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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
23454—
2016**

МОЛОКО

Методы определения ингибирующих веществ

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

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 Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия» (ФГБНУ ВНИИМС)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 22 ноября 2016 г. № 93-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	Минэкономики Республики Армения
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2016 г. № 1876-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 23454—2016 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 сентября 2017 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 23454—79

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Февраль 2019 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, 2016, 2019

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 Термины и определения 2
4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы 2
5 Отбор проб 3
6 Условия проведения испытаний 4
7 Метод определения ингибирующих веществ с использованием тест-культуры термофильного стрептококка и индикатора резазурина 4
8 Определение ингибирующих веществ с использованием стандартного диффузионного теста, содержащего в качестве тест-культуры споры Bac. stearothermophilus var. calidolactis и индикатор бромкрезолпурпур (Delvotest T) 6
9 Определение ингибирующих веществ с использованием теста, содержащего в качестве тест-культуры споры Bac. stearothermophilus var. calidolactis и индикатор бриллиантовый черный (BRT-inhibitor тест) 6
10 Требования безопасности 7
Приложение А (обязательное) Шкала оценки наличия/отсутствия ингибирующих веществ в молоке с использованием тест-культуры Streptococcus thermophilus B19 8
Приложение Б (обязательное) Шкала оценки наличия/отсутствия ингибирующих веществ в молоке с использованием тест-культуры Bacillus stearothermophilus various calidolactis и индикатора бромкрезолпурпур 9
Приложение В (обязательное) Шкала оценки наличия/отсутствия ингибирующих веществ в молоке с использованием тест-культуры Bacillus stearothermophilus various calidolactis и индикатора бриллиантовый черный 10
Библиография 11

МКС 67.100.10

Поправка к ГОСТ 23454—2016 Молоко. Методы определения ингибирующих веществ

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 7 2019 г.)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МОЛОКО

Методы определения ингибирующих веществ

Milk. Methods for determination of the inhibitors

Дата введения — 2017—09—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молоко сырое цельное и обезжиренное, термически обработанное, предварительно восстановленное из сгущенного, концентрированного или сухого молока (далее — молоко), и устанавливает методы определения ингибирующих веществ, в том числе антибиотиков, дезинфектантов на основе хлора, перекиси водорода и надуксусной кислоты; поверхностно-активных веществ; фальсифицирующих веществ, добавляемых в молоко для ограничения развития микрофлоры, в том числе перекиси водорода и формалина.

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 12.1.019—79[1)] 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 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 745—2003[2)] Фольга алюминиевая для упаковки. Технические условия

ГОСТ 1341—97 Пергамент растительный. Технические условия

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 5556—81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 18300—87[3)] Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

[2)] Заменен на ГОСТ 754—2014.

[3)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 55878—2013 «Спирт этиловый технический гидролизный ректификованный».

Издание официальное

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26809.1—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные и молочные составные, молокосодержащие продукты

ГОСТ 27752—88 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний.

ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 32901—2014 Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа

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 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины в соответствии с [1], а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **ингибирующие вещества:** Любые вещества в молоке, которые независимо от их природы тормозят или препятствуют развитию микроорганизмов.

3.2 **тест-культура:** Штамм микроорганизмов определенного вида, характеризующийся устойчивой способностью интенсивно развиваться в молоке и проявлять повышенную чувствительность к ингибирующим веществам.

3.3 **чувствительность диагностического метода:** Способность метода фиксировать по развитию тест-культуры отсутствие или наличие ингибирующего эффекта.

3.4 **препарат СКИВ:** Сухое обезжиренное молоко, гарантированно не содержащее ингибирующие вещества и предназначенное для постановки контрольной пробы при определении ингибирующих веществ в молоке.

4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Весы утвержденного типа, поверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,2 мг.

Термостат жидкостный (редуктазник), позволяющий поддерживать температуру от 25 °С до 65 °С, с отклонением от заданной температуры ± 1 °С.

Баня водяная с обогревом, позволяющая поддерживать температуру от 20 °С до 100 °С, с погрешностью ± 2 °С.

Термостат (термо-блок), позволяющий поддерживать температуру от 15 °С до 70 °С, с отклонением от заданной температуры ± 1 °С.

Стерилизатор паровой медицинский (автоклав), позволяющий поддерживать температуру не менее 132 °С.

Термостат суховоздушный с естественной или принудительной циркуляцией воздуха, с охлаждением, позволяющий поддерживать температуру от 50 °С до 200 °С.

Термометр жидкостной стеклянный (нертутный) по ГОСТ 28498, диапазоном измерения от 0 °С до 100 °С и ценой деления шкалы 1 °С.

Шкаф сушильный, обеспечивающий поддержание температуры (160 ± 5) °С.

Часы по ГОСТ 27752 или таймер.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919.

Спиртовка СЛ—1 по ГОСТ 25336.

Петля бактериологическая.

Пробки резиновые конусные.

Емкости металлические или кастрюли, используемые для растворения, расплавления, нагревания или охлаждения питательных сред и воды.

Вспомогательное оборудование для отбора проб молока: мутовка, черпак, трубка, отборник, мешалка, пробник.

Фольга алюминиевая по ГОСТ 745.

Пергамент растительный по ГОСТ 1341.

Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Пипетки 1—1(2)—1 по ГОСТ 29169.

Пипетки 1—1(2)—1(2)—1(2, 5, 10) по ГОСТ 29227.

Колбы мерные 2—50(100, 200, 500, 1000)—2 по ГОСТ 1770.

Колбы конические Кн-2—100(250)—34 ТХС по ГОСТ 25336.

Цилиндры 1(2)—50(100)—1 по ГОСТ 1770.

Пробирки П1(П2)—16(21)—150(200) ТС по ГОСТ 25336.

Ланцет.

Резазурина натриевая соль, массовая доля основного вещества не менее 85 %, ч.д.а. или ч.

Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Сухая бактериальная закваска тест-культуры Streptococcus thermophilus B19, содержащая не менее $1 \cdot 10^9$ КОЕ.

Стандартный диффузионный тест, включающий укупоренные фольгой ампулы вместимостью 1,0 $см^3$, содержащие смесь агаризованной питательной среды со спорами Bac. stearothermophilus var. calidolactis и индикатором бромкрезолпурпур.

Стандартный диффузионный тест, включающий укупоренные фольгой ампулы, содержащие смесь агаризованной питательной среды со спорами Bac. stearothermophilus var. calidolactis и индикатором бриллиантовым черным.

Препарат сухой для контроля определения ингибирующих веществ в молоке (препарат СКИВ).

Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также материалов и реактивов по качеству не хуже вышеуказанных.

5 Отбор проб

5.1 Основные понятия и общие правила отбора проб — по ГОСТ 26809.1.

5.2 Отбор проб для определения ингибирующих веществ проводят перед отбором проб для физико-химических и органолептических анализов и одновременно с пробой для проведения микробиологических анализов в соответствии с ГОСТ 32901.

Контроль ингибирующих веществ осуществляют путем анализа пробы, отобранной из транспортной или потребительской упаковки с молоком, попавшей в выборку.

Объем пробы для контроля ингибирующих веществ должен составлять не менее 100 $см^3$.

Перед отбором проб молоко необходимо тщательно перемешать.

Оборудование, используемое для отбора проб, должно быть обработано пропариванием, кипячением.

5.3 Перед вскрытием упаковок с молоком крышки фляг, цистерн, потребительских упаковок и т.д. очищают от загрязнений, промывают и протирают сухой марлей или другими неткаными материалами (салфетки и т.п.) для удаления остатков воды.

Отбор проб проводят в стерильную посуду достаточной вместимости и удобной формы (стеклянные колбы, банки и т.д.), закрывают стерильными пробками или крышками, которые закрывают стерильной бумагой и обвязывают.

5.4 Анализ сырого молока на наличие ингибирующих веществ следует проводить не раньше, чем через 4 ч после дойки.

6 Условия проведения испытаний

При выполнении испытаний в лаборатории следует соблюдать следующие условия:
- температура окружающего воздуха ..... (20 ± 5) °С;
- относительная влажность воздуха ..... от 30 % до 80 %;
- атмосферное давление ..... от 84 до 106 (от 630 до 795) кПа (мм рт. ст.).

7 Метод определения ингибирующих веществ с использованием тест-культуры термофильного стрептококка и индикатора резазурина

7.1 Сущность метода

Метод основан на диагностике развития в молоке чувствительной тест-культуры Streptococcus thermophilus B19 и восстановлении резазурина окислительно-восстановительными ферментами, выделяемыми в молоко микроорганизмами.

По изменению или неизменению окраски резазурина визуально оценивают отсутствие/наличие ингибирующих веществ в молоке:

- при отсутствии в молоке ингибирующих веществ тест-культура Streptococcus thermophilus B19 развивается и окраска резазурина меняется с серо-сиреневой на сиреневую с розовым оттенком или розовую, вплоть до белой;

- при наличии в молоке ингибирующих веществ тест-культура Streptococcus thermophilus B19 не развивается либо ее развитие задерживается, а окраска резазурина остается серо-сиреневой или сиреневой.

Чувствительность метода позволяет обнаружить в молоке массовую концентрацию пенициллина — 0,004 мг/дм^3, стрептомицина — 10 мг/дм^3, тетрациклина — 1 мг/дм^3, левомицетина — 5,0 мг/дм^3; массовую долю активного хлора — 0,06 %, перекиси водорода — 0,005 %, надуксусной кислоты — 0,005 %, сульфонола — 0,15 %, формалина — 0,004 %.

7.2 Подготовка к анализу

7.2.1 Приготовление стерильного обезжиренного молока

Обезжиренное молоко разливают по 100 см^3 в колбы вместимостью не менее 200 см^3 или по 10 см^3 в пробирки вместимостью не менее 20 см^3 и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение (10 ± 1) мин.

7.2.2 Приготовление основного раствора резазурина натриевой соли

Основной раствор резазурина натриевой соли массовой концентрации 0,0005 г/см^3 готовят следующим образом.

0,100 г резазурина натриевой соли переносят в мерную колбу вместимостью 200 см^3 и растворяют в небольшом количестве прокипяченной и охлажденной до температуры (25 ± 2) °С дистиллированной воды. Объем раствора доводят до метки прокипяченной и охлажденной до температуры (25 ± 2) °С дистиллированной водой. Смесь тщательно перемешивают.

Раствор резазурина натриевой соли хранят при температуре от 4 °С до 10 °С не более 30 сут.

7.2.3 Приготовление коллекционной тест-культуры

7.2.3.1 Для восстановления активности тест-культуры колбу со 100 см^3 обезжиренного стерилизованного молока, подготовленного по 7.2.1, подогревают до температуры (43 ± 1) °С. Порцию сухой бактериальной закваски тест-культуры Streptococcus thermophilus B19 вносят в стерилизованное молоко и тщательно перемешивают.

Культуру термостатируют при температуре (41 ± 1) °С в течение 16—18 ч до образования плотного сгустка, затем охлаждают до температуры (4 ± 2) °С и используют для приготовления коллекционной тест-культуры.

7.2.3.2 Для приготовления коллекционной тест-культуры в пробирку с 10 см^3 стерильного обезжиренного молока вносят одну петлю культуры, приготовленной по 7.2.3.1, и выдерживают в термостате при температуре (41 ± 1) °С в течение 16—18 ч.

Коллекционную культуру хранят при температуре (4 ± 2) °С и пересевают через 10—14 сут. Через 3—4 пересадки ее снова готовят из сухой тест-культуры.

Допускается использовать культуру дольше, если она не утратила своей активности и по микроскопическому препарату соответствует предъявленным требованиям: продолжительность сквашивания при пересеве — не более 16—18 ч; сгусток плотный; консистенция однородная, допускается мягкая крупитчатость или вязкая; в поле зрения микроскопа в препарате тест-культуры — диплококки одиночные или собранные в цепочки.

7.2.4 Приготовление рабочей тест-культуры

7.2.4.1 Рабочую тест-культуру готовят из коллекционной тест-культуры в пробирках или колбах в зависимости от необходимого количества или из сухой бактериальной закваски термофильного молочнокислого стрептококка, предназначенной для определения ингибирующих веществ.

7.2.4.2 При приготовлении рабочей тест-культуры из коллекционной в пробирку с 10 $см^3$ стерильного обезжиренного молока вносят одну петлю коллекционной тест-культуры, а в колбу со 100 $см^3$ стерильного обезжиренного молока вносят 0,1 $см^3$ коллекционной тест-культуры или сухой бактериальной закваски на кончике ланцета и выдерживают в термостате при температуре (41 ± 1) °С 16—18 ч до образования плотного сгустка.

Полученную рабочую тест-культуру используют для проведения анализа.

В случае необходимости рабочую тест-культуру хранят в холодильнике температурой (4 ± 2) °С и используют в течение 24 ч.

Непосредственно перед применением рабочую тест-культуру перемешивают путем интенсивного встряхивания.

7.2.5 Приготовление контрольного раствора препарата СКИВ

Для получения контрольного раствора препарата вскрывают флакон с сухим препаратом СКИВ. Во флакон вносят пипеткой 10 $см^3$ дистиллированной воды, подогретой до температуры (50 ± 10) °С, закрывают пробкой и встряхивают до полного растворения.

Контрольный раствор препарата СКИВ готовят непосредственно перед испытанием, после проведения испытаний раствор хранению не подлежит.

7.3 Проведение анализа

7.3.1 В чистые пробирки наливают по 10 $см^3$ анализируемого молока и закрывают сухими резиновыми пробками. Оставшуюся часть пробы сохраняют до конца анализа в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С.

При наличии большого количества проб анализируемого молока анализ проводят сериями. Количество пробирок с анализируемым молоком в каждой серии должно быть не более двадцати.

Проводят два параллельных определения одной пробы молока.

7.3.2 Одновременно проводят контрольный анализ. Для этого используют контрольный раствор препарата СКИВ, подготовленный по 7.2.5.

7.3.3 Пробирки с анализируемым молоком и контрольной пробой нагревают в водяной бане до температуры (87 ± 2) °С и выдерживают при указанной температуре 10 мин, затем охлаждают до температуры (46 ± 1) °С и стерильной пипеткой вносят 0,5 $см^3$ рабочей тест-культуры, приготовленной по 7.2.4.

Содержимое пробирок тщательно перемешивают трехкратным переворачиванием. Затем пробирки выдерживают в течение 75 мин при температуре (45 ± 1) °С в жидкостном термостате или водяной бане.

7.3.4 В пробирки с анализируемым молоком и контрольной пробой вносят по 1 $см^3$ основного раствора резазурина натриевой соли, подготовленной по 7.2.2, температурой (20 ± 2) °С. Содержимое пробирок перемешивают путем двукратного переворачивания.

7.3.5 Пробирки с анализируемым молоком и контрольной пробой выдерживают в редуктазнике или водяной бане при температуре (45 ± 1) °С в течение 10—15 мин.

7.4 Обработка результатов

При отсутствии в анализируемом молоке (и в контрольной пробе) ингибирующих веществ или их наличие в количестве, равном или меньшем, чем предел обнаружения, содержимое пробирок будет иметь розовый с сиреневым оттенком или розовый, или белый цвет. При наличии в молоке ингибирующих веществ содержимое пробирок будет иметь цвет от серо-сиреневого до сиреневого в соответствии с приложением А.

8 Определение ингибирующих веществ с использованием стандартного диффузионного теста, содержащего в качестве тест-культуры споры Bac. stearothermophilus var. calidolactis и индикатор бромкрезолпурпур (Delvotest T)

8.1 Сущность метода

Метод основан на изменении окраски агаровой среды со спорами Bac. stearothermophilus var. calidolactis и индикатором бромкрезолпурпур от фиолетовой до желтой при отсутствии в анализируемом молоке ингибирующих веществ и сохранении фиолетовой окраски при их наличии.

Чувствительность метода позволяет обнаружить в молоке массовую концентрацию пенициллина — 0,002 мг/дм^3, стрептомицина — 0,5 мг/дм^3, тетрациклина — 0,07 мг/дм^3, левомицетина — 3,5 мг/дм^3; массовую долю активного хлора — 0,1 %, перекиси водорода — 0,015 %, надуксусной кислоты — 0,009 %, сульфонола — 0,12 %, формалина — 0,002 %.

8.2 Проведение анализа

8.2.1 Тест-набор состоит из набора ампул вместимостью 1,0 см^3, содержащих смесь агаризованной питательной среды со спорами Bacillus stearothermophilus various calidolactis и индикатором бромкрезолпурпур.

Необходимое количество ампул маркируют и выдерживают до достижения температуры (20 ± 2) °С. Ампулы открывают, проколов фольгу с помощью любого острого предмета.

С помощью специальной пипетки, находящейся в комплекте, добавляют в ампулу 0,1 см^3 анализируемого молока. Для каждой пробы используют отдельную пипетку.

Пробирки термостатируют в термостате или водяной бане при температуре (64 ± 2) °С в течение (180 ± 5) мин.

8.2.2 Контрольное определение проводят в соответствии с 8.2.1, при этом в ампулу вносят 0,1 см^3 препарата СКИВ, предварительно приготовленного по 7.2.5.

8.3 Обработка результатов

Для оценки результатов ампулы извлекают из термостата и определяют цвет их содержимого. Изменение цвета среды на желтый цвет в соответствии с приложением Б свидетельствует об отсутствии ингибирующих веществ на уровне чувствительности метода.

Отсутствие изменения цвета среды или изменение в пределах оттенков фиолетового цвета свидетельствует о присутствии ингибирующих веществ.

Изменение цвета среды на сизый цвет свидетельствует о неопределенном результате и требует проведения повторного анализа.

9 Определение ингибирующих веществ с использованием теста, содержащего в качестве тест-культуры споры Bac. stearothermophilus var. calidolactis и индикатор бриллиантовый черный (BRT-inhibitor тест)

9.1 Сущность метода

Метод основан на изменении цвета агаризованной среды со спорами Bac. stearothermophilus var. calidolactis и индикатором бриллиантовым черным от фиолетового до желтого цвета при отсутствии в анализируемом молоке ингибирующих веществ и сохранении фиолетового цвета при их наличии.

Чувствительность метода позволяет обнаружить в молоке массовую концентрацию пенициллина — 0,003 мг/дм^3, стрептомицина — 0,6 мг/дм^3, тетрациклина — 0,2 мг/дм^3, левомицетина — 5,0 мг/дм^3; массовую долю активного хлора — 0,12 %, перекиси водорода — 0,02 %, надуксусной кислоты — 0,01 %, сульфонола — 0,12 %, формалина — 0,003 %.

9.2 Проведение анализа

9.2.1 Тест-набор состоит из набора ампул, содержащих смесь агаризованной питательной среды со спорами Bacillus stearothermophilus various calidolactis и индикатором бриллиантовым черным.

Отбирают необходимое количество ампул, маркируют и открывают фольгу для внесения пробы анализируемого молока. С помощью специальной пипетки, находящейся в комплекте, добавляют 0,1 $см^3$ анализируемого молока в ампулу. Для каждой пробы молока используют отдельную пипетку.

Пробирки помещают в термостат или водяную баню при температуре (64 ± 1) °С и выдерживают в течение (150 ± 15) мин.

9.2.2 Контрольное определение проводят в соответствии с 9.2.1, при этом в ампулу вносят 0,1 $см^3$ препарата СКИВ, приготовленного по 7.2.5.

9.3 Обработка результатов

Для оценки результатов ампулы извлекают из термостата и определяют цвет содержимого.

Изменение цвета среды в ампуле на желтый цвет в соответствии с приложением В свидетельствует об отсутствии ингибирующих веществ на уровне чувствительности метода.

Отсутствие изменения цвета среды или изменение в пределах оттенков фиолетового цвета свидетельствует о присутствии ингибирующих веществ.

Изменение цвета среды в ампуле на бурый цвет свидетельствует о неопределенном результате и требует проведения повторного анализа.

10 Требования безопасности

10.1 При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования:

- помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021;
- требования техники безопасности при работе с электроустановками — в соответствии с ГОСТ 12.1.019;
- работу со споровой тест-культурой проводят в соответствии с санитарными правилами, действующими на территории государства, принявшего стандарт.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

10.2 Требования к оператору

Выполнение измерений может проводить специалист-микробиолог, имеющий специальное образование и освоивший методы микробиологического анализа.

Приложение А
(обязательное)

Шкала оценки наличия/отсутствия ингибирующих веществ в молоке с использованием тест-культуры Streptococcus thermophilus B19

Окраска содержимого пробирок	Качественная оценка	Отсутствие/наличие ингибирующих веществ
Синяя с серым оттенком (без изменения цвета резазурина)		Наличие
Сиреневая с синим		Наличие
Сиреневая		Наличие
Розовая с сиреневым оттенком		Отсутствие (предел обнаружения)
Ярко-розовая		Отсутствие
Бледно-розовая		Отсутствие
Белая окраска		Отсутствие

Приложение Б
(обязательное)

Шкала оценки наличия/отсутствия ингибирующих веществ в молоке с использованием тест-культуры Bacillus stearothermophilus various calidolactis и индикатора бромкрезолпурпур

Окраска содержимого ампул	Качественная оценка	Отсутствие/наличие ингибирующих веществ
Ярко-фиолетовая (без изменения цвета среды)		Наличие
Фиолетовая		Наличие
Сизая с серым оттенком		Предел обнаружения
Бледно-желтая		Отсутствие
Желтая		Отсутствие

Приложение В
(обязательное)

Шкала оценки наличия/отсутствия ингибирующих веществ в молоке с использованием тест-культуры Bacillus stearothermophilus various calidolactis и индикатора бриллиантовый черный

Окраска содержимого ампул	Качественная оценка	Отсутствие/наличие ингибирующих веществ
Фиолетовая (интенсивная, насыщенная, без изменения цвета среды)		Наличие
Фиолетовая		Наличие
Бледно-фиолетовая		Наличие
Грязно-бурая		Предел обнаружения
Желтая		Отсутствие
Бледно-желтая		Отсутствие

Библиография

[1] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции», принят решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 октября 2013 г. № 67

УДК 637.127.6:006.354 МКС 67.100.10

Ключевые слова: молоко, методы анализа, чувствительность, ингибирующие вещества, антибиотики, дезинфектанты, поверхностно-активные вещества, фальсифицирующие вещества, тест-культура

Редактор *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *А.А. Ворониной*

Сдано в набор 13.02.2019. Подписано в печать 26.02.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,49.
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