МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
ISO 10718—
2018**

ПРОБКИ КОРКОВЫЕ

Подсчет колониеобразующих единиц дрожжей, плесени и бактерий, способных как к экстрагированию, так и к росту в спиртовой среде, для определения характеристик пробок с низким содержанием микроорганизмов

(ISO 10718:2015, Cork stoppers — Characterization of a low-in-germs stopper, through the enumeration of colony-forming units of yeasts, moulds and bacteria, capable of both being extracted and growing in alcoholic medium, IDT)

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 ПОДГОТОВЛЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 415 «Средства укупорочные» (ООО «ЦСИ «Продмаштест») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии международного стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 28 февраля 2018 г. № 106-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
Молдова	MD	Институт стандартизации Молдовы
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 марта 2018 г. № 155-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 10718—2018 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 декабря 2018 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 10718:2015 «Пробки корковые. Определение характеристик пробок с низким содержанием микроорганизмов путем подсчета колониеобразующих единиц дрожжей, плесеней и бактерий, способных как экстрагироваться, так и расти в спиртовой среде» («Cork stoppers — Characterization of a low-in-germs stopper, through the enumeration of colony-forming units of yeasts, moulds and bacteria, capable of both being extracted and growing in alcoholic medium», IDT).

Международный стандарт разработан Техническим комитетом по стандартизации ISO/TC 87 «Пробка» Международной организации по стандартизации (ISO).

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

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

6 ВЗАМЕН ГОСТ ISO 10718—2016

*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

© ISO, 2015. Все права сохраняются
© 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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Пробки с низким содержанием микроорганизмов 1
4 Сущность метода 1
5 Реактивы и питательные среды 2
6 Оборудование 2
7 Отбор проб 3
8 Условия испытаний 3
9 Экстрагирование 3
10 Проведение испытаний 3
11 Контрольные испытания 4
12 Инкубация 4
13 Обработка результатов 4
14 Протокол испытаний 5
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам 6

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

ПРОБКИ КОРКОВЫЕ

Подсчет колониеобразующих единиц дрожжей, плесени и бактерий, способных как к экстрагированию, так и к росту в спиртовой среде, для определения характеристик пробок с низким содержанием микроорганизмов

Cork stoppers. Enumeration of colony-forming units of yeasts, moulds and bacteria, capable of both being extracted and growing in alcoholic medium for characterization of a low-in-germs stoppers

Дата введения —2018—12—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод подсчета колониеобразующих единиц дрожжей, плесеней и бактерий, которые могут существовать на корковых пробках и в спиртовом растворе и которые при определенных условиях могут экстрагироваться в течение трех месяцев после поставки.

Настоящий стандарт применим ко всем типам корковых пробок, готовых к использованию, прошедших санитарную обработку и упакованных в надлежащих асептических и герметичных условиях.

Настоящий стандарт устанавливает предельно допустимое количество колониеобразующих единиц дрожжей, плесеней и бактерий, которое может быть обнаружено на корковых пробках при проведении испытания в соответствии с методикой, изложенной в настоящем стандарте.

2 Нормативные ссылки

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

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

ISO 17727, Cork — Cork stoppers for still wine — Sampling plan for the quality ontrol of cork stoppers (Кора пробковая. Корковые пробки для тихих вин. План выборочного контроля качества корковых пробок)

3 Пробки с низким содержанием микроорганизмов

Корковые пробки, испытанные методами, установленными в настоящем стандарте, считают пробками с низким содержанием микроорганизмов, если получены следующие результаты:

- до 10 КОЕ бактерий на пробку (см. 13.1);
- до 10 КОЕ дрожжей и плесеней на пробку (см. 13.2).

4 Сущность метода

Прямой подсчет колоний живых микроорганизмов (дрожжей, плесеней и бактерий) путем инкубации в специфической питательной среде после извлечения их из спиртового раствора с добавлением винной кислоты с последующей мембранной фильтрацией.

Издание официальное

5 Реактивы и питательные среды

5.1 Физиологический раствор (0,85 %-ный NaCl)[1)] или раствор Рингера (1/4 X)[1)] следующего состава:

хлорид натрия	2,25 г/л
хлорид калия	0,105 г/л
хлорид кальция 6-водный	12 г/л
бикарбонат натрия	0,05 г/л
значение pH готового раствора (полученное определением в смеси)	7,0 ± 0,2

5.2 Среда WLD (для подсчета бактерий) следующего состава:

дрожжевой экстракт	4,0 г/л
гидролизат казеина	5,0 г/л
глюкоза	50,0 г/л
однозамещенный фосфат калия	0,55 г/л
хлорид калия	0,425 г/л
хлорид кальция	0,125 г/л
сульфат магния	0,125 г/л
сульфат марганца	0,0025 г/л
хлорид железа	0,0025 г/л
бромкрезоловый зеленый	0,022 г/л
циклогексимид (актидион)	0,004 г/л
значение pH готового раствора (полученное определением в смеси)	5,5 ± 0,2

5.3 Среда M-Green (для подсчета дрожжей и плесеней) следующего состава:

дрожжевой экстракт	9,0 г/л
глюкоза (церелоза)	50,0 г/л
пептон	10,0 г/л
сульфат магния	2,10 г/л
фосфат калия	2,0 г/л
диастаза (амилаза)	0,05 г/л
тиамин	0,05 г/л
бромкрезоловый зеленый	0,026 г/л
значение pH готового раствора (полученное определением в смеси)	4,6 ± 0,2

5.4 Винная кислота.

5.5 Этиловый спирт (96 %-ный).

5.6 Увлажняющий реагент.

5.7 Триптоновый гель.

5.8 Дифенил.

5.9 Деминерализованная вода (или вода аналогичной чистоты).

Реактивы и питательные среды хранят в соответствии с указаниями изготовителя.

6 Оборудование

Рекомендуемое микробиологическое лабораторное оборудование, указанное ниже.

6.1 Система для мембранной фильтрации

Рекомендуется использовать одну из систем для мембранной фильтрации, указанных в 6.1.1 или 6.1.2.

6.1.1 Стерильная система для фильтрации, готовая к применению, включающая полипропиленовую воронку вместимостью не менее 100 мл, стерильную мембрану (с размером пор 0,45 мкм), стерильную чашку и вакуумный насос с трехходовым краном для отключения вакуума[2)].

6.1.2 Традиционная система для фильтрации, включающая воронку вместимостью не менее 100 мл (из нержавеющей стали, стекла или поликарбоната), которую можно стерилизовать в автоклаве

[1)] Этот продукт доступен для приобретения в коммерческой сети.

[2)] Эта система доступна для приобретения в коммерческой сети.

или сухожаровом шкафу, стерильную мембрану с размером пор 0,45 мкм, стерильную чашку Петри с фильтровальной бумагой и вакуумный насос.

6.2 Термостат, температура которого может поддерживаться на уровне (30 ± 2) °С.

6.3 Холодильник, температура в котором может поддерживаться в интервале от 2 °С до 8 °С.

6.4 Орбитальный шейкер с платформой или шейкер с имитацией движений кисти руки, или шейкер возвратно-поступательного типа, который, в зависимости от модели, может быть установлен на скорость от 140 до 160 об/мин или от 140 до 160 колебаний в минуту, или от 140 до 160 движений вперед и назад.

6.5 pH-метр с температурной компенсацией, с точностью измерения ± 0,1 при 25 °С.

6.6 Стеклянные колбы с винтовыми колпачками соответствующей вместимости, позволяющей погрузить четыре пробки в 100 мл раствора.

7 Отбор проб

Отбор проб проводят в асептических условиях в соответствии с ISO 17727.

Образцы (пробы) до проведения испытаний хранят в стерильных сосудах при температуре от 2 °С до 8 °С.

8 Условия испытаний

Подготовку материалов к испытаниям и сами испытания проводят в асептических условиях и в соответствии с требованиями ISO 7218.

9 Экстрагирование

9.1 Готовят физиологический раствор или раствор Рингера (5.1). При перемешивании добавляют увлажняющий реагент (5.6) до достижения концентрации 10 г/л, затем добавляют триптоновый гель (5.7) до получения концентрации 1 г/л. После этого с использованием винной кислоты (5.4) доводят pH раствора до значения от 3 до 3,5. Наливают в каждую колбу (6.6) примерно 90 мл полученного раствора и подвергают стерилизации.

9.2 После охлаждения в каждую колбу в асептических условиях добавляют по 10 мл этилового спирта (5.5).

9.3 В каждую колбу помещают четыре корковые пробки, следя за тем, чтобы пробки были полностью погружены в раствор. Встряхивают колбы в течение 1 ч со скоростью от 140 до 160 об/мин при температуре от 20 °С до 25 °С. Количество колб зависит от выбранной схемы отбора проб. Половину колб используют для посева на среду WLD, другую половину — для посева на среду M-Green. Для каждой питательной среды готовят дополнительную колбу для контрольного опыта.

10 Проведение испытаний

10.1 Общие рекомендации

Испытания проводят в соответствии с 10.2 с использованием стерильной фильтрационной системы и стерильных питательных сред, готовых к применению.

При использовании системы для фильтрации, которую предстоит стерилизовать, и сухих питательных сред испытание проводят по 10.3.

10.2 Экспресс-определение с использованием стерильной фильтрационной системы и готовых к применению стерильных питательных сред

10.2.1 Подготовка

Готовят фильтрационную систему (см. 6.1.1).

10.2.2 Посев на среду WLD

Подсоединяют наполненную воронку со стерильной мембраной к фильтрационной головке вакуумного насоса. В асептических условиях фильтруют экстракционный раствор, приготовленный в соответствии с разделом 9. По окончании фильтрации отключают вакуум от линии отсасывания, чтобы установить равновесие с атмосферным давлением.

В среду WLD (5.2) непосредственно перед посевом добавляют дифенил (5.8), растворенный в 10 %-ном растворе этилового спирта, до достижения концентрации дифенила 30 млн$^{-1}$. Вносят в воронку среду WLD, содержащуюся в ампуле, ненадолго подключают к вакууму для отсасывания, затем отключают вакуум. Удаляют фильтрационную установку и вставляют пробку фильтрационной системы в ее основание, чтобы не допустить реинфицирования. Убирают цилиндрическую часть воронки. Снимают крышку воронки и устанавливают ее на узел фильтр/чашка Петри.

Эту процедуру повторяют с каждой колбой.

10.2.3 Посев на среду M-Green

Подсоединяют наполненную воронку со стерильной мембраной к фильтрационной головке вакуумного насоса. В асептических условиях фильтруют экстракционный раствор, приготовленный в соответствии с разделом 9.

По окончании фильтрации отключают вакуум от линии отсасывания, чтобы установить равновесие с атмосферным давлением.

Добавляют в воронку питательную среду M-Green (5.3), содержащуюся в ампуле, ненадолго подключают к вакууму для отсасывания и затем отключают вакуум. Удаляют фильтрационную установку и вставляют пробку фильтрационной системы в ее основание, чтобы не допустить реинфицирования. Убирают цилиндрическую часть воронки. Снимают крышку воронки и устанавливают ее на узел фильтр/чашка Петри. Эту процедуру повторяют с каждой колбой. Сухую питательную среду на мембране вновь растворяют с использованием стерилизованной деминерализованной воды.

10.3 Определение с использованием системы для фильтрации, подлежащей стерилизации, и сухих питательных сред

10.3.1 Подготовка сред

Готовят и стерилизуют среды WLD (5.2) и M-Green (5.3) в соответствии с инструкциями изготовителя.

В среду WLD добавляют дифенил (5.8), растворенный в 10 %-ном растворе этилового спирта, до достижения концентрации дифенила 30 млн$^{-1}$.

Готовят чашки Петри.

10.3.2 Подготовка системы для фильтрации

Стерилизуют и готовят фильтрационную систему (см. 6.1.2)

10.3.3 Посев на среду WLD

В асептических условиях фильтруют экстракционный раствор, приготовленный в соответствии с разделом 9, используя стерильную мембрану.

Помещают мембрану на чашку Петри со средой WLD.

Данную процедуру проводят с каждой колбой.

10.3.4 Посев на среду M-Green

В асептических условиях фильтруют экстракционный раствор, приготовленный в соответствии с разделом 9, используя стерильную мембрану.

Помещают мембрану на чашку Петри со средой M-Green.

Данную процедуру проводят с каждой колбой.

11 Контрольные испытания

Готовят контрольное испытание для каждой среды.

12 Инкубация

Переворачивают чашки Петри со средами WLD и M-Green и выдерживают в термостате (6.2) при температуре (30 ± 2) °C в течение трех дней.

Наблюдают за ростом и подсчитывают колонии на каждой чашке минимум каждые 24 ч.

13 Обработка результатов

13.1 Определение числа КОЕ бактерий на корковой пробке

По окончании заданного инкубационного периода подсчитывают колонии бактерий на каждой чашке со средой WLD, каждый раз сравнивая результат с последним действительным подсчетом.

Для каждой чашки число колониеобразующих единиц (КОЕ) на корковой пробке определяют по формуле

$$\frac{N_b}{4}, \quad (1)$$

где N_b — общее число подсчитанных колоний бактерий;

4 — число испытанных корковых пробок.

За результат испытаний принимают среднеарифметическое значение результатов, полученных для каждой чашки, округленное в бóльшую сторону до ближайшего целого числа.

13.2 Определение числа КОЕ дрожжей и плесеней на корковой пробке

После окончания инкубации подсчитывают колонии дрожжей и плесеней на каждой чашке со средой M-Green, каждый раз сравнивая результат с результатом предыдущего подсчета.

Для каждой чашки число колониеобразующих единиц (КОЕ) на корковой пробке определяют по следующей формуле

$$\frac{N_{y,m}}{4}, \quad (2)$$

где $N_{y,m}$ — общее число подсчитанных колоний дрожжей и плесеней;

4 — число испытанных корковых пробок.

За результат испытания принимают среднеарифметическое значение результатов, полученных для каждой чашки, округленное в бóльшую сторону до ближайшего целого числа.

14 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать:

a) ссылку на настоящий стандарт;

b) методику отбора образцов и все подробности, необходимые для идентификации образца;

c) дату проведения испытаний и полученные результаты;

d) все подробности проведения испытаний, не указанные в настоящем стандарте, или любых выбранных операций;

e) любые факторы, которые могли повлиять на результаты испытаний.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 7218: 2007	IDT	ГОСТ ISO 7218—2015 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям»
ISO 17727:2012	IDT	ГОСТ ISO 17727—2017 «Кора пробковая. Корковые пробки для тихих вин. План выборочного контроля качества корковых пробок»
Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов: - IDT — идентичные стандарты.		

УДК 683.531.13:006.354 МКС 55.040 IDT

Ключевые слова: корковые пробки, микроорганизмы, колониеобразующие единицы (КОЕ) дрожжей, плесеней и бактерий, экстрагирование, рост в спиртовой среде, определение характеристик пробок, низкое содержание микроорганизмов

БЗ 5—2018/13

Редактор *Л.И. Нахимова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 28.03.2018. Подписано в печать 29.03.2018. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,26.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 123001 Москва, Гранатный пер., 4.

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

gost.e-ecolog.ru