МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
33536—
2015**

ИЗДЕЛИЯ КОНДИТЕРСКИЕ

Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

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 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности» (ФГБНУ «ВНИИКП»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 29 сентября 2015 г. № 80-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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 октября 2015 г. № 1521-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33536—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2017 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Октябрь 2019 г.

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»

© Стандартинформ, оформление, 2018, 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 Условия проведения анализа 2
4 Требования безопасности 2
5 Требования к квалификации оператора 2
6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и материалы, питательные среды 2
7 Сущность метода определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов 3
8 Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов 3
9 Обработка результатов 4

Поправка к ГОСТ 33536—2015 Изделия кондитерские. Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

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

(ИУС № 4 2020 г.)

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

ИЗДЕЛИЯ КОНДИТЕРСКИЕ

Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Confectionery. Method for quantity determination of mesophilic aerobic and facultative-anaerobic microorganisms

Дата введения — 2017—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на кондитерские изделия и кондитерские полуфабрикаты (далее — продукт) и устанавливает метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) — бактерий, дрожжей и плесневых грибов методом глубинного посева в агаризованные питательные среды с использованием специальных приемов снижения ползучего роста микроорганизмов.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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

ГОСТ 12.1.018 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

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

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

ГОСТ 5556 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 5962 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

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

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

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

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

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

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

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

ГОСТ 27543 Изделия кондитерские. Аппаратура, материалы, реактивы и питательные среды для микробиологических анализов

Издание официальное

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

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

ГОСТ 32751 Изделия кондитерские. Методы отбора проб для микробиологических анализов

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru о указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Условия проведения анализа

При подготовке и проведении анализа должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха .....от 18 °С до 27 °С.

4 Требования безопасности

При выполнении анализа необходимо соблюдать требования безопасности при работе с микроорганизмами III—IV групп патогенности, с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.018, электробезопасности по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технических документах на применяемые средства измерений и вспомогательное оборудование.

5 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений и обработке результатов допускается специалист, имеющий опыт работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности, освоивший методы и прошедший инструктаж по технике безопасности при работе с вредными веществами и пожарной безопасности.

6 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и материалы, питательные среды

6.1 Для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) применяют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, посуду и материалы:

- весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой погрешности не более ± 0,001 г;
- часы по ГОСТ 27752;
- плитка электрическая закрытого типа по ГОСТ 14919;
- термостат по ГОСТ ISO 7218;
- спиртовка СЛ-1 по ГОСТ 25336;
- пипетки 2—2—2—(20;50) по ГОСТ 29227;
- чашки Петри бактериологические по ГОСТ 25336;
- лупа по ГОСТ 25706;
- вата медицинская по ГОСТ 5556;
- спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья по ГОСТ 5962.

6.2 Допускается применение других средств измерений, посуды с метрологическими характеристиками и вспомогательного оборудования с техническими характеристиками, а также материалов по качеству не ниже указанных.

6.3 Для проведения анализа применяют растворы, реактивы и питательные среды по ГОСТ 10444.1, ГОСТ 27543.

Допускается использование других готовых и сухих дегидратированных, питательных сред, предназначенных для выявления и определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

6.4 Питательные среды приготавливают и стерилизуют в соответствии с ГОСТ ISO 11133.

7 Сущность метода определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Метод основан на высеве в агаризованную питательную среду определенного количества продукта или его разведения, аэробном культивировании посевов при температуре (30 ± 1) °С в течение (72 ± 3) ч, подсчете всех выросших видимых колоний и определении количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 г продукта.

8 Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

8.1 Отбор и подготовка проб по ГОСТ 32751, ГОСТ 26669.

8.2 Из анализируемой пробы продукта готовят исходное и ряд десятикратных разведений по ГОСТ 26669 так, чтобы можно было определить предполагаемое количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 г анализируемого продукта.

8.3 Из каждого последовательного разведения суспензию анализируемой пробы по 1 $см^3$ высеивают в чашку Петри, используя одну чашку на каждое разведение. В каждую чашку Петри с посевным материалом не позднее чем через 15 мин добавляют по (18 ± 2) $см^3$ одной из агаризованных расплавленных и охлажденных до температуры (45 ± 1) °С питательных сред по 6.3. Для переноса материала из каждого разведения используют отдельную стерильную пипетку, кроме случаев, когда работу ведут от самого большого разведения к самому малому. Чашка Петри должна иметь маркировку с указанием номера пробы, разведения, даты и другой необходимой информации.

8.4 Среду немедленно равномерно перемешивают с посевным материалом круговыми движениями чашки так, чтобы среда не вытекла из чашки и не загрязняла крышку. Закрытые чашки Петри с посевами расставляют на горизонтальной поверхности до полного застывания питательной среды.

8.5 Для предотвращения роста микроорганизмов, образующих сплошной газон на поверхности питательной среды — ползучий рост, применяют специальные мероприятия по 8.5.1, ограничивающие рост таких микроорганизмов.

8.5.1 На поверхность застывшей питательной среды с посевным материалом наливают 3—5 $см^3$ расплавленного и охлажденного до (45 ± 1) °С голодного (водного) агара по ГОСТ 27543 или агара, идентичного питательной среде, которая используется для испытаний.

8.5.2 Поверхность чашки Петри с посевным материалом и застывшей питательной средой подсушивают в боксе в течение 5—15 мин до полного высыхания поверхности питательной среды.

8.6 После застывания среды чашки с посевами переворачивают вверх дном и культивируют в термостате в аэробных условиях при температуре (30 ± 1) °С в течение 72 ч.

8.7 Учет колоний ведут каждые 24 ч, фиксируя предварительный результат по каждому посеву с последующим окончательным учетом через 72 ч.

8.8 После культивирования посевов подсчитывают количество колоний, выросших на чашках Петри. При подсчете количества микроорганизмов учитывают все выросшие колонии. Подсчет проводят невооруженным глазом или с помощью лупы. Для подсчета отбирают чашки Петри, на которых выросло от 10 до 300 колоний.

8.9 Если подсчет колоний затруднен наличием «сливных колоний», образованных микроорганизмами, имеющими ползучий рост, то учет колоний ведут в зависимости от части пространства чашек Петри, занятого такими колониями. Если ползучий рост наблюдается менее чем на четверти чашки, то колонии подсчитывают на другой части чашки и рассчитывают по их количеству общее количество колоний в чашке. Посредством интерполяции выводится теоретическое число, которое должно соответствовать числу микроорганизмов на всей чашке.

Пример — 1/5 чашки занята колониями, имеющими ползучий рост. На остальной части чашки (4/5) содержится 19 колоний. Теоретическое число колоний на чашке 19 : 4/5 = 23,75. Количество микроорганизмов в пробе рассчитывают в соответствии с разделом 9.

Если ползучий рост микроорганизмов отмечается более чем на одной четверти чашки Петри, то подсчет на такой чашке не проводится. Колонии микроорганизмов, образующих ползучий рост, но выросших в форме цепочек, учитывают как одну колонию.

9 Обработка результатов

9.1 Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

9.2 Результаты подсчета количества колоний по 8.8 пересчитывают и записывают на 1 г продукта или на 1 см^3 продукта.

9.3 Метод расчета: общий случай (от 10 до 300 колоний на чашке)

Для получения достоверного результата при подсчете колоний необходимо, чтобы хотя бы в одной чашке содержалось не менее 10 колоний.

Рассчитывают число микроорганизмов N, присутствующих в пробе, как средневзвешенное значение из двух подсчетов последовательных разведений по формуле

$$N = \frac{\sum C}{V \cdot 1{,}1\mathrm{d}}, \qquad (1)$$

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

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

d — коэффициент разбавления, соответствующий первому выбранному разведению;

1,1 — статистический коэффициент.

Результат вычисления округляют до двух значащих цифр. Если третья цифра меньше пяти, предшествующую цифру не изменяют, если третья цифра больше или равна пяти, увеличивают предшествующую цифру на единицу.

Результат выражают числом от 1,0 до 9,9, умноженным на 10 в соответствующей степени, или целым числом, состоящим из двух значащих цифр.

За результат принимают количество микроорганизмов N на грамм продукта или кубический сантиметр (для жидких продуктов).

Пример — Подсчет дал следующие результаты:
- в первом выбранном разведении (10^{-2}) 210 колоний;
- во втором выбранном разведении (10^{-3}) 18 колоний.

$$N = \frac{210 + 18}{1 \cdot 1{,}1 \cdot 10^{-2}} = \frac{228}{0{,}011} = 20727.$$

Выполнив округление результатов в соответствии с вышеописанным, получаем число микроорганизмов, равное 21 000 или $2{,}1 \cdot 10^4$ на грамм или на кубический сантиметр продукта.

9.4 Метод расчета: малые количества

Метод применяется, если одна чашка (анализируемой пробы, или исходной суспензии, или первого разведения) содержит менее десяти колоний.

Число микроорганизмов от десяти до значения верхнего предела каждого метода находится в диапазоне оптимальной точности. Однако точность быстро уменьшается по мере уменьшения числа колоний менее десяти. В зависимости от цели анализа нижний предел можно определить в соответствии с представленным ниже для количеств менее десяти. Если предел приемлемой относительной точности 50 % (которая считается разумной в микробиологии), то нижний предел определения будет равен 4.

Таким образом, результаты, основанные на количестве менее четырех, следует оценивать как простое выявление присутствия микроорганизмов.

То есть, если в чашке содержится менее десяти колоний, но не менее четырех, результат вычисляют по методу для общего случая (см. 9.3) и принимают за результат вычисленное количество микроорганизмов на грамм продукта или на кубический сантиметр (для жидких продуктов).

Если общее число составит от одного до трех, точность результата будет слишком низкой, и результат необходимо записать в следующей форме: «Микроорганизмы присутствуют в количестве менее чем ($4 \cdot d$) на грамм или кубический сантиметр».

9.5 Чашка (анализируемый образец, или исходная суспензия, или первое разведение) не содержит колоний.

Если чашка с анализируемой пробой или исходной суспензией не содержит колоний, результат записывают в следующей форме:

«Менее 1/d микроорганизмов на грамм или кубический сантиметр»,

где d — коэффициент разбавления исходной суспензии или первого засеянного или отобранного разведения ($d = 10^0 = 1$, если отбирается непосредственно посеянная анализируемая проба 1 г или 1 $см^3$ продукта).

9.6 Особые случаи

Метод вычисления результатов в особых случаях в соответствии с ГОСТ ISO 7218.

УДК 579.67:006.354

МКС 07.100.30
67.060
67.140.30
67.180.10
67.190

Ключевые слова: изделия кондитерские, микробиологический анализ, метод определения, количество микроорганизмов, мезофильные аэробные микроорганизмы, факультативно-анаэробные микроорганизмы

Редактор *И.Е. Черепкова*
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *А.В. Софейчук*

Сдано в набор 22.10.2019. Подписано в печать 09.12.2019. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,74.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Создано в единичном исполнении во 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