МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33566— 2015

МОЛОКО И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ

Определение дрожжей и плесневых грибов

Издание официальное

**Москва
Стандартинформ
2016**

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия» (ФГБНУ «ВНИИМС») и Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ФГБНУ «ВНИМИ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 12 ноября 2015 г. № 82-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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 8 декабря 2015 г. № 2116-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33566—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2016 г.

5 ВВЕДЕН ВЗАМЕН ГОСТ 10444.12—2013 в части молока и молочной продукции

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

© Стандартинформ, 2016

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

МОЛОКО И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ

Определение дрожжей и плесневых грибов

Milk and dairy products.
Determination of yeast and mould

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молоко и молочную продукцию и устанавливает метод определения дрожжей и плесневых грибов.

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 OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 490—2006 Кислота молочная пищевая. Технические условия

ГОСТ 975—88 Глюкоза кристаллическая гидратная. Технические условия

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

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5556—81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ ISO 7218—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ 9284—75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ ISO 11133-1—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культуральных сред в лаборатории

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13805—76 Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технические условия

ГОСТ 13928—84 Молоко и сливки заготовляемые. Правила приемки, методы отбора проб и подготовка их к анализу

ГОСТ 17206—96 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 19881—74 Анализаторы потенциометрические для контроля pH молока и молочных продуктов. Общие технические условия

[1] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

Издание официальное

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

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

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

ГОСТ 26809.2—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, отбор проб и подготовка их к анализу. Часть 2. Масло из коровьего молока, спреды, сыры и сырные продукты, плавленые сыры и плавленые сырные 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 молочные продукты. Методы микробиологического анализа

ГОСТ 33567—2015 Сахар молочный. Технические условия

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 **дрожжи:** Гетерогенная группа одноклеточных эукариотических грибов, не имеющих мицелия или реже образующих псевдомицелий и существующих в виде отдельных клеток, для которых типичным способом размножения является почкование.

3.2 **плесневые грибы:** Микроскопические эукариотические многоклеточные организмы, образующие вегетативные нити — гифы без перегородок или септированные на клетки. Гифы объединяются в мицелий — «вегетативное» тело гриба. На поверхности находятся органы размножения, содержащие огромное количество спор круглой или овальной формы. Диаметр гиф — от 5 до 50 мкм. Клетки имеют четко дифференцированное ядро.

4 Отбор проб

4.1 Отбор проб — по ГОСТ 32901. Правила приемки и общие правила отбора проб — по ГОСТ 13928, ГОСТ 26809.1, ГОСТ 26809.2.

Пробы для микробиологических испытаний от продукции, попавшей в выборку, отбирают до отбора проб, предназначенных для органолептических и физико-химических анализов.

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

Отбор проб проводят с соблюдением вышеуказанных правил из точек, определенных программой производственного контроля, и в соответствии со схемами микробиологического контроля производства молочной продукции.

5 Метод определения дрожжей и плесневых грибов

5.1 Сущность метода

Метод основан на способности дрожжей и плесневых грибов, содержащихся в молоке и молочной продукции, независимо от их видовой и групповой принадлежности, при посеве продукта либо его разведений на плотную питательную среду образовывать видимые характерные колонии через 3—5 сут при температуре (24 ± 1) °С или (30 ± 1) °С.

5.2 Средства измерения, вспомогательное оборудование, материалы, посуда и реактивы

Анализаторы потенциометрические по ГОСТ 19881, типа I, с пределами допускаемого значения основной абсолютной погрешности преобразователя ± 0,02 ед. pH.

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ± 0,001 г; ± 0,01 г и ± 0,1 г.

Стерилизатор паровой медицинский (автоклав).

Баня водяная с обогревом, позволяющая поддерживать температуру от 0 °С до 100 °С, погрешностью ± 2 °С.

Термостат жидкостный, позволяющий поддерживать температуру от 15 °С до 55 °С, погрешностью ± 1 °С.

Термостат суховоздушный с естественной или принудительной циркуляцией воздуха или без нее, с охлаждением.

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

Часы по ГОСТ 27752 или таймер.

Лупа по ГОСТ 25706, с кратностью увеличения от 4 до 10.

Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

Бумага индикаторная универсальная.

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—150 ТС по ГОСТ 25336.

Пробирки П1, П2—21—200 ТС по ГОСТ 25336.

Чашки Петри ЧБН—1—100 или ЧБН—2 по ГОСТ 25336.

Стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284.

Агар микробиологический по ГОСТ 17206.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, растворы массовой концентрации 5 г/дм^3, массовой долей от 20 % до 30 %, молярной концентрации 0,1 моль/дм^3.

Кислота молочная по ГОСТ 490, раствор объемной долей 20 %.

Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей по ГОСТ 13805.

Глюкоза кристаллическая гидратная по ГОСТ 975.

Гидролизат молочных белков сухой «Лактопептон», массовой долей общего азота не менее 10,0 %, массовой долей аминного азота не менее 4,0 % и массовой долей лактозы не более 7,0 %.

Сыворотка молочная сухая.

Лактоза или сахар молочный рафинированный мелкокристаллический по ГОСТ 33567.

Ингибиторозащищенные пенициллины (ампициллин натрия, ампиокс натрия, амоксициллин), массовой долей основного вещества не менее 98 %.

Неомицина сульфат, массовой долей основного вещества не менее 98 %.

Тетрациклины (тетрациклин гидрохлорид, окситетрациклин гидрохлорид), массовой долей основного вещества не менее 98 %.

Хлорамфеникол (левомицетин сукцинат), массовой долей основного вещества не менее 98 %.

Фторхинолон (левофлоксацин), массовой долей основного вещества не менее 98 %.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Среда Сабуро, плотная питательная среда основного характера, предназначенная, при добавлении антибиотиков, для выявления и определения дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочной продукции, а без добавления антибиотиков — для контроля консервов на промышленную стерильность.

Среда агаровая для определения дрожжей и плесневых грибов, плотная элективная питательная среда, предназначенная для выявления и определения дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочной продукции.

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

Общие положения по обеспечению качества приготовления питательных сред в соответствии с ГОСТ ISO 11133-1.

5.3 Подготовка к анализу

5.3.1 Приготовление питательной среды Сабуро

70,0 г сухой среды, состоящей из 40,0 г глюкозы, 12,0 г пептона или сухого гидролизата молочных белков, 18,0 г микробиологического агара, вносят в 1 $дм^3$ дистиллированной воды и оставляют на 30 мин для набухания. Среду при помешивании нагревают до полного расплавления агара, не допуская пригорания. В полученной среде проверяют активную кислотность и, при необходимости, корректируют ее раствором гидроокиси натрия массовой долей от 20 % до 30 % или раствором молочной кислоты объемной долей 20 % до значения активной кислотности (5,8 ± 0,1) ед. pH, разливают в колбы и стерилизуют при температуре 112 °С и давлении 0,5 атм в течение 30 мин или при температуре (121 ± 1) °С в течение 15 мин.

5.3.2 Приготовление агаровой среды для определения дрожжей и плесневых грибов

60,0 г сухой агаровой среды для определения дрожжей и плесневых грибов, состоящей из 18,0 г сухой осветленной молочной сыворотки, 18,0 г лактозы и 24,0 г микробиологического агара, вносят в 1 $дм^3$ дистиллированной воды, нагревают до полного растворения, при наличии осадка фильтруют. В полученной среде проверяют активную кислотность и, при необходимости, корректируют ее раствором гидроокиси натрия массовой долей от 20 % до 30 % или раствором молочной кислоты объемной долей 20 % до значения активной кислотности 4,6-4,7 ед. pH, разливают в пробирки или колбы и стерилизуют 15 мин при температуре 121 °С.

5.3.3 Приготовление растворов антибиотиков

5.3.3.1 Для повышения селективности питательных сред при выявлении и определении дрожжей и плесневых грибов используются антибиотики, подавляющие развитие бактерий при посеве молочных продуктов, содержащих смешанную микрофлору.

При выборе антибиотиков исходят из следующих положений:

- антибиотик должен обладать максимально широким спектром действия относительно всех групп бактерий и не оказывать влияния на развитие дрожжей и плесневых грибов в используемых концентрациях;
- быть полностью растворимым в воде;
- по возможности обладать термо- и кислотоустойчивостью;
- быть доступным для приобретения в аптечной сети.

5.3.3.2 Приготовление растворов антибиотиков группы ингибиторозащищенных пенициллинов

Во флакон с ампициллином натрия или ампиоксом натрия, содержащим 0,5 г препарата, добавляют от 2,0 до 5,0 $см^3$ стерильной дистиллированной воды, тщательно перемешивают для растворения. Содержимое флакона переносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят до метки стерильной дистиллированной водой температурой от 35 °С до 40 °С.

При использовании препарата амоксициллина содержимое капсулы 0,5 г вносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, добавляют от 10 до 20 $см^3$ стерильной дистиллированной воды температурой от 35 °С до 40 °С, перемешивают до растворения, затем доливают стерильной дистиллированной водой до метки.

Получают растворы массовой концентрации 5 мг/$см^3$ ампициллина натрия, ампиокса натрия или амоксициллина. При использовании ампициллина натрия, ампиокса натрия или амоксициллина с другим содержанием основного вещества делают соответствующий пересчет.

5.3.3.3 Приготовление растворов антибиотиков группы левомицетинов

Во флакон с сукцинатом левомицетина, содержащим 0,5 г препарата, добавляют от 2,0 до 5,0 $см^3$ стерильной дистиллированной воды, тщательно перемешивают для растворения. Содержимое флакона переносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят до метки стерильной дистиллированной водой температурой от 35 °С до 40 °С.

Получают раствор сукцината левомицетина массовой концентрации 5 мг/$см^3$ препарата. При использовании сукцината левомицетина с другим содержанием основного вещества делают соответствующий пересчет.

5.3.3.4 Приготовление растворов антибиотиков группы фторхинолонов

Флакон со 100 $см^3$ раствора левофлоксацина для инфузий массовой концентрации 5 мг/$см^3$ открывают перед непосредственным использованием.

5.3.3.5 При использовании сульфата неомицина содержимое флакона в количестве 0,5 г вносят в стерильную мерную колбу вместимостью 50 $см^3$, добавляют от 10 до 20 $см^3$ стерильной дистиллированной воды температурой от 35 °С до 40 °С, перемешивают до растворения, затем доливают стерильной дистиллированной водой до метки.

Массовая концентрация сульфата неомицина — 10 мг/$см^3$. При использовании сульфата неомицина с другим содержанием основного вещества делают соответствующий пересчет.

5.3.3.6 Приготовление растворов антибиотиков группы тетрациклинов

Во флакон с гидрохлоридом тетрациклина или гидрохлоридом окситетрациклина, содержащим 1,0 г препарата, добавляют от 2,0 до 5,0 $см^3$ стерильной дистиллированной воды, тщательно перемешивают для растворения. Содержимое флакона переносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят до метки стерильной дистиллированной водой температурой от 35 °С до 40 °С.

Получают растворы гидрохлорида тетрациклина или гидрохлорида окситетрациклина массовой концентрации 10 $мг/см^3$ препаратов. При использовании гидрохлорида тетрациклина или гидрохлорида окситетрациклина с другим содержанием основного вещества делают соответствующий пересчет.

5.3.4 Использование растворов антибиотиков

5.3.4.1 Растворы антибиотиков заданной массовой концентрации готовят непосредственно перед использованием.

Растворы антибиотиков добавляют к питательным средам, подготовленным по 5.3.1 и 5.3.2, как до стерилизации, так и к расплавленным и охлажденным до температуры (46 ± 1) °С питательным средам после их стерилизации.

Раствор антибиотика окситетрациклина следует вносить только после стерилизации питательных сред.

Раствор антибиотика левомицетина следует вносить только перед стерилизацией питательных сред.

5.3.4.2 Определение дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочной продукции на среде Сабуро проводят с обязательным использованием антибиотиков.

5.3.4.3 Определение дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочной продукции на агаровой среде для определения дрожжей и плесневых грибов проводят с использованием антибиотиков.

Допускается определение дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочной продукции на агаровой среде для определения дрожжей и плесневых грибов без использования антибиотиков. При этом предусматривается обязательная визуальная оценка выросших на чашке колоний и, в случае сомнения, микроскопирование.

Растворы антибиотиков добавляют к питательным средам согласно таблице 1.

Т а б л и ц а 1 — Перечень антибиотических препаратов, рекомендуемая доза рабочего раствора, объем ее внесения в питательную среду и конечная концентрация антибиотика в среде

Антибиотики	Рекомендуемая доза рабочего раствора антибиотика, $мг/см^3$	Объем рабочего раствора антибиотика, добавляемый к среде, $см^3$	Конечная концентрация антибиотика в среде, $мг/см^3$
Группа ингибиторозащищенных пенициллинов: - ампициллин натрия; - ампиокс натрия; - амоксицилин	5	20/980	100/1000
Левомицетин сукцинат Левофлоксацин			
Неомицин сульфат	10		200/1000
Тетрациклин гидрохлорид Окситетрациклин гидрохлорид	10	50/950	500/1000

5.4 Проведение анализа

5.4.1 Непосредственно перед применением среду Сабуро расплавляют, помещая посуду со средой в водяную баню, и вносят растворы антибиотиков согласно таблице 1.

Непосредственно перед применением агаровую среду для определения дрожжей и плесневых грибов расплавляют, помещая посуду со средой в водяную баню, и, при необходимости, для повышения селективности среды вносят растворы антибиотиков согласно таблице 1.

5.4.2 Для определения дрожжей и плесневых грибов в молочной продукции необходимо выбирать разведения согласно положениям таблицы 2.

Таблица 2 — Засеваемые разведения для определения содержания дрожжей и плесневых грибов в молочной продукции

Наименование продукта	Количество дрожжей (Д) и плесневых грибов (П), КОЕ/см^3 (г), не более	Засеваемые разведения
Продукты кисломолочные, продукты на их основе со сроком годности более 72 ч	Д — 50 П — 50	0, I
Сметана, продукты на ее основе, в том числе с компонентами со сроком годности более 72 ч	Д — 50 П — 50	I
Термически обработанные сквашенные молочные и молочные составные продукты	Д — 50 П — 50	I
Творог без компонентов (кроме произведенного с использованием ультрафильтрации, сепарирования, зерненного творога): - со сроком годности более 72 ч - замороженный	 Д — 100 П — 50 Д — 100 П — 50	 I I
Творог, произведенный с использованием ультрафильтрации, сепарирования со сроком годности более 72 ч	Д — 50 П — 50	I
Творог зерненый	Д — 100 П — 50	I
Творог с компонентами, творожная масса, сырки творожные: - со сроком годности более 72 ч - замороженные	 Д — 100 П — 50 Д — 100 П — 50	 I I
Творожные продукты: - со сроком годности более 72 ч - замороженные	 Д — 100 П — 50 Д — 100 П — 50	 I I
Термически обработанные творожные продукты, в том числе с компонентами	50 в сумме	I
Альбумин молочный, продукты на его основе, кроме вырабатываемых путем сквашивания	Д — 100 П — 50	I
Напитки сухие молочные	П-50	I
Сыворотка молочная сухая	Д — 50 П — 100	I
Продукты кисломолочные сухие	Д — 50 П — 100	I
Пахта, заменитель цельного молока (сухие)	Д — 50 П — 100	I
Белок молочный, казеины пищевые	Д — 10 П — 50	I
Сахар молочный рафинированный	Д — 50 П — 100	I
Сахар молочный пищевой (лактоза пищевая)	Д — 50 П — 100	I
Концентрат лактулозы	Д — 50 П — 100	I
Сыры и сырные продукты плавленые: - без компонентов - с компонентами - копченые	 Д — 50 П — 50 Д — 100 П — 100 Д — 100 П — 100	 I I I

Окончание таблицы 2

Наименование продукта	Количество дрожжей (Д) и плесневых грибов (П), КОЕ/см^3 (г), не более	Засеваемые разведения
Масло из коровьего молока: сливочное (сладко-сливочное, кисло-сливочное, соленое, несоленое): - без компонентов - с компонентами	 100 в сумме Д — 100 П — 100	 0, I 0, I
Масло топленое	П — 200	0, I
Масло сухое	100 в сумме	I
Молочный жир	П — 200	0, I
Паста масляная	Д — 100 П — 100	0, I
Сливочно-растительный спред	Д — 100 П — 100	0, I
Сливочно-растительная топленая смесь	П — 200	0, I
Закваски для кефира на кефирных грибках	Д — $1 \cdot 10^4$ П — 5	III, IV 0
Закваски для кефирного продукта симбиотические (жидкие)	Д — 1·104 П — 5	III, IV 0
Закваски из чистых культур: - жидкие, в том числе замороженные; - сухие	 5 в сумме 5 в сумме	 0 I
Айран, кефир	Д — $1 \cdot 10^4$	III, IV
Кумыс	Д — $1 \cdot 10^5$	IV, V

Посевы продукта или соответствующих его разведений проводят на чашки Петри, проводят два параллельных определения.

На дно стерильной чашки Петри пипеткой вносят 1 см^3 продукта или его разведения и стерильно заливают 15—20 см^3 питательной среды Сабуро по 5.3.1 или агаровой средой для определения дрожжей и плесневых грибов, приготовленной по 5.3.2.

Чашки Петри с посевами ставят для застывания на горизонтальную поверхность. Затем чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в термостат температурой (24 ± 1) °С на 5 сут или при температуре (30 ± 1) °С на 3—5 сут.

5.5 Обработка результатов

5.5.1 Подсчет дрожжей и плесневых грибов

Каждую чашку помещают вверх дном и проводят, используя лупу, подсчет количества выросших колоний, считая раздельно колонии дрожжей и плесневых грибов. Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки.

При посеве продукта или его разведения на агаровую среду для определения дрожжей и плесневых грибов без антибиотиков на чашке могут вырасти мелкие пылевидные колонии бактерий или мелкие точечные колонии споровых аэробных бактерий. Крайне мелкие колонии бактерий, независимо от их видовой принадлежности, визуально отличаются от крупных или среднего размера колоний дрожжей и плесневых грибов.

На плотных питательных средах дрожжи образуют поверхностные, крупные, выпуклые, блестящие, серовато-белые либо окрашенные (оттенки желтого и красного цвета) колонии сметанообразной консистенции с гладкой поверхностью и ровным краем или глубинные, среднего размера колонии в виде звездочек и лодочек.

Плесневые грибы образуют крупные, поверхностные колонии, покрытые пушистым мицелием разной окраски (белой, желтой, розовой, зеленой, черной и т. д).

Подсчету подлежат только колонии, характерные для дрожжей и плесневых грибов. Картина роста дрожжей и плесневых грибов представлена в приложении А.

При подсчете дрожжей и плесневых грибов для подтверждения полученных результатов проводят микроскопирование выбранных колоний в соответствии с ГОСТ 32901.

Картина микропрепаратов дрожжей и плесневых грибов представлена в приложении Б.

Клетки дрожжей имеют яйцевидную, округлую или продолговатую форму, размерами (1,5—10,0) × (2,5—30) мкм.

В микропрепаратах плесневые грибы видны в виде гифов размером от 5,0 до 50,0 мкм, либо гифов, несущих плодовые тела, — споры круглой, овальной или продолговатой формы.

Подсчету подлежат чашки с количеством выросших колоний дрожжей от 5 до 150 и плесневых грибов от 5 до 50.

5.5.2 Расчет количества дрожжей и плесневых грибов

Количество дрожжей и плесневых грибов *N*, КОЕ/г ($см^3$) продукта, вычисляют по формуле

$$N = \frac{c}{V \cdot d}, \quad (1)$$

где *c* — количество колоний, подсчитанных на чашке, КОЕ;

V — объем посевного материала, $см^3$;

d — выбранное разведение (коэффициент разбавления).

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов определений в соответствии с ГОСТ 32901 или средневзвешенное значение результатов определений в соответствии с ГОСТ ISO 7218, полученное по всем чашкам. При расчете средневзвешенного значения следует выполнять посев в двукратной повторности.

Чашки, на которых выявлено менее пяти колоний дрожжей и плесневых грибов, принимают во внимание для подтверждения наличия роста данных групп микроорганизмов в продукте или соответствующем его разведении. Результат выражают в записи: менее $5 \cdot 10^d$ КОЕ/г($см^3$), где *d* — число десятикратных разведений.

6 Требования безопасности

При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования:

- помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021;

- требования безопасности при работе в микробиологической лаборатории с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) в соответствии с положениями нормативного документа, действующего на территории государства, принявшего соответствующий стандарт;

- требования техники безопасности при работе с электроустановками в соответствии с ГОСТ 12.1.019.

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.

Приложение А
(обязательное)

Картина роста дрожжей и плесневых грибов

А.1 Картина роста дрожжей и плесневых грибов приведена на рисунках А.1—А.4.

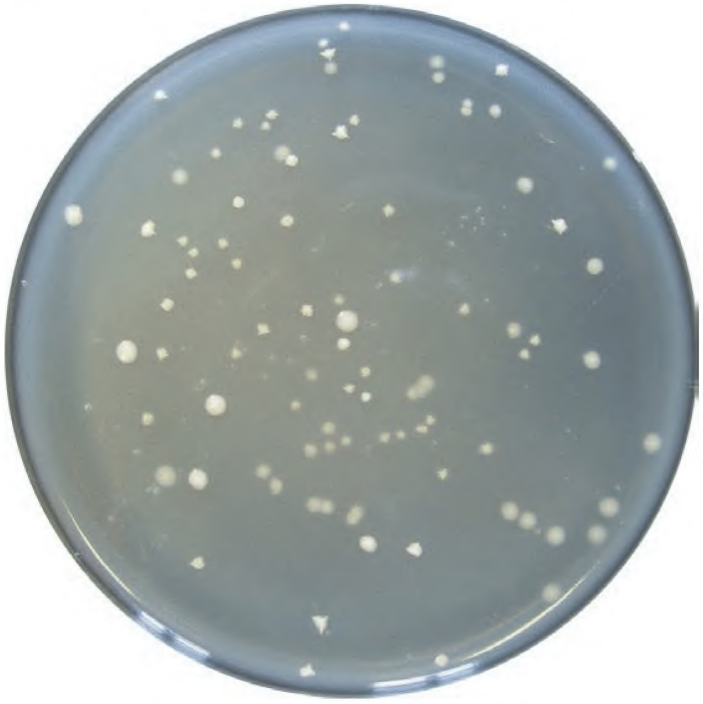

Рисунок А.1 — Рост дрожжей на агаровой среде для определения дрожжей и плесневых грибов

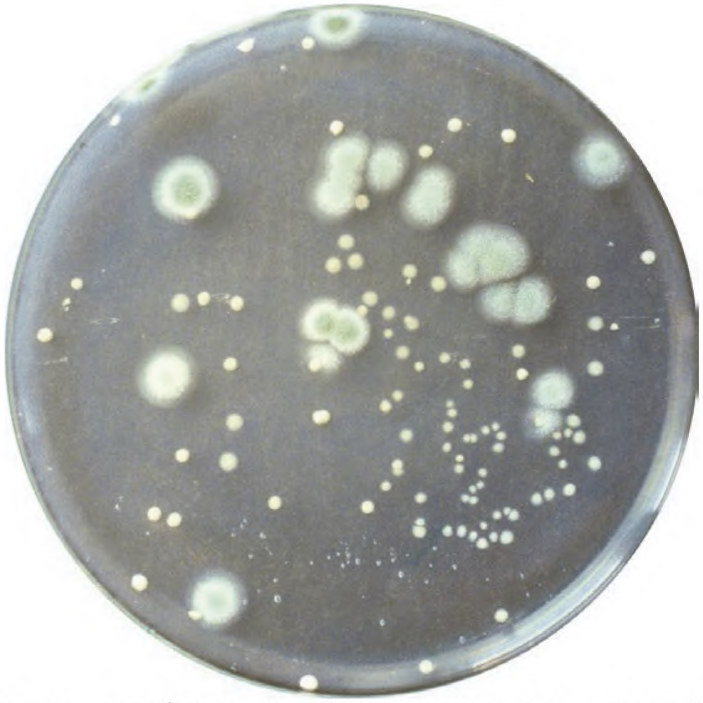

Рисунок А.2 — Рост плесневых грибов на агаровой среде для определения дрожжей и плесневых грибов

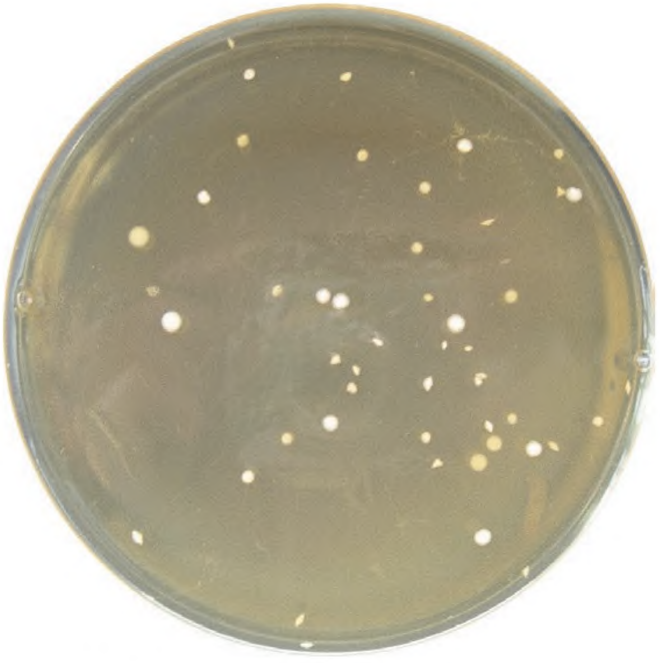

Рисунок А.3 — Рост дрожжей на среде Сабуро

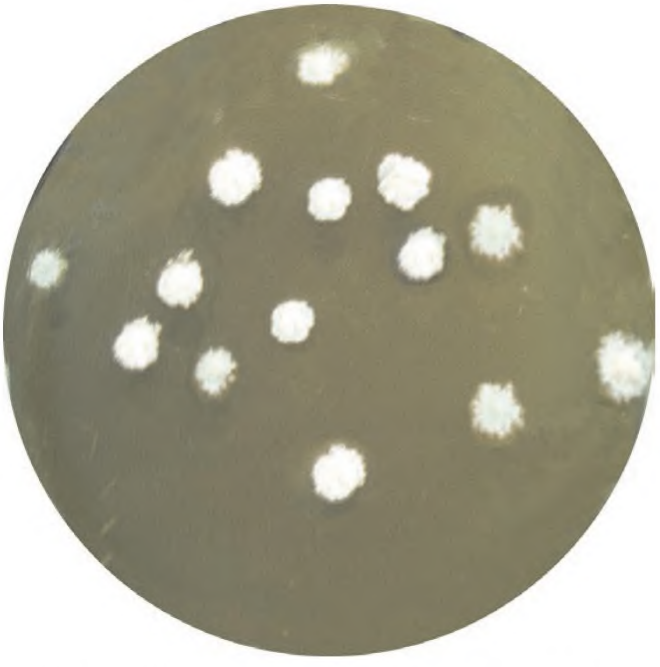

Рисунок А.4 — Рост плесневых грибов на среде Сабуро

Приложение Б
(обязательное)

Картина микропрепаратов дрожжей и плесневых грибов

Б.1 Картина микропрепаратов дрожжей и плесневых грибов приведена на рисунках Б.1—Б.4.

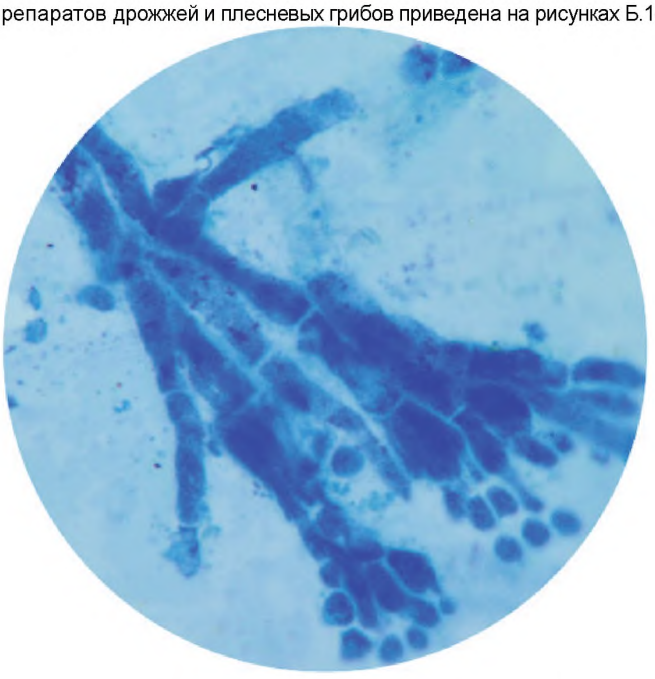

Рисунок Б.1 — Микропрепарат *Penicillium roqueforti*

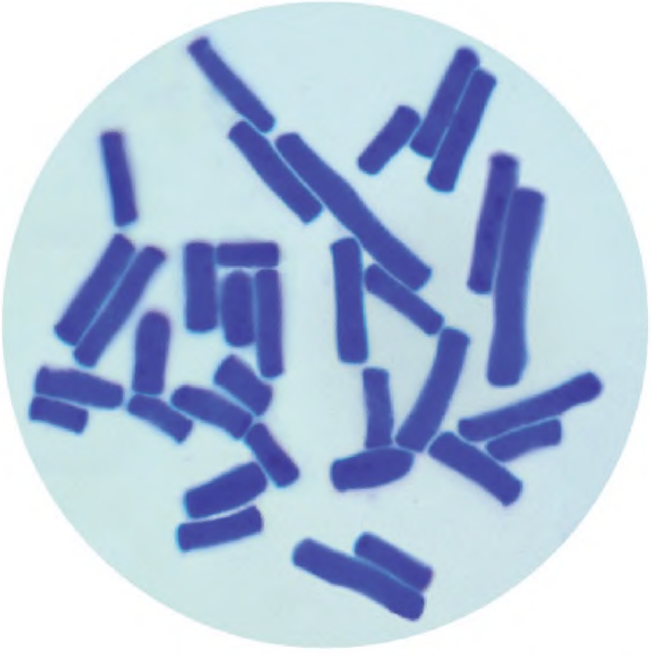

Рисунок Б.2 — Микропрепарат Geotrichum candidum

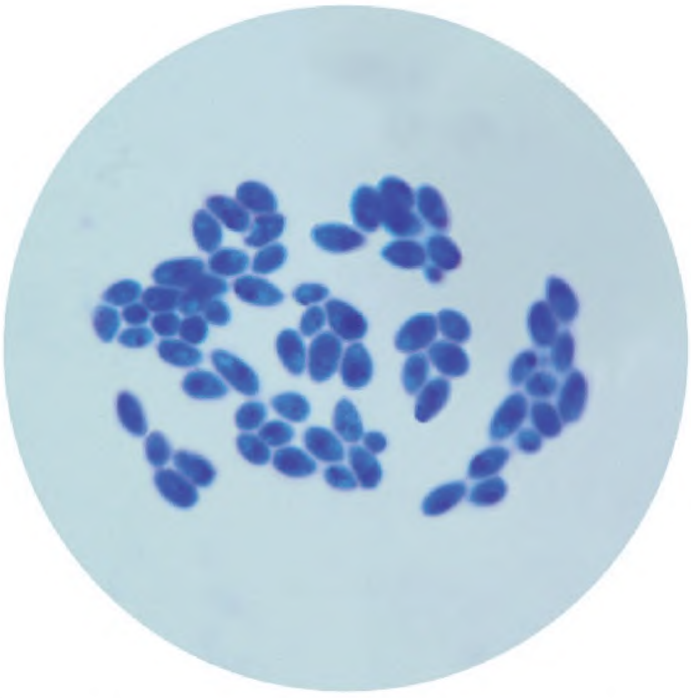

Рисунок Б.3 — Микропрепарат культуры дрожжей, выделенных из рассола, использовавшегося для посолки сыра



Рисунок Б.4 — Микропрепарат культуры дрожжей, выделенных из сырого молока

Библиография

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

УДК 576.8:006.354 МКС 67.100.10

Ключевые слова: молоко, продукция молочная, методы анализа, дрожжи, плесневые грибы, питательная среда Сабуро, питательная агаровая среда для определения дрожжей и плесневых грибов, антибиотики, микроскопирование

Редактор *М.Е. Никулина*

Корректор *П.М. Смирнов*

Компьютерная верстка *Е.К. Кузиной*

Подписано в печать 08.02.2016. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 1,86. Тираж 50 экз. Зак. 210.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

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

gost.e-ecolog.ru