МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 7702.2.1— 2017

ПРОДУКТЫ УБОЯ ПТИЦЫ, ПРОДУКЦИЯ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ И ОБЪЕКТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ

Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом птицеперерабатывающей промышленности — филиалом Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (ВНИИПП) совместно с Федеральным государственным бюджетным учреждением науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» (ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 июля 2017 г. № 101-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 14 ноября 2017 г. № 1740-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 7702.2.1—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2019 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Август 2018 г.

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2018

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ УБОЯ ПТИЦЫ, ПРОДУКЦИЯ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ И ОБЪЕКТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ

Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Poultry slaughtering products, poultry meat products and environment production objects. The method of identification of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms

Дата введения — 2019—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется:

- на продукты убоя птицы (тушки, части тушек, жир-сырец, кожу, субпродукты, мясо птицы механической обвалки, кость птицы пищевую, сырье коллагенсодержащее), полуфабрикаты из мяса птицы, в том числе высокой степени готовности, предназначенные для пищевых целей (далее — продукт);
- продукцию из мяса птицы, готовую к употреблению — колбасные, кулинарные изделия, консервы и др. (далее — готовые продукты);
- смывы с поверхности объектов окружающей производственной среды (технологическое оборудование, тара, инвентарь, стены и полы производственных цехов, воздух в производственных цехах, одежда и руки работников).

Настоящий стандарт устанавливает методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (бактерий, дрожжей, грибов) (далее — КМАФАнМ):

- метод посева в агаризованные питательные среды при температуре (30 ± 1) °С в течение 72 ч;
- ускоренный турбидофлуориметрический метод;
- ускоренный метод посева на тест-пластины, содержащие дегидратированный питательный гелеобразный хромогенный субстрат на подложке.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты*

ГОСТ 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ ISO 7218—2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

Издание официальное

ГОСТ 7702.2.0—2016 Продукты убоя птицы, полуфабрикаты из мяса птицы и объекты окружающей производственной среды. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям

ГОСТ 9792—73 Колбасные изделия и продукты из свинины, баранины, говядины и мяса других видов убойных животных и птиц. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 10444.1—84 Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе

ГОСТ ISO 11133—2016 Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред

ГОСТ ISO 16140—2011 Микробиология продуктов питания и кормов для животных. Протокол валидации альтернативных методов

ГОСТ 25706—83 Лупы. Типы, основные параметры. Общие технические требования

ГОСТ 26669—85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов

ГОСТ 26671—2014 Продукты переработки фруктов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Требования безопасности

3.1 Общие требования к проведению микробиологических исследований, в том числе требования безопасности при осуществлении работ с микроорганизмами — по ГОСТ ISO 7218 и документу, действующему на территории государства, принявшего стандарт.

3.2 При подготовке и проведении исследований необходимо соблюдать требования безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

3.3 Помещение, в котором проводят исследования, должно быть оснащено приточно-вытяжной вентиляцией. Работу необходимо проводить, соблюдая правила личной гигиены и противопожарной безопасности в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

3.4 При работе с электроприборами необходимо соблюдать требования безопасности по ГОСТ 12.1.019.

3.5 Требования к персоналу — по ГОСТ ISO 7218.

4 Средства измерений, аппаратура, материалы и питательные среды

4.1 Средства измерений, аппаратура, материалы и питательные среды по ГОСТ 7702.2.0 со следующими дополнениями:

- турбидофлуориметр БиоТФ, в комплекте с программным обеспечением;
- гомогенизатор бактериологический перистальтический со стерильными полиэтиленовыми пакетами;
- вихревой механический смеситель (Вортекс) по ГОСТ ISO 7218;
- тест-набор для 50 определений КМАФАнМ в продуктах убоя, продукции из мяса птицы и смывах с продукции, и с объектов окружающей производственной среды:
- тест-пластины, содержащие дегидратированный питательный гелеобразный хромогенный субстрат на подложке, для определения КМАФАнМ (петрифильмы);
- распределитель для тест-пластин;
- дозатор пипеточный одноканальный переменного объема от 0,1 до 1,0 $см^3$;
- тампон, губка с летиновым бульоном, не содержащим бисульфиты.

4.2 Допускается применение других средств измерений и аппаратуры с аналогичными метрологическими и техническими характеристиками не хуже указанных, а также питательных сред и материалов по качеству не ниже вышеуказанных.

5 Подготовка к проведению анализа

5.1 Отбор и подготовка проб — по ГОСТ 7702.2.0, ГОСТ 9792, ГОСТ 26671.

5.2 Приготовление разведений — по ГОСТ 26669, ГОСТ ISO 7218 со следующими дополнениями:

- разведение пробы для ускоренного турбидофлуориметрического определения проводят в разбавляющей питательной среде тест-набора;

- разведение пробы для ускоренного определения с использованием тест-пластин проводят в стерильной дистиллированной воде, физиологическом растворе, 0,1 %-ной пептонной воде или в забуференной пептонной воде, смывы отбирают тампонами или губками, увлажненными летиновым бульоном, не содержащим бисульфитов.

5.3 Подготовка посуды — по ГОСТ ISO 7218.

5.4 Подготовка тест-пластин к анализу — в соответствии с инструкцией изготовителя.

5.5 Температура проб перед анализом должна быть в пределах комнатной температуры от 18 °С до 22 °С.

6 Приготовление питательных сред

6.1 Общие положения по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории, сроки и условия их хранения — по ГОСТ ISO 11133, ГОСТ 7702.2.0.

6.2 Приготовление питательных сред:

- глюкозо-триптонный (агар) бульон — по ГОСТ 10444.1;
- мясо-пептонный агар — по ГОСТ 7702.2.0;
- мясо-пептонный агар с глюкозой — по ГОСТ 7702.2.0;
- мясо-пептонный агар с глюкозой и дрожжевым экстрактом — по ГОСТ 7702.2.0;
- питательная среда для определения КМАФАнМ — по инструкции изготовителя;
- питательную среду для ускоренного турбидофлуориметрического метода готовят, смешав 10 $см^3$ нагретой до температуры от 25 °С до 30 °С стерильной воды с концентратом питательной среды из тест-набора в винтовой пробирке на Вортексе до полного растворения компонентов;
- летиновый бульон готовят путем смешивания 10,0 г мясного пептона, 5,0 г экстракта говядины, 0,7 г лецитина, 5,0 г полисорбата (Твин 80) и 5,0 г хлорида натрия. 25,7 г сухой среды растворяют в 1000 $см^3$ дистиллированной воды. При необходимости подогревают при периодическом перемешивании до полного растворения; стерилизуют 15 мин при температуре 121 °С. pH должна составлять (7,0°0,2) ед. pH при температуре 25 °С.

7 Методы проведения анализа

7.1 Метод посева в агаризованные питательные среды

7.1.1 Сущность метода

Метод основан на посеве определенного количества продукта или смыва глубинным способом в питательную среду, аэробном культивировании посевов при температуре (30 ± 1) °С в течение (72 ±3) ч, подсчете всех выросших видимых колоний и определении КМАФАнМ в 1 г (1 $см^3$) продукта.

7.1.2 Проведение анализа

Из навески подготовленной пробы продукта (см. 5.1) готовят исходное и ряд 10-кратных разведений (см. 5.2) до такой степени, чтобы можно было определить предполагаемое КМАФАнМ в 1 г (1 $см^3$) продукта.

Для определения КМАФАнМ выбирают те разведения, при посеве которых на чашках вырастает не менее 10 и не более 300 колоний.

Смывы с поверхности объектов окружающей среды засевают без разведения.

Посевы проводят глубинным агаровым методом. Перед посевом чашки маркируют. На дне чашки маркером ставят номер анализируемой пробы продукта, разведение и дату.

Высевают одновременно в две чашки Петри (параллельные определения) по 1 $см^3$ соответствующих последовательных разведений. Пипетку с посевным материалом держат под углом 45°, не касаясь концом пипетки дна чашки.

В каждую чашку Петри с посевным материалом не позднее, чем через 15 мин, добавляют (18 ± 2) $см^3$ одной из агаризованных расплавленных и охлажденных до температуры (45 ± 1) °С питательных сред (см. 4.1). Чашки с посевами, залитыми питательной средой, осторожно покачивают или вращают для равномерного распределения посевного материала во всей питательной среде.

Чашки Петри с посевами расставляют на горизонтальной поверхности до полного застывания питательной среды.

Для предотвращения роста микроорганизмов, образующих налеты на поверхности среды (ползучий рост), в чашки Петри с посевным материалом наливают (13 ± 2) $см^3$ выбранной питательной среды, перемешивают и после застывания на нее наливают без перемешивания второй слой (5 ± 2) $см^3$ этой же разогретой и охлажденной до температуры (45 ± 1) °С питательной среды.

После застывания среды чашки с посевами, перевернутые дном вверх, культивируют в термостате при температуре (30 ± 1) °С в течение (72 ± 3) °С. Допускается предварительный учет количества выросших колоний через (48 ± 1) ч с последующим окончательным учетом еще через (24 ± 1) ч.

Чашки Петри с посевами распределяют в термостате по ГОСТ ISO 7218.

7.2 Ускоренный турбидофлуориметрический метод

7.2.1 Сущность метода

Метод основан на раннем выявлении микробного роста по концентрации флуоресцентного красителя, который образуется из флуорогенного субстрата в процессе микробного роста. Турбидофлуориметр регистрирует динамику флуоресцентного красителя, а компьютерная программа рассчитывает концентрацию красителя, скорость флуоресценции и соответствующее им КМАФАнМ.

7.2.2 Проведение анализа

В предварительно активированную встряхиванием тест-пробирку из тест-набора помещают 1,2 $см^3$ тщательно перемешанного разведения продукта или смыва в разбавляющей питательной среде, закрывают крышку тест-пробирки и перемешивают ее содержимое на Вортексе в течение 10—15 с. Изменение цвета образца в тест-пробирке на розовый свидетельствует о высокой численности микроорганизмов (превышающей диапазон анализа) и о том, что образец необходимо разбавить для повторного анализа.

Тест-пробирку помещают в турбидофлуориметр БиоТФ, плотно закрывают крышку прибора, выбирают соответствующее программное приложение, начинают измерение и получают результат, рассчитанный программным обеспечением.

7.3 Ускоренный метод с использованием тест-пластин

7.3.1 Сущность метода

Метод посева на тест-пластины, содержащие дегидратированный питательный гелеобразный хромогенный субстрат на подложке, основан на высеве разведений определенной массы анализируемого продукта на тест-пластины, инкубировании посевов при температуре (30 ± 1) °С в течение (48 ± 1) ч, выявлении и подсчете характерно окрашенных колоний.

7.3.2 Проведение анализа

Тест-пластину помещают на ровную поверхность. Приподнимают верхнюю пленку. Из исходного разведения анализируемой пробы и ряда 10-кратных разведений анализируемой пробы продукта или из смыва, приготовленных по 7.1.2, отбирают пробу объемом (1,0 ± 0,1) $см^3$ и вносят на поверхность подложки в центр пластины. Опускают верхнюю пленку.

Помещают пластиковый распределитель в центр пластины. Надавливают на центр распределителя для равномерного распределения образца.

Убирают распределитель и оставляют тест-пластину на 1—2 мин для затвердевания среды.

Посевы инкубируют при температуре (30 ± 1) °С в течение (48 ± 1) ч. Тест-пластины инкубируют в горизонтальном положении прозрачной стороной вверх при повышенной влажности. Допускается размещать тест-пластины друг на друга по 20 шт.

8 Обработка результатов

8.1 Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

8.2 Подсчет КМАФАнМ для метода посева в агаризованные питательные среды

8.2.1 Для подсчета КМАФАнМ учитывают все выросшие колонии. Подсчет проводят невооруженным глазом или с помощью лупы по ГОСТ 25706 или специально предназначенного для подсчета колоний прибора по ГОСТ ISO 7218.

Подсчет проводят в посевах того разведения, количество колоний в котором не более 300.

Для получения достоверных результатов при подсчете количества колоний необходимо, чтобы хотя бы в одной чашке содержалось не менее 10 колоний.

8.2.2 КМАФАнМ N в 1 г (1 см^3) продукта вычисляют, как средневзвешенное значение из подсчетов двух последовательных разведений, по формуле

$$N = \frac{\Sigma C}{V(n_1 + 0{,}1n_2)\mathrm{d}}, \qquad (1)$$

где ΣC — сумма колоний, подсчитанных на всех чашках в двух последовательных разведениях, из которых хотя бы в одной из них содержалось не менее 10 колоний;

V — объем посевного материала, внесенного в чашку, см^3;

n_1 — количество отобранных для подсчета чашек первого выбранного разведения;

n_2 — количество отобранных для подсчета чашек последующего разведения,

d — коэффициент разбавления, соответствующий первому выбранному разведению.

Пример — $N = \dfrac{\Sigma C}{V(n_1 + 0{,}1n_2)d} = \dfrac{210+172+26+29}{1 \cdot (2+0{,}1 \cdot 2) \cdot 10^{-3}} = \dfrac{437}{0{,}0022} = 198636 = 2{,}0 \cdot 10^5.$

Результаты вычисления округляют. Для этого, если последняя цифра меньше пяти, предшествующую цифру не изменяют; если последняя цифра равна или больше пяти, предшествующую цифру увеличивают на единицу. Округление проводят поэтапно, до двух значащих цифр.

8.2.3 Результаты вычисления КМАФАнМ в 1 г (1 см^3) продукта выражают числом КОЕ от 1,0 до 9,9, умноженным на 10^n и записывают «КМАФАнМ $N \cdot 10^n$ КОЕ/г (см^3) продукта».

8.2.4 Если в чашках содержится менее 10 колоний, но не менее четырех, результат вычисляют по формуле

$$N = \frac{C}{V \cdot \mathrm{d}}, \qquad (2)$$

где C — количество колоний, подсчитанных на всех чашках в двух последовательных разведениях, из которых хотя бы в одной из них содержалось не менее 4 колоний;

V — объем посевного материала, внесенного в чашку, см^3;

d — коэффициент разбавления, соответствующий первому выбранному разведению.

8.2.5 Если в чашках содержится от одной до трех колоний, то результат выражают следующим образом: «КМАФАнМ — менее 4/d в 1 г (1 см^3) продукта или в 1 см^3 смыва».

8.2.6 В случае если в каждой из двух чашек с посевами исходной суспензии продукта не содержится ни одной колонии, результаты выражают следующим образом: «КМАФАнМ < 10 КОЕ/г (см^3)».

8.3 Подсчет КМАФАнМ для турбидофлуориметрического метода

Результат, рассчитанный программным обеспечением по 7.2.2, делят на концентрацию пробы в анализируемом разведении или умножают на коэффициент разбавления.

Результаты вычисления КМАФАнМ в 1 г (1 см^3) продукта выражают, как описано в 8.2.3.

8.4 Подсчет КМАФАнМ для метода с использованием тест-пластин

После инкубирования посевов на тест-пластинах подсчитывают количество окрашенных колоний вне зависимости от их размера и интенсивности. Подсчет проводят визуально невооруженным глазом или с помощью лупы по ГОСТ 25706, или стандартного счетчика колоний, или автоматически с помощью считывающего устройства.

При большом количестве колоний на тест-пластине может наблюдаться окрашивание всей зоны роста в красный или розовый цвет. Для подсчета отбирают тест-пластины, на которых выросло от 10 до 300 колоний.

КМАФАнМ *N* в 1 г (1 см^3) продукта вычисляют, как средневзвешенное значение из подсчетов двух последовательных разведений, как описано в 8.2.2.

Результаты вычисления КМАФАнМ в 1 г (1 см^3) продукта выражают, как описано в 8.2.3.

9 Валидация методов

Валидация ускоренных методов (турбидофлуориметрического и посева на тест-пластины, содержащие дегидратированный питательный гелеобразный хромогенный субстрат на подложке) проведена с помощью межлабораторных испытаний по ГОСТ ISO 16140.

УДК 637.54:579.67:006.354 МКС 67.120.20

Ключевые слова: продукты убоя птицы, продукция из мяса птицы, мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы, КМАФАнМ, разведение продукта, питательные среды, отбор проб, ускоренные методы

Редактор *Л.С. Зимилова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *О.В. Лазарева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 23.08.2018. Подписано в печать 13.09.2018. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93 Уч.-изд. л. 0,70.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru