МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 6887-5— 2016

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ И КОРМОВ

Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологического исследования

Часть 5

Специальные правила подготовки молока и молочной продукции

(ISO 6887-5:2010, Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milks products, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2024

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН научно-производственным республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС) на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 20 апреля 2016 г. № 87-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
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 25 января 2024 г. № 59-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 6887-5—2016 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2024 г. с правом досрочного применения

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 6887-5:2010 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Приготовление проб для испытаний, исходных суспензий и десятикратных разведений для микробиологического исследования. Часть 5. Специальные правила подготовки молока и молочных продуктов» («Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milks products», IDT).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 9 «Микробиология» технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с требованиями ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 2010
© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2024



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

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ И КОРМОВ

Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологического исследования

Часть 5

Специальные правила подготовки молока и молочной продукции

Microbiology of food and animal feeding stuffs. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
Part 5. Specific rules for the preparation of milk and milks products

Дата введения — 2024—08—01
с правом досрочного применения

Предостережение! Применение настоящего стандарта может быть связано с проведением опасных операций, использованием вредных веществ, опасного оборудования. Ответственность за соблюдение техники безопасности и установление необходимых ограничений при применении настоящего стандарта несет его пользователь.

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает специальные правила подготовки образцов молока и молочной продукции и правила приготовления их суспензий для микробиологического исследования, отличающиеся от общих правил приготовления исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологического исследования, установленных в ISO 6887-1.

Настоящий стандарт не включает подготовку образцов для исследования методами выявления и подсчета бактерий, подробная информация о подготовке которых приведена в соответствующих стандартах.

Настоящий стандарт распространяется на:

a) молоко и жидкую молочную продукцию;
b) сухую молочную продукцию;
c) сыр;
d) казеины и казеинаты;
e) сливочное масло;
f) мороженое;
g) молочные десерты, молочные кремы, в том числе заварные и сладкие кремы;
h) кисломолочные продукты, в том числе сметану;
i) продукцию детского питания на молочной основе.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты [для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения)]:

ISO 707:2008, Milk and milk products — Guidance on sampling (Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб)

Издание официальное

ISO 6887-1:1999, Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила подготовки исходной суспензии и десятикратных разведений)

ISO 7218:2007, Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям)

ISO 11133:2014, Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media (Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и эксплуатационные испытания культуральных сред)*

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **лабораторная проба** (laboratory sample): Проба, подготовленная для отправки в лабораторию и предназначенная для экспертизы или испытания.

Примечание — В соответствии с [1] (пункт А.19 приложения А).

3.2 **проба для испытания (микробиологического исследования)** (test portion (microbiology)): Объем или масса представительной пробы, взятой из лабораторной пробы для приготовления исходной суспензии.

3.3 **исходная суспензия** (**первичное разведение)** (initial suspension, primary dilution): Суспензия, раствор или эмульсия, полученные после смешивания взвешенного или отмеренного количества испытуемой продукции (или образца для испытания, отобранного из продукции), с девятикратным количеством разбавителя, позволяющим оседать крупным частицам, если они имеются. Смешивание может быть осуществлено с помощью гомогенизатора при соблюдении соответствующих мер предосторожности.

Примечание 1 — Соответствующие меры предосторожности приведены в 8.1.

Примечание 2 — Информация о разбавителях приведена в разделе 5.

3.4 **последовательные десятикратные разведения** (further decimal dilutions): Суспензии, растворы или эмульсии, полученные посредством смешивания отмеренного объема исходной суспензии (3.3), с девятикратным объемом разбавителя с дальнейшими разведениями до получения серии десятикратных разведений, пригодных для инокуляции питательной (культуральной) среды.

4 Сущность метода

Приготавливают исходную суспензию (3.3) таким образом, чтобы получить однородное распределение микроорганизмов, содержащихся в образце для испытания.

При необходимости осуществляют последовательные десятикратные разведения (3.4) с целью снижения количества микроорганизмов на единицу объема, что позволяет после инкубации наблюдать за тем, растут они или нет (в случае использования пробирок или колб), или подсчитывать колонии (в случае использования чашек), как указано в соответствующем стандарте.

Для того чтобы ограничить диапазон подсчета до заданного интервала или если предполагается наличие большого количества микроорганизмов, можно инокулировать только необходимые десятикратные разведения (не менее двух последовательных разведений), требующиеся для выполнения подсчета в соответствии с расчетом, указанным в ISO 7218.

5 Разбавители

При проведении испытаний, если иное не установлено, используют только химические реактивы признанного аналитического качества, стерильную дистиллированную или очищенную воду.

---

* Действует взамен ISO/TS 11133-2:2003.

5.1 Основные материалы

Для приготовления разбавителей используют основные материалы в соответствии с ISO 6887-1.

5.2 Общие разбавители

5.2.1 Пептонный солевой раствор

5.2.1.1 Состав

Гидролизат казеина, г	1
Хлорид натрия (NaCl), г	8,5
Вода, мл	1000

5.2.1.2 Приготовление

Компоненты растворяют в воде, слегка нагревая при необходимости на электрической плитке (6.6). Если необходимо, регулируют значение pH так, чтобы после стерилизации оно составляло 7,0 ± 0,2 при температуре 25 °C.

5.2.2 Раствор Рингера

5.2.2.1 Состав

Натрия хлорид (NaCl),г	2,25
Калия хлорид (KCl), г	0,105
Кальция хлорид ($CaCl_2$), безводный, г	0,06 [a)]
Гидрокарбонат натрия ($NaHCO_3$), г	0,05
Вода, мл	1000
[a)] Допускается использовать при приготовлении раствора Рингера 0,12 г $CaCl_2 \cdot 6H_2O$.	

5.2.2.2 Приготовление

Соли растворяют в воде. Если необходимо, регулируют значение pH так, чтобы после стерилизации оно составляло 6,9 ± 0,2 при температуре 25 °C.

5.2.3 Раствор пептона

5.2.3.1 Состав

Гидролизат казеина, г	1
Вода, мл	1000

5.2.3.2 Приготовление

Гидролизат казеина растворяют в воде. Если необходимо, регулируют значение pH так, чтобы после стерилизации оно составляло 7,0 ± 0,2 при температуре 25 °C.

5.2.4 Фосфатный буферный раствор

5.2.4.1 Состав

Однозамещенный фосфорнокислый калий (KH_2PO_4), г	42,5
Вода, мл	1000

5.2.4.2 Приготовление

Соль растворяют в 500 мл воды. Если необходимо, регулируют значение pH так, чтобы после стерилизации оно составляло 7,0 ± 0,2 при температуре 25 °C. Доводят объем до 1000 мл оставшейся водой.

Полученный основной раствор хранят в охлажденном состоянии.

Для использования в качестве разбавителя добавляют 1 мл основного раствора к 1000 л воды.

5.2.5 Забуференная пептонная вода

5.2.5.1 Состав

Пептон, г	10
Хлорид натрия (NaCl), г	5
Двузамещенный фосфорнокислый натрий 12-водный ($Na_2HPO_4 \cdot 12\ H_2O$), г	9,0 [a)]
Однозамещенный фосфорнокислый калий (KH_2PO_4), г	1,5
Вода, мл	1000

[a)] Допускается использовать при приготовлении забуференной пептонной воды 3,56 г двузамещенного фосфорнокислого натрия безводного (Na_2HPO_4).

5.2.5.2 Приготовление

Компоненты растворяют в воде, слегка нагревая при необходимости на электрической плитке (6.6). Если необходимо, регулируют значение pH так, чтобы после стерилизации оно составляло 7,0 ± 0,2 при температуре 25 °C.

5.2.5.3 Применение

Раствор рекомендован, в частности, для обнаружения *Salmonella spp.* или подсчета *Listeria monocytogenes*, но также может быть использован для приготовления исходных суспензий для других микробиологических исследований.

5.3 Разбавители для специального применения

Такие разбавители используют только для приготовления исходных суспензий.

5.3.1 Раствор цитрата натрия

5.3.1.1 Состав

Тринатрий цитрат дигидрат ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$), г	20
Вода, мл	1000

5.3.1.2 Приготовление

Соль растворяют в воде, слегка нагревая при необходимости на электрической плитке (6.6) при температуре 45 °C—50 °C. Если необходимо, регулируют значение pH так, чтобы после стерилизации оно составляло 7,5 ± 0,2 при температуре 25 °C.

5.3.1.3 Применение

Раствор используют для исследования сыра, сухого молока вальцовой сушки и казеинатов.

5.3.2 Раствор двузамещенного фосфорнокислого калия

5.3.2.1 Состав

Двузамещенный фосфорнокислый калий (K_2HPO_4), г	20
Вода, мл	1000

5.3.2.2 Приготовление

Соль растворяют в воде, слегка нагревая при необходимости на электрической плитке (6.6) при температуре 45 °C — 50 °C. Регулируют значение pH так, чтобы после стерилизации оно составляло при температуре 25 °C для «кислой» сухой молочной сыворотки 8,4 ± 0,2, а для сыра, сухого молока вальцовой сушки, кисломолочных продуктов, в том числе сметаны — 7,5 ± 0,2.

5.3.2.3 Применение

Раствор используют для исследования сыра, сухого молока вальцовой сушки, кисломолочных продуктов, в том числе сметаны, казеинатов, «кислой» сухой молочной сыворотки.

5.3.3 Раствор двузамещенного фосфорнокислого калия с пеногасителем

5.3.3.1 Раствор двузамещенного фосфорнокислого калия

5.3.3.1.1 Состав

Двузамещенный фосфорнокислый калий (K_2HPO_4), г	20
Вода, мл	1000

5.3.3.1.2 Приготовление

Двузамещенный фосфорнокислый калий растворяют в воде, слегка нагревая при необходимости на электрической плитке (6.6) при температуре 45 °С—50 °С.

5.3.3.2 Основной раствор с пеногасителем

5.3.3.2.1 Состав

Полиэтиленгликоль 2000, г	1
Вода, мл	100

5.3.3.2.2 Приготовление

Полиэтиленгликоль 2000 растворяют в воде, перемешивая.

5.3.3.3 Приготовление

К 1 л раствора K_2HPO_4 (5.3.3.1) добавляют основной раствор с пеногасителем (5.3.3.2). Регулируют значение pH так, чтобы после стерилизации оно составляло при температуре 25 °С для кислотного казеина 8,4 ± 0,2, а для сычужного казеина — 7,5 ± 0,2.

5.3.3.4 Применение

Раствор используют для кислотного и сычужного казеинов.

5.3.4 Раствор триполифосфата натрия

5.3.4.1 Состав

Триполифосфат натрия ($Na_5P_3O_{10}$), г	20
Вода, мл	1000

5.3.4.2 Приготовление

Соль растворяют в воде, слегка нагревая при необходимости на электрической плитке (6.6). Полученный раствор распределяют по бутылкам по 90 мл и стерилизуют. Питательную среду хранят при температуре 5 °С ± 3 °С не более 1 мес.

5.3.4.3 Применение

Раствор используют в качестве возможного разбавителя для труднорастворимого сычужного казеина.

5.3.5 Общие разбавители с раствором α-амилазы

5.3.5.1 Приготовление

К 225 мл общего разбавителя (5.2) добавляют 12,5 мг α-амилазы (ЕС 3.2.1.1, см. [3]) со специфической активностью около 400 единиц[1)]/мг. Указанное количество разбавителя используется для пробы для испытания, равной 25 г. В случае использования другого количества пробы для испытания необходимое для приготовления разбавителя количество общего разбавителя и α-амилазы может быть рассчитано с учетом вышеуказанного соотношения компонентов разбавителя (например, для пробы для испытания, равной 10 г, необходимо 90 мл общего разбавителя и 5 мг α-амилазы).

5.3.5.2 Применение

Раствор используют для пищевой продукции, содержащей крахмал.

5.3.6 Забуференная пептонная вода с бромкрезоловым пурпурным

5.3.6.1 Состав

Забуференная пептонная вода (5.2.5), мл	1000
Бромкрезоловый пурпурный, 4 %-ный спиртовой раствор	0,1

[1)] Единица измерения (часто называемая Международной единицей измерения или Стандартной единицей измерения) — это количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в минуту при стандартных условиях.

5.3.6.2 Приготовление

К 1000 мл забуференной пептонной воды (5.2.5) добавляют 0,1 мл раствора бромкрезолового пурпурного.

5.3.6.3 Применение

Раствор используют для пищевой продукции с низким значением pH, что позволяет регулировать значение pH без использования стерильных буферных растворов (см. 8.3).

Бромкрезоловый пурпурный придает желтую окраску раствору при низких значениях pH и меняет цвет раствора на пурпурный при значениях pH выше 6,8.

5.4 Розлив и стерилизация разбавителя

Розлив и стерилизацию разбавителей осуществляют в соответствии с ISO 6887-1.

5.5 Оценка эффективности контроля качества

Проводят контроль качества всех разбавителей, включенных в настоящий стандарт, так, как указано в ISO 11133 для пептонного солевого раствора.

Инкубация:	45 мин при температуре 20 °C—25 °C
Штамм:	*Escheria coli* WDCM 00013[a),1)] или WDCM 00012[a),1)] *Staphylococcus aureus* WDCM 00034[1)]
Контролируемая среда:	Сухая питательная среда (TSA) при температуре 37 °C ± 1 °C в течение 24 ч ± 2 ч
Метод контроля:	Количественный
Критерии:	±50 % изначального подсчета t_0
[a)] Штаммы, используемые контролирующей лабораторией (минимальный набор).	

6 Оборудование

Используют стандартное микробиологическое лабораторное оборудование общего назначения, указанное в ISO 7218 и ISO 6887-1, в том числе перечисленное ниже.

6.1 **Перистальтический или ротационный гомогенизатор.**

6.2 **Вихревая мешалка.**

6.3 **Лабораторные стеклянные бусины** диаметром около 6 мм.

6.4 **Водяная баня** с терморегулятором, поддерживающая температуру 37 °C ± 1 °C и 45 °C ± 1 °C.

6.5 **Шпатели или стеклянные палочки**.

6.6 **Электрическая плитка** или другое оборудование с умеренным нагреванием (негазовые горелки), способное работать при требуемой температуре.

7 Подготовка образцов

7.1 Замороженная пищевая продукция

Перед осуществлением отбора проб замороженную пищевую продукцию размораживают путем выдержи ее при комнатной температуре 18 °C—27 °C в течение не более 3 ч или при температуре 3 °C ± 2 °C в течение не более 24 ч. После размораживания пробы должны быть исследованы в кратчайшие сроки в соответствии с ISO 6887-1.

Для ускорения процесса размораживания пищевой продукции можно использовать немного разбавителя (раздел 5) комнатной температуры.

[1)] Для получения дополнительной информации о номерах штаммов в коллекции культур и контактных данных см. каталог стандартных штаммов (пересмотренный 19.07.2010) на сайте gost.e-ecolog.ru WDCM_Reference_Strain_Catalogue.

7.2 Твердая и сухая пищевая продукция

При перемешивании твердой пищевой продукции в перистальтическом гомогенизаторе (6.1) пробу и разбавитель помещают в два (или более) стерильных пакета, чтобы предотвратить возможное протекание.

Не допускается гомогенизировать твердую и сухую пищевую продукцию в ротационном гомогенизаторе в течение более 2,5 мин единовременно.

Для сухой и твердой или неоднородной пищевой продукции может потребоваться измельчение или помол лабораторной пробы. В этом случае во избежание чрезмерного нагревания пробы процедуру измельчения (помола) проводят в течение не более 1 мин.

7.3 Жидкая и невязкая пищевая продукция

Для обеспечения равномерного распределения микроорганизмов перед проведением анализа образец для испытания встряхивают вручную в соответствии с 9.1 или механически.

7.4 Неоднородная пищевая продукция

Отбор проб из неоднородной пищевой продукции, которая представляет собой смесь различных компонентов, входящих в ее состав, должен осуществляться путем отбора каждого компонента в соответствии с их пропорцией в пищевой продукции.

Допускается сначала гомогенизировать всю лабораторную пробу, а затем провести отбор пробы для испытания.

Для лабораторной пробы может потребоваться ее измельчение или помол. В этом случае во избежание чрезмерного нагревания пробы процедуру измельчения (помола) проводят в течение не более 1 мин.

8 Общие правила

8.1 Общие положения

Все действия и манипуляции следует проводить в асептических условиях и с использованием стерильного оборудования, чтобы предотвратить микробное загрязнение проб в соответствии с ISO 7218.

В протоколе испытания необходимо отразить те процедуры, которые отличаются от процедур, указанных в настоящем стандарте.

8.2 Отбор проб

В лабораторию должна быть передана представительная проба, не поврежденная или измененная во время транспортирования и/или хранения.

Метод отбора проб не описан в настоящем стандарте. Рекомендованный метод приведен в ISO 707.

В случае отсутствия стандарта на конкретную пищевую продукцию отбор проб необходимо осуществлять, учитывая мнения всех заинтересованных сторон.

8.3 Общие правила для пищевой продукции с низким значением pH

Для пищевой продукции с низким значением pH при подготовке исходной суспензии необходимо довести значение pH до нейтрального. Использование разбавителя с добавлением индикатора pH (5.3.6) позволяет избежать использования стерильных буферных растворов. Для доведения pH исходной суспензии до нейтрального значения добавляют раствор гидроксида натрия (NaOH) до изменения цвета индикатора до необходимого.

При использовании буферных разбавителей довольно часто требуется повышение буферной емкости за счет добавления раствора гидроксида натрия (NaOH). Концентрация добавляемого раствора гидроксида натрия (NaOH) зависит от кислотности пищевой продукции. Наиболее оптимальной концентрацией (0,1 или 1 моль/л) является та, которая позволяет сохранить соотношения пищевой продукции и разбавителя 1:9.

8.4 Пищевая продукция с высоким содержанием жира (с массовой долей жира более 20 %)

Для улучшения эмульгирования жиров в исходной суспензии используют разбавитель с моноолеатом сорбитана [полисорбатом 80[1)]] в концентрации 1—10 г/л в зависимости от содержания жира в пищевой продукции (например, при содержании жира 40 % добавляют 4 г/л).

9 Специальные правила

9.1 Молоко и жидкая молочная продукция

Для равномерного распределения микроорганизмов образец для испытания тщательно перемешивают, быстро переворачивая 25 раз контейнер, в котором он содержится. Необходимо избежать образования пены или увеличения ее количества. Интервал между перемешиванием образца для испытания и отбором пробы для испытания не должен превышать 3 мин.

Стерильной пипеткой производят отбор не менее 1 мл образца для испытания и добавляют девятикратный объем общего разбавителя (5.2). Встряхивают первичное разведение (разведение 10^{-1}) вручную 25 раз за 7 с с амплитудой движений около 300 мм или используют вихревую мешалку (6.2) в течение 5—10 с.

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с разделом 10.

9.2 Сухое молоко, сухая молочная сыворотка, сухая пахта и молочный сахар (лактоза)

Содержимое закрытого контейнера тщательно перемешивают, встряхивая и переворачивая его.

Если образец для испытания находится в закрытом контейнере в количестве, которое препятствует его равномерному перемешиванию, тогда его необходимо перенести в больший контейнер и затем перемешать. Контейнер открывают и после отбора шпателем необходимого количества пробы для испытания (как указано ниже) сразу закрывают.

Взвешивают 10 г образца для испытания в стерильной стеклянной посуде (например, стакане) и переносят во флакон с общим разбавителем (5.2). Для «кислой» сухой молочной сыворотки используют раствор двузамещенного фосфорнокислого калия (5.3.2) со значением pH 8,4 ± 0,2, а для сухого молока вальцовой сушки используют раствор цитрата натрия (5.3.1) или раствор двузамещенного фосфорнокислого калия (5.3.2) со значением pH 7,5 ± 0,2.

Допускается взвешивать 10 г образца для испытания непосредственно во флаконе с общим разбавителем.

Примечание — Для лучшего растворения, в частности, сухого молока вальцовой сушки можно использовать лабораторные стеклянные бусины (6.3), которые помещают во флакон перед стерилизацией.

При растворении образца для испытания сначала смачивают порошкообразное содержимое флакона, вращая его медленно, а затем вручную встряхивают флакон 25 раз за 7 с с амплитудой движений около 300 мм. Допускается вместо встряхивания флакона использование перистальтического гомогенизатора (6.1). Дают содержимому флакону отстояться 5 мин и при необходимости повторяют указанную процедуру.

Если невозможно получить гомогенную суспензию, в том числе использованием гомогенизатора, допускается предварительно нагреть разбавитель до температуры 45 °С с внесением соответствующей записи в протокол испытания.

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с разделом 10.

9.3 Сыр и плавленый сыр

В чашке взвешивают 10 г образца для испытания и переносят во флакон ротационного или пакет перистальтического гомогенизатора (6.1). Допускается взвешивать 10 г образца для испытания непосредственно во флаконе или пакете.

Добавляют 90 мл общего разбавителя (5.2) или раствора цитрата натрия (5.3.1) или раствора двузамещенного фосфорнокислого калия (5.3.2) со значением pH 7,5 ± 0,2.

[1)] Твин-80 является примером подходящего продукта, имеющегося в продаже. Информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой указанного продукта со стороны ISO.

Перемешивают до равномерного распределения сыра.

Отстаивают до исчезновения пены.

Если невозможно получить гомогенную суспензию, в том числе использованием гомогенизатора, допускается предварительно нагреть разбавитель до температуры 45 °С с внесением соответствующей записи в протокол испытания.

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с разделом 10.

9.4 Казеины и казеинаты

9.4.1 Общий случай

Содержимое закрытого контейнера тщательно перемешивают, встряхивая и переворачивая его.

Взвешивают 10 г образца для испытания в стерильном пластиковом пакете для перистальтического гомогенизатора (6.1). Добавляют 90 мл соответствующего разбавителя при комнатной температуре, используя:

a) для кислотного казеина — раствор двузамещенного фосфорнокислого калия с пеногасителем (5.3.3) со значением pH 8,4 ± 0,2;

b) для казеинатов — раствор цитрата натрия (5.3.1) или раствор двузамещенного фосфорнокислого калия (5.3.2) со значением pH 7,5 ± 0,2 или пептонный солевой раствор (5.2.1);

c) для сычужного казеина — раствор двузамещенного фосфорнокислого калия с пеногасителем (5.3.3) со значением pH 7,5 ± 0,2.

Тщательно перемешивают вручную и дают отстояться 15 мин при комнатной температуре. При необходимости дополнительно перемешивают 2 мин в перистальтическом гомогенизаторе (6.1), используя два стерильных мешка для сыпучей продукции, и дают отстояться в течение 5 мин.

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с разделом 10.

9.4.2 Специальный случай: сычужный казеин

Сычужный казеин может быть труднорастворим, и поэтому может понадобиться применение процедуры разведения, отличающейся от указанной в 9.4.1.

Использование раствора двузамещенного фосфорнокислого калия с пеногасителем (5.3.3) в качестве разбавителя сычужного казеина может быть неэффективным для растворения зерен, и в результате затрудняется подсчет микроорганизмов при 30 °С. В указанном случае рекомендуется процедура, приведенная ниже.

Сычужный казеин измельчают до проведения отбора пробы для испытания. Переносят около 20 г образца для испытания в подходящий контейнер и измельчают при помощи гомогенизатора с ножами, вращающимися со скоростью около 20 000 об./мин, снабженного устройством, предохраняющим образец для испытания от нагревания при измельчении[1)].

Взвешивают 5 г образца для испытания, подготовленного как указано выше, в стерильном флаконе номинальной вместимостью 250 мл. Добавляют лабораторные стеклянные бусины (6.3) и 95 мл раствора триполифосфата натрия (5.3.4), предварительно подогретого до температуры 37 °С. Перемешивают содержимое флакона на мешалке 15 мин, а затем погружают в водяную баню (6.4) с температурой воды 37 °С на 15 мин, периодически перемешивая.

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с разделом 10.

9.5 Сливочное масло

Если необходимо снимать поверхностный слой образца сливочного масла, следует выполнять требования, установленные в ISO 707.

Взвешивают 10 г образца для испытания в контейнере и погружают его в водяную баню (6.4) с температурой воды 45 °С до полного расплавления пробы для испытания. Добавляют 90 мл общего разбавителя (5.2), подогретого до температуры 45 °С, и перемешивают. Указанную операцию легче выполнять в перистальтическом гомогенизаторе (6.1).

Допускается для разведения использовать только водную фазу, как указано ниже.

[1)] Гомогенизаторы VirTis являются примером подходящего продукта, имеющегося в продаже. Информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой указанного продукта со стороны ISO.

Отбирают 50 г пробы для испытания, содержащей воду (соотношение объема и массы) W, %, и добавляют (50 – [50 × W/100]) мл общего разбавителя (5.2), предварительно подогретого на водяной бане (6.4) при температуре 45 °С. 1 мл водной фазы соответствует 1 г сливочного масла.

Пример — В 50 г сливочного масла, содержащего примерно 16 % воды (соотношение объема и массы), водная фаза составляет 8 мл жидкости. К указанному сливочному маслу необходимо добавлять 42 (50 –[50 × 16/100]) мл общего разбавителя (5.2), предварительно подогретого на водяной бане (6.4) при температуре 45 °С.

Контейнер погружают в водяную баню (6.4) с температурой воды 45 °С до полного расплавления сливочного масла, затем извлекают из водяной бани, тщательно встряхивают и дают отстояться его содержимому не более 15 мин для разделения фаз. Жирная фаза может быть извлечена шпателем или стеклянной палочкой (6.5).

При необходимости для разделения фаз расплавленную пробу для испытания переносят в стерильную центрифужную пробирку (или расплавляют пробу для испытания непосредственно в пробирке) и центрифугируют с частотой вращения, обеспечивающей разделение фаз. Может потребоваться асептическое удаление жирной (верхней) фазы с помощью стерильной трубки, подсоединенной к вакуумному насосу. Нижний слой отбирают пипеткой.

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с разделом 10.

9.6 Мороженое

Взвешивают 10 г образца для испытания в колбе или стерильном пластиковом пакете для перистальтического гомогенизатора (6.1), добавляют 90 мл соответствующего разбавителя комнатной температуры и перемешивают. В процессе перемешивания мороженое тает.

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с разделом 10.

9.7 Молочные десерты, молочные кремы, в том числе заварные и сладкие кремы (со значением pH > 5)

Взвешивают 10 г образца для испытания в колбе с лабораторными стеклянными бусинами (6.3), добавляют 90 мл общего разбавителя (5.2) комнатной температуры и встряхивают для распределения. Допускается использовать перистальтический гомогенизатор (6.1) согласно указаниям производителя, но в данном случае применение лабораторных стеклянных бусин запрещено.

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с разделом 10.

9.8 Кисломолочные продукты, в том числе сметана (со значением pH < 5)

Взвешивают 10 г образца для испытания в колбе с лабораторными стеклянными бусинами (6.3), добавляют 90 мл забуференной пептонной воды (5.2.5) или раствора двузамещенного фосфорнокислого калия (5.3.2) комнатной температуры со значением pH 7,5 ± 0,2 и перемешивают вручную. Допускается использовать перистальтический гомогенизатор (6.1) согласно указаниям производителя, но в данном случае применение лабораторных стеклянных бусин запрещено.

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с разделом 10.

9.9 Продукция детского питания на молочной основе

Содержимое закрытого контейнера тщательно перемешивают, встряхивая и переворачивая его. Если образец для испытания находится в закрытом контейнере в количестве, которое препятствует его равномерному перемешиванию, тогда его необходимо переносить в больший контейнер и затем перемешивать. Контейнер открывают и после отбора шпателем (6.5) необходимого количества пробы для испытания (как указано ниже) сразу закрывают.

Взвешивают 10 г образца для испытания в стерильной стеклянной посуде (например, стакане) и переносят во флакон с общим разбавителем (5.2) или для образцов для испытания с высоким содержанием крахмала — с разбавителем для специального применения (5.3.5).

Допускается взвешивать 10 г образца для испытания непосредственно во флаконе с необходимым разбавителем.

Если невозможно получить гомогенную суспензию, в том числе использованием гомогенизатора, допускается предварительно нагреть разбавитель до температуры 45 °С с внесением соответствующей записи в протокол испытания. Для лучшего растворения, в частности, сухого молока вальцовой сушки можно использовать лабораторные стеклянные бусины (6.3), которые помещают во флакон перед стерилизацией.

При растворении образца для испытания сначала смачивают порошкообразное содержимое флакона, вращая его медленно, а затем вручную встряхивают флакон 25 раз за 7 с с амплитудой движений около 300 мм. Допускается вместо встряхивания флакона использование перистальтического гомогенизатора (6.1).

Дают содержимому флакону отстояться 5 мин и при необходимости повторяют указанную процедуру.

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с разделом 10. При исследовании образцов с высоким содержанием крахмала могут возникать трудности из-за высокой вязкости первичного разведения.

Для снижения вязкости исходной суспензии применяют общий разбавитель (5.2) с раствором α-амилазы (5.3.5) или двойной объем другого разбавителя. Осуществляемое дополнительное разведение должно быть учтено при исследовании образца.

10 Последовательные десятикратные разведения

Последовательные десятикратные разведения готовят в соответствии с ISO 6887-1.

Пипетку, используемую при переносе вязкой исходной суспензии, например, при исследовании кислотного или сычужного казеинов (9.4), промывают от остатков исходной суспензии применяемым разбавителем, отсасывая его несколько раз из пробирки, в которой готовят десятикратное разведение.

ВАЖНО — Если не промывать пипетку от остатков вязкой исходной суспензии, отобранный объем будет неточным.

Последовательные десятикратные разведения, подготовленные перемешиванием объемных частей исходной суспензии и разбавителя в соотношениях 10 : 90 или 11 : 99, встряхивают в соответствии с 9.1.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица Д.А.1

Обозначение международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 707:2008	IDT	ГОСТ ISO 707—2013* «Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб»
ISO 6887-1:1999	IDT	ГОСТ ISO 6887-1—2015 «Микробиология пищевой продукции и кормов. Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологического исследования. Часть 1. Общие правила подготовки исходной суспензии и десятикратных разведений»
ISO 7218:2007	IDT	ГОСТ ISO 7218—2015 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям»

Примечание — В настоящем стандарте использованы следующие условные обозначения степени соответствия стандартов:
- IDT — идентичные стандарты.

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 707—2010.

Библиография

[1] ISO 7002:1986 Agricultural food products — Layout for a standard method of sampling from a lot (Продукты сельскохозяйственные пищевые. Схема стандартного метода отбора проб из партии)

[2] ISO/TS 11133-1:2009 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory
(Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководство по подготовке и приготовлению культуральных сред. Часть 1. Общее руководство по обеспечению качества подготовки культуральных сред в лаборатории)

[3] WEBB, E.C. *Enzyme nomenclature 1992: Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the nomenclature and classification of enzymes.* Academic Press, London, 1992. 862 p. Update available (2009-09-30) at: gost.e-ecolog.ru
(Номенклатура ферментов 1992: Рекомендации Комитета по номенклатуре Международного союза биохимии и молекулярной биологии по номенклатуре и классификации ферментов)

УДК 637.1.047:579.672.083(083.74)(476) МКС 07.100.30 IDT

Ключевые слова: микробиология, пищевая продукция, корма, подготовка образцов для испытания, исходная суспензия, десятикратные разведения, специальные правила, молоко, молочная продукция

Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 26.01.2024. Подписано в печать 15.02.2024. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,12.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru