число Говарда (G) в процентах в пробе вычисляют по формуле

$$G = \frac{m_6 \cdot 100}{M \cdot 40} X,$$

где m_6 — масса мякоти в навеске, г;

M — масса навески пробы, г;

X — число Говарда в разбавленной мякоти, %.

6.4. Если при просмотре первых 10 полей зрения все поля положительные, то просмотр прекращают и дают заключение о том, что число Говарда в пробе (процент положительных полей зрения) более 80.

Если при просмотре первых 10 полей зрения все поля отрицательные, то просмотр прекращают и дают заключение, что число Говарда в пробе менее 10 %.

ПРИЛОЖЕНИЕ
Справочное

ХАРАКТЕРИСТИКА ГИФ ПЛЕСЕНЕЙ

Под микроскопом гифы плесеней имеют ряд особенностей, отличающих их от остатков ткани плодов.

Гифы плесеней сегментированы или гранулированы; нити плодов прозрачные, стекловидные или волокнистые. Гифы плесеней имеют характерную разветвленность, образуя, как правило, острый угол, сосудисто-волокнистые ткани плодов видны под микроскопом в виде свернутых спирально пружин. Если последние разрушены, то они отличаются от гриф плесеней по характерному завитку. Волоски, окружающие оболочку семени томатов или покрывающие поверхность плодов, тонкостенные, длинные, суживающиеся на конус, под микроскопом имеют вид сосульки. Гифы плесеней имеют трубчатое, цилиндрическое строение и под микроскопом выглядят плоскими, с параллельными стенками.

Характерные особенности гиф плесеней и тканевых остатков плодов, позволяющие отличать одно от другого, приведены в таблице и на чертеже.

Наименование показателя	Характеристика для	
	плесневых структур	тканевых остатков плодов
1. Форма	Тонкие длинные трубочки	Формы не трубчатые, а сферические, прямоугольные, аморфные и т. д.
2. Стенки	Две параллельные, хорошо видимые стенки, никогда не заканчивающиеся острым концом. Обе стенки видны в одном фокусе, на протяжении всей их длины стенки одинаковые, за исключением оборванных концов. Иногда часть стенок можно рассмотреть с использованием большого увеличения (200×)	Структуры, как правило, не имеющие двух стенок; если же две стенки имеются, то они исчезают в некоторых местах. При наведении на фокус стенки оказываются перекрученными или расстояние между стенками неравномерное
3. Цитоплазма	Между стенками имеется цитоплазма (которая не всегда видна при увеличении 100—150×), часто разделенная на длинные или короткие участки, заканчивающиеся тупыми концами. Иногда цитоплазма имеет гранулированное строение (в виде точек, кружков, извилистых пятен)	Между стенками и между видимыми участками стенки цитоплазма отсутствует. Между стенками могут просматриваться длинные или короткие темные полосы, более или менее параллельные стенкам
4. Концы	Концы гиф тупые или заканчиваются плавным закруглением	Концы нитчатых форм, оканчивающиеся незаметно, имеют расщепления, расширяются или суживаются на конус
5. Боковые ветви	Боковые ветви гиф в точке разветвления образуют острый угол	Ветви нитчатых форм вырастают одна из другой, могут образовывать сетку или иметь расщепление
6. Изгибы стенок	Изгибы стенок гиф неравномерны, за исключением некоторых частей	Изгибы стенок нитчатых форм однородные или же длинные, прямые, выглядят жесткими

ГИФЫ ПЛЕСЕНЕЙ ПОД МИКРОСКОПОМ В ПРЕПАРАТЕ ПРОДУКТОВ

Параллельные стенки одинаковой толщины



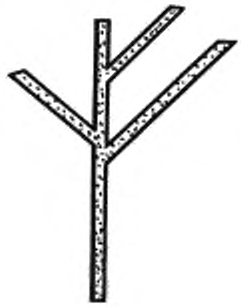
Оба конца прямые или (иногда) один закруглен



Ветвление



Грануляция



Перегородки



ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН** Всесоюзным научно-исследовательским и проектно-конструкторским институтом продуктов детского питания и систем управления агропромышленными комплексами консервной промышленности, Техническим комитетом «Продукты переработки плодов и овощей»

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР от 23.12.91 № 2058

3. **ВЗАМЕН ГОСТ 10444.14—75**

4. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер раздела, пункта
ГОСТ 2603—79	3
ГОСТ 5100—85	3
ГОСТ 5500—2001	3
ГОСТ 5962—67	3
ГОСТ 6613—86	3
ГОСТ 6672—75	3
ГОСТ 6709—72	3
ГОСТ 8756.10—70	4.3
ГОСТ 21400—75	3
ГОСТ 24104—88	3
ГОСТ 25336—82	3
ГОСТ 26186—84	4.2
ГОСТ 26668—85	2
ГОСТ 26669—85	2
ГОСТ 28498—90	3
ГОСТ 28562—90	4.2

5. **ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2010 г.**

gost.e-ecolog.ru