МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
32901—
2014**

МОЛОКО И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ

Методы микробиологического анализа

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

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 ПОДГОТОВЛЕН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом маслоделия и сыроделия Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии) и Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 46-П от 05 декабря 2014 г.)

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
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 декабря 2014 г. № 1953-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32901—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 01 января 2016 г.

5 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 декабря 2014 г. № 1953-ст отменен ГОСТ Р 53359—2009 с 01 января 2016 г.

Стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 53359—2009

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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, 2015

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

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

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 5.11. Второй абзац	стерильным стерильным	стерильным
Подпункт 6.2.4.1. Третий абзац	значение pH (7,4 ± 0,2).	значение активной кислотности (7,4 ± 0,4) ед. pH.
Подпункт 6.2.15. Второй абзац	Хранят при температуре от 4 °С до 10 °С в течение 2 сут.	Срок хранения раствора при температуре от 4 °С до 10 °С —не более 2 сут.
Пункт 8.1.3. Последний абзац	в соответствии с приложением А.	приведена в приложении А.
Подраздел 8.6. Заголовок	внутризаводского	внутрипроизводственного
Библиографические данные	ОКС 67.100.10	МКС 67.100.01

(ИУС № 11 2015 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

МОЛОКО И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ

Методы микробиологического анализа

Milk and milk products. Methods of microbiological analysis

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молоко и молочную продукцию и устанавливает методы микробиологического анализа.

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 12.1.005–88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007–76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019–79 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 OIMLR 76-1–2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 83–79 Реактивы. Натрий углекислый. Технические условия

ГОСТ 490–2006 Кислота молочная пищевая. Технические условия

ГОСТ 745–2003 Фольга алюминиевая для упаковки. Технические условия

ГОСТ 1341–97 Пергамент растительный. Технические условия

ГОСТ 1770–74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2156–76 Натрий двууглекислый. Технические условия

ГОСТ 2493–75 Реактивы. Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный. Технические условия

ГОСТ 3118–77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3624–92 Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности

ГОСТ 4159–79 Реактивы. Йод. Технические условия

ГОСТ 4170–78 Реактивы. Натрий-аммоний фосфорнокислый двузамещенный 4-водный. Технические условия

ГОСТ 4198–75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4232–74 Реактивы. Калий йодистый. Технические условия

ГОСТ 4233–77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328–77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5556–81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 6259–75 Реактивы. Глицерин. Технические условия

Издание официальное

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 9147–80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9284–75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 10444.12–2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов

ГОСТ 11311–76 Фенол каменноугольный. Технические условия

ГОСТ 12026–76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13739–78 Масло иммерсионное для микроскопии. Технические требования. Методы испытаний

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

ГОСТ 17206–96 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 18300–87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

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

ГОСТ 22280–76 Реактивы. Натрий лимоннокислый 5,5-водный. Технические условия

ГОСТ 23683–89 Парафины нефтяные твердые. Технические условия

ГОСТ 24363–80 Реактивы. Калия гидроокись. Технические условия

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 32012–2012 Молоко и молочная продукция. Методы определения содержания спор мезофильных анаэробных микроорганизмов

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 по [1], а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов**; КМАФАнМ: Количество микроорганизмов, вырастающих и образующих видимые колонии на твердом питательном агаре при температуре (30 ± 1) °С.

3.2 **количество термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов**; КТАФАнМ: Количество микроорганизмов, вырастающих и образующих видимые колонии на

твердом питательном агаре при температуре (44 ± 1) °С.

3.3 **количество психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов**; КПАФАнМ: Количество микроорганизмов, вырастающих и образующих видимые колонии на твердом питательном агаре при температуре (7 ± 1) °С.

3.4 **бактерии группы кишечных палочек**; БГКП, коли-формы: Микроорганизмы семейства энтеробактерий родов эшерихия, цитробактер, энтеробактер, клебсиелла, серратия; бесспоровые, грамотрицательные, аэробные и факультативно-анаэробные палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа.

3.5 **редуктазная проба**: Метод оценки уровня бактериальной обсемененности сырого молока, основанный на восстановлении индикатора резазурина окислительно-восстановительными ферментами, выделяемыми микроорганизмами.

3.6 **сычужно-бродильная проба**: Метод оценки способности сырого молока свертываться под действием сычужного фермента и микроорганизмов сырого молока.

3.7 **сычужная проба**: Метод оценки способности молока, подвергнутого предварительной температурной обработке (пастеризации), свертываться под действием сычужного фермента.

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

Анализатор потенциометрический для контроля pH в питательных средах по ГОСТ 19881, диапазоном измерения 3-8 ед. pH, погрешностью измерения ± 0,02 ед. pH.

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

Термостат жидкостный (редуктазник), позволяющий поддерживать температуру от 25 °С до 55 °С, с отклонением от заданной температуры ± 1 °С.

Стерилизатор паровой медицинский (автоклав).

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

Термостат жидкостной, позволяющий поддерживать температуру от 15 °С до 55 °С, с отклонением от заданной температуры ± 1 °С.

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

Термометр стеклянный жидкостной (не ртутный) 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.

Гомогенизатор, смеситель, миксер в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 7218.

Часы по ГОСТ 27752 или таймер.

Прибор для счета колоний бактерий.

Микроскоп световой биологический.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919.

Спиртовка СЛ–1 по ГОСТ 25336.

Петля бактериологическая.

Лупа по ГОСТ 25706, с увеличением в 4–10 раз.

Пробки резиновые конусные.

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

Вспомогательное оборудование для отбора проб: мутовка, черпак, трубка, отборник, пробойник, шпатель, щуп, ложка, мешалка, нож, консервный нож, пробник.

Фольга алюминиевая по ГОСТ 745.

Пергамент по ГОСТ 1341.

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.
Стаканчики для взвешивания (бюксы) типов СВ и СН по ГОСТ 25336.
Поплавки стеклянные.
Стекло часовое.
Стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284.
Ступки лабораторные фарфоровые с пестиком по ГОСТ 9147.
Ланцет.
Агар микробиологический по ГОСТ 17206.
Желчь бычья сухая.
Йод по ГОСТ 4159.
Калий йодистый по ГОСТ 4232.
Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198.
Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный по ГОСТ 2493.
Калия гидроокись по ГОСТ 24363, раствор массовой концентрацией 10 г/дм^3.
Кислота соляная по ГОСТ 3118.
Кристаллический фиолетовый.
Фенол каменноугольный (кислота карболовая) по ГОСТ 11311.
Глицерин по ГОСТ 6259.
Лактоза.
Масло иммерсионное для микроскопии по ГОСТ 13739.
Метиленовый голубой, индикатор.
Натрий-аммоний фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 4170.
Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, растворы массовой концентрацией 5 г/дм^3, массовой долей 20 %, молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3.
Кислота молочная по ГОСТ 490, раствор объемной долей 20 %.
Натрий двууглекислый по ГОСТ 2156, раствор массовой концентрацией 100 г/дм^3.
Натрий лимоннокислый трехзамещенный по ГОСТ 22280.
Натрий углекислый безводный по ГОСТ 83, раствор массовой концентрацией 100 г/дм^3.
Натрий хлористый по ГОСТ 4233.
Парафин по ГОСТ 23683.
Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей по ГОСТ 13805.
Резазурино-натриевая соль.
Контрольный образец сычужного фермента.
Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.
Среда Кесслер сухая, обеспечивающая размножение и газообразование тест-культуры E. coli через (24 ± 2) ч при температуре (37 ± 1) °С.
Среда питательная сухая для определения КМАФАнМ, обеспечивающая формирование колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов при (30 ± 1) °С в течение 72 ч.
Фуксин основной.
Вода питьевая по нормативным и техническим документам, действующим на территории государств, принявших стандарт.
Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
Допускается применение других средств измерения, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

5 Отбор проб

5.1 Основные понятия и общие правила отбора проб – по ГОСТ 13928, ГОСТ 26809.1 и ГОСТ 26809.2.
5.2 Отбор проб для микробиологических анализов проводят перед отбором проб для физико-химических и органолептических анализов.
Контроль осуществляют путем анализа пробы, отобранной из транспортной или потребительской упаковки с продукцией, попавшей в выборку. Объем выборки для конкретного наименования продукта установлен требованиями ГОСТ 26809.1 и ГОСТ 26809.2.

Пробу для анализа отбирают взвешиванием (для сгущенных, полутвердых, твердых и сухих продуктов) или измерением объема (для жидких продуктов).

Перед отбором проб жидкие продукты необходимо тщательно перемешивать.

5.3 Пробы для микробиологических анализов отбирают в стерильную посуду с помощью стерильных приспособлений.

Отбор проб проводят отборником, черпаком, ложкой, металлической трубкой, щупом, шпателем или другим приспособлением, которые перед использованием должны быть простерилизованы в автоклаве или фламбированием.

5.4 Перед вскрытием упаковки с продукцией крышки фляг, цистерн, банок и т.д. очищают от загрязнений, промывают и протирают сухой марлей или другими нетканными материалами (салфетки и т.п.) для удаления остатков воды.

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.

При отборе проб сырого молока для определения редуктазы металлические трубки или пробники должны быть обработаны пропариванием, кипячением или химическими дезинфектантами с последующим ополаскиванием питьевой водой.

5.5 Сырые молоко и сливки, пахта для промышленной переработки, молочная сыворотка

Объединенную пробу в размере 0,50 дм^3 для сырого молока или 0,25 дм^3 для сырых сливок составляют из точечных проб, отобранных из каждой фляги, цистерны или отсека цистерны.

Микробиологические испытания сырого молока проводят после его органолептической оценки и определения кислотности по ГОСТ 3624.

Объединенную пробу пахты для промышленной переработки и молочной сыворотки в размере 0,25 дм^3 составляют из точечных проб, отобранных из каждой фляги, цистерны или отсека цистерны.

Из объединенной пробы, составленной для проведения микробиологических анализов, отбирают для каждого конкретного анализа необходимое количество сырого молока, сырых сливок, пахты для промышленной переработки и молочной сыворотки.

5.6 Пастеризованные молоко и сливки, сметана, кисломолочные и сквашенные продукты (жидкие)

От продукции в транспортной упаковке, попавшей в выборку, после тщательного перемешивания стерильными мутовкой или черпаком, отбирают 50–60 см^3 продукта в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой.

Продукцию в потребительской упаковке (бутылках, пакетах и т.д.), попавшую в выборку, перед отбором проб перемешивают пятикратным переворачиванием. Продукцию, которую нет возможности перемешать вышеописанным способом, следует перемешивать после вскрытия упаковки стерильным шпателем. После перемешивания необходимое для исследования количество продукта (не менее 15–20 см^3) отбирают стерильной пипеткой и помещают в стерильную посуду, которую затем закрывают стерильной пробкой.

5.7 Мороженое

От продукции в транспортной упаковке, попавшей в выборку, стерильным приспособлением снимают верхний слой толщиной не менее 1 см, после чего стерильными щупом или ложкой отбирают пробу массой 40–50 г в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой.

От продукции в потребительской упаковке стерильными щупом или ложкой отбирают пробу массой 40–50 г в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой. В отобранную пробу должны попасть пищевкусовые продукты: орехи, фрукты, кусочки шоколада, цукаты и др. (при их наличии), а также продукты, оформляющие поверхность: глазурь, вафли, печенье и др.

5.8 Творог, творожные продукты, творожная масса, творожные сырки, альбуминные и сырные пасты

От продукции в потребительской упаковке, попавшей в выборку, отбирают для анализа 15–20 г (включая и поверхностный слой). Отобранную пробу помещают в стерильную посуду, которую закрывают стерильной пробкой.

В продукции в транспортной упаковке, попавшей в выборку, перед отбором пробы верхний слой

продукта зачищают. Пробу отбирают стерильным щупом на расстоянии 3–5 см от края, направляя щуп наклонно к противоположной стороне и опуская на ¾ его длины.

Из столбика продукта на щупе отбирают стерильным шпателем 15–20 г продукта и помещают в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или стерильной пробкой.

5.9 Масло из коровьего молока, масляная паста, молочный жир, спреды и топленые смеси, высокожирные сливки

От продукции в потребительской упаковке, попавшей в выборку, отбирают для анализа стерильным шпателем 15–20 г продукта (включая поверхностный слой). Отобранную пробу помещают в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или стерильной пробкой.

От продукции в транспортной упаковке, попавшей в выборку, пробу отбирают стерильным щупом на расстоянии 3–5 см от края, направляя щуп к противоположной стороне и опуская на ¾ его длины. Из столбика продукта на щупе отбирают стерильным шпателем 15–20 г и помещают в стерильную посуду, которую закрывают плотно закрывающейся стерильной крышкой или стерильной пробкой. Оставшийся после отбора пробы столбик продукта на щупе возвращают на прежнее место, а поверхность продукта аккуратно заделывают.

Отбор проб продукта, хранящегося при температуре минус 3 °С и ниже, проводят, используя стерильный сухой щуп, дополнительно нагретый в пламени спиртовки.

Отбор проб продукта, хранящегося при низкой температуре, требует специальных навыков и мер предосторожности.

5.10 Сыр и сырные продукты

От продукции в потребительской упаковке, попавшей в выборку, отбирают для анализа стерильным ланцетом 15–20 г продукта (включая поверхностный слой). Отобранную пробу помещают в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или стерильной пробкой.

Головку сыра или сырного продукта, попавшую в выборку, в намеченном месте отбора пробы прижигают нагретым ножом или шпателем. Стерильный щуп вводят наклонно в середину головки на ¾ его длины. Из столбика сыра или сырного продукта на щупе отбирают стерильным шпателем 15–20 г сыра и помещают в стерильную посуду со стерильной пробкой или стерильную чашку Петри с крышкой. Верхнюю часть столбика сыра или сырного продукта на щупе возвращают на прежнее место. Поверхность сыра или сырного продукта заливают подогретым до (100 ± 10) °С парафином или оплавляют нагретым металлическим шпателем.

5.11 Плавленый сыр и плавленые сырные продукты

От продукции в потребительской упаковке, попавшей в выборку, отбирают для анализа стерильным ланцетом 15–20 г продукта (включая поверхностный слой). Отобранную пробу помещают в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или стерильной пробкой.

От продукции (блоки, батоны и др.), попавшей в выборку, из разных мест сыра (включая поверхностный слой) стерильным стерильным ланцетом отбирают на анализ 15–20 г продукта, помещают в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой или стерильной крышкой.

5.12 Сгущенные продукты

Потребительскую упаковку с продуктом тщательно промывают щеткой в чистой теплой воде и вытирают. Перед вскрытием крышку банки фламбируют.

У транспортной упаковки фламбируют пробку бочки, часть днища вокруг пробки, крышку фляги.

Открывают банки стерильным консервным ножом, а пробку бочки – пробойником. После вскрытия отверстие банки, бочки или фляги немедленно закрывают стерильным пергаментом, профламбированной жестяной крышкой или крышкой чашки Петри. Содержимое транспортной упаковки тщательно перемешивают стерильной мешалкой, содержимое потребительской упаковки – стерильной ложкой.

От сгущенных продуктов в транспортной упаковке, попавших в выборку, стерильными трубкой или черпаком отбирают на анализ 40–50 г продукта в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой или стерильной крышкой.

От сгущенных продуктов в потребительской упаковке пробу отбирают стерильными пробником, щупом или ложкой после вскрытия тары.

5.13 Сухие продукты

От сухих продуктов в транспортной упаковке, попавших в выборку, отбирают на анализ 40–50 г продукта в стерильную посуду с плотно закрывающимися стерильными крышкой или пробкой.

От сухих продуктов в потребительской упаковке после ее вскрытия отбирают стерильными пробником, щупом или ложкой 40–50 г продукта, помещают в стерильную посуду с плотно закрывающимися стерильными крышкой или пробкой.

5.14 Стерилизованные и ультрапастеризованные продукты

От каждой партии продуктов отбирают необходимое количество потребительских упаковок (банок, бутылок, пакетов и др.) общим объемом не менее 1 $дм^3$, но не менее 2 единиц.

В продукции, попавшей в выборку, анализы проводят отдельно в каждой банке, бутылке или пакете.

5.15 Посуду с пробой или пробу в потребительской упаковке для испытаний на предприятии-изготовителе снабжают этикеткой, на которой указывают:

- номер пробы;
- наименование продукта;
- номер и объем партии;
- дату и час отбора пробы;
- должность и подпись лица, отобравшего пробу;
- обозначение документа, в соответствии с которым изготовлен и может быть идентифицирован продукт.

Микробиологические анализы продукта на предприятии-изготовителе проводят не позднее чем через 4 ч с момента отбора проб.

5.16 Пробу, отправляемую в лабораторию вне данного предприятия, пломбируют или опечатывают, снабжают этикеткой и актом отбора проб, в которых указывают:

- наименования, сорта (при наличии) и даты производства продукта;
- места отбора проб;
- наименования предприятия-изготовителя;
- объема партии, от которой отобрана проба;
- идентификационного номера и любой кодовой маркировки партии, из которой были отобраны пробы;
- температуры продукта в момент отбора пробы;
- даты и часа отбора пробы;
- должности лиц, отобравших пробу;
- перечня показателей, которые должны быть определены в продукте;
- номера и даты транспортного документа, сопровождающего контролируемую партию продукта;
- обозначения нормативного или технического документа на продукт.

5.17 Хранение и транспортирование проб проводят при условии сохранения состояния пробы в момент ее отбора до начала ее испытаний. Условия хранения и транспортирования проб – согласно документу на соответствующий продукт.

Продолжительность доставки проб при проведении анализов третьей стороной – не более 24 ч при условиях, исключающих потерю влаги и изменение температуры.

Продолжительность доставки проб сырого молока при проведении анализов третьей стороной – не более 4 ч при условиях, исключающих изменение температуры.

Пробы замороженных продуктов хранят и транспортируют при минусовых температурах в соответствии с условиями хранения конкретного продукта, для мороженого – не выше минус 3 °С.

6 Порядок подготовки к проведению анализов

6.1 Подготовка посуды и материалов

6.1.1 Всю новую посуду, предназначенную для бактериологических работ, кипятят в подкисленной воде (раствор соляной кислоты объемной долей 1 % – 2 %) в течение 15 мин, затем ополаскивают дистиллированной водой.

Посуда с питательными средами после подсчета на них БГКП, дрожжей, плесневых грибов обеззараживается перед мойкой путем стерилизации в автоклаве при температуре (121 ± 1) °С в те-

чение (90 ± 1) мин или кипячением в течение 1 ч; для споровых микроорганизмов – при (132 ± 2) °С в течение (90 ± 1) мин.

6.1.2 Вымытую и высушенную посуду стерилизуют в сушильном шкафу при температуре (175 ± 5) °С в течение 1 ч, или при температуре (160 ± 5) °С в течение 2 ч, или в автоклаве при температуре (121 ± 1) °С в течение (30 ± 1) мин с последующим подсушиванием.

Чашки Петри, пипетки и т.п. стерилизуют завернутыми в бумагу или в металлических пеналах. В конец пипетки предварительно вкладывают кусочек ваты. Резиновые пробки стерилизуют в автоклаве завернутыми в бумагу.

При отсутствии оборудования для стерилизации при проведении пробы на редуктазу, на сычужно-бродильную и сычужную пробы допускается использовать посуду и резиновые пробки, прокипяченные в дистиллированной воде непосредственно перед испытанием не менее (30 ± 1) мин.

Стерильную посуду хранят в плотно закрывающихся шкафах или ящиках с крышками.

Срок хранения стерильной посуды – не более 30 сут.

6.2 Приготовление питательных сред и реактивов

6.2.1 Для приготовления растворов питательных сред используют дистиллированную воду или подготовленную по 6.2.2 питьевую воду.

Для приготовления растворов реактивов используют дистиллированную воду.

6.2.2 Подготовка питьевой воды

Питьевую воду кипятят в открытом сосуде 30 мин, охлаждают до комнатной температуры и выдерживают на свету в течение 24 ч для разложения соединений хлора. Активная кислотность подготовленной питьевой воды (далее – воды) должна составлять от 6,8 до 7,4 ед pH.

6.2.3 Приготовление питательной среды для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (среда КМАФАнМ)

В колбу достаточной вместимости помещают необходимое количество сухой питательной среды для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, регламентируемое инструкцией производителя, добавляют 1000 $см^3$ воды и тщательно перемешивают. Допускается использование дистиллированной воды.

Смесь нагревают до полного растворения среды. При наличии осадка фильтруют и устанавливают значение pH (7,0 ± 0,2) ед. pH. Среду разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин.

6.2.4 Питательные среды для определения и идентификации БГКП

6.2.4.1 Приготовление жидкой питательной среды Кесслер

В колбу достаточной вместимости помещают необходимое количество сухой питательной среды Кесслер, регламентируемое инструкцией производителя, добавляют небольшое количество воды и перемешивают. Объем раствора доводят водой до 1000 $см^3$. Допускается использование дистиллированной воды.

Смесь кипятят, постоянно перемешивая, до полного растворения. При наличии нерастворимого при кипячении осадка среду фильтруют и устанавливают значение pH (7,4 ± 0,2). Среду разливают в пробирки с поплавками по 5 $см^3$ или колбы с поплавками по 40–50 $см^3$ и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение (11 ± 1) мин.

Готовая среда должна иметь темно-фиолетовый или темно-синий цвет и поплавки должны быть полностью заполнены средой.

6.2.4.2 Приготовление твердой питательной среды АЖФК (агар желчный фиолетово-красный)

Необходимое количество сухой среды, регламентируемое инструкцией производителя, вносят в 1 $дм^3$ дистиллированной воды, тщательно перемешивают, затем нагревают и кипятят при помешивании 5 мин. Среду готовят непосредственно перед посевом.

Готовая среда должна иметь фиолетово-красный цвет.

Допускается хранение в течение 7 сут при температуре (4 ± 2) °С приготовленной и разлитой в пробирки среды, прокипяченной на водяной бане или пастеризованной текучим паром в автоклаве (30,0 ± 0,5) мин.

6.2.4.3 Приготовление среды Эндо

Необходимое количество сухой среды, регламентируемое инструкцией производителя, вносят в 1 $дм^3$ дистиллированной воды, тщательно размешивают, затем нагревают и кипятят в течение 3–5 мин, не допуская пригорания. Среду готовят непосредственно перед посевом.

6.2.5 Приготовление раствора хлористого натрия

В мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ помещают (8,50 ± 0,01) г хлористого натрия. Добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора до-

водят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор разливают по 10 см^3 в пробирки, по 93 см^3 в колбы вместимостью 100 см^3 и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин.

6.2.6 Приготовление концентрированного раствора фосфатного буфера

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 наливают 500 см^3 дистиллированной воды, добавляют (34,00 ± 0,01) г однозамещенного фосфорнокислого калия и тщательно перемешивают. Контролируют значение активной кислотности раствора и устанавливают требуемое значение, равное 7,2 ед. pH, раствором гидроокиси натрия массовой долей 20 %. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

Стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин.

6.2.7 Приготовление разбавленного раствора фосфатного буфера

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 1,25 см^3 концентрированного раствора фосфатного буфера, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор разливают по 10 см^3 в пробирки, по 93 см^3 в колбы вместимостью 100 см^3, стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин и используют для приготовления разведений.

6.2.8 Приготовление раствора двузамещенного фосфорнокислого калия для приготовления разведений казеина и пищевых казеинатов

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают (20,00 ± 0,01) г двузамещенного фосфорнокислого калия, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Устанавливают активную кислотность 8,4 ед. pH (для приготовления разведений 1:10) и 7,4 ед. pH (для приготовления всех последующих разведений). В качестве кислой среды рекомендуется применять раствор молочной кислоты объемной долей 20 %, в качестве щелочной – раствор гидроокиси натрия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3. Полученный раствор разливают по 10 см^3 в пробирки, по 93 см^3 в колбы вместимостью 100 см^3 и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин.

6.2.9 Приготовление раствора лимоннокислого натрия для разведений сыра

(20,00 ± 0,01) г трехзамещенного лимоннокислого натрия растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды, разливают в пробирки по 10 см^3 или в колбы по 93 см^3 и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин.

6.2.10 Приготовление раствора двууглекислого натрия для нейтрализации проб кисломолочных продуктов и закваски

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (10,00 ± 0,01) г двууглекислого натрия, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор разливают по 10–20 см^3 в пробирки и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение (15 ± 1) мин.

6.2.11 Приготовление реактивов для окраски по Граму

6.2.11.1 Приготовление насыщенного спиртового раствора кристаллического фиолетового

10 г кристаллического фиолетового растворяют в 100 см^3 этилового спирта.

6.2.11.2 Приготовление водно-спиртового раствора кристаллического фиолетового

1 см^3 насыщенного спиртового раствора кристаллического фиолетового по 6.2.11.1 растворяют в 10 см^3 дистиллированной воды.

6.2.11.3 Приготовление раствора Люголя

2 г йодистого калия растворяют в 5–10 см^3 дистиллированной воды, затем прибавляют 1 г кристаллического йода, оставляют на несколько часов до полного его растворения. Затем приливают остальное количество дистиллированной воды. Для приготовления раствора используют 300 см^3 дистиллированной воды.

6.2.11.4 Приготовление карболового раствора фуксина Циля

1 г основного кристаллического фуксина растирают в фарфоровой ступке с 5 г кристаллической карболовой кислоты и несколькими каплями глицерина. Во время растирания небольшими порциями прибавляют 96 % этиловый спирт в количестве 10 см^3. После того как краситель хорошо разотрется, приливают при постоянном помешивании 100 см^3 дистиллированной воды. Раствор красителя фильтруют через влажный бумажный фильтр. Фуксин Циля хранят в посуде из темного стекла с притертой пробкой в течение 30 сут.

6.2.11.5 Приготовление водно-спиртового раствора фуксина (раствора Пфейфера)

К 1 части карболового фуксина Циля приливают 9 частей дистиллированной воды. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

6.2.12 Приготовление реактивов для окраски по Граму (модификация Г.П. Калины)

6.2.12.1 Приготовление реактива 1

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают (0,50 ± 0,01) г кристаллического фиолетового,

добавляют небольшое количество этилового спирта и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят этиловым спиртом до метки.

6.2.12.2 Приготовление реактива 2

К 96 $см^3$ спиртового раствора йодистого калия массовой концентрацией 5 $г/дм^3$ добавляют 2 $см^3$ спиртового раствора основного фуксина массовой концентрацией 50 $г/дм^3$ и 2 $см^3$ спиртового раствора йода массовой концентрацией 50 $г/дм^3$. Приготовление спиртового раствора йодистого калия проводят на водяной бане при температуре (45 ± 5) °С при постоянном помешивании.

6.2.12.3 Допускается для окраски по Граму использование коммерческих наборов.

6.2.13 Приготовление раствора метиленового голубого для окраски препаратов

6.2.13.1 Приготовление основного спиртового раствора метиленового голубого

В коническую колбу вместимостью 150 $см^3$ помещают (10,00 ± 0,01) г метиленового голубого, приливают 100 $см^3$ 96 %-ного этилового спирта, закрывают пробкой и тщательно перемешивают. Раствор ставят в термостат при температуре (37 ± 1) °С на 24 ч, затем фильтруют через сухой складчатый фильтр в термостате при той же температуре.

Срок хранения основного раствора метиленового голубого в термостате при температуре (37 ± 1) °С – не более 3 мес.

6.2.13.2 Приготовление рабочего раствора метиленового голубого для окраски препаратов

К 30 $см^3$ основного спиртового раствора метиленового голубого, приготовленного по 6.2.13.1, добавляют 100 $см^3$ дистиллированной воды и 1 $см^3$ раствора гидроокиси калия массовой концентрацией 10 $г/дм^3$.

6.2.14 Приготовление растворов резазурино-натриевой соли

6.2.14.1 Приготовление основного раствора резазурино-натриевой соли

Основной раствор резазурино-натриевой соли готовят следующим образом: (0,100 ± 0,001) г резазурино-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.

Срок хранения основного раствора резазурино-натриевой соли при температуре от 4 °С до 10 °С – не более 30 сут.

6.2.14.2 Приготовление рабочего раствора резазурино-натриевой соли

Рабочий раствор резазурино-натриевой соли готовят разбавлением основного раствора прокипяченной и охлажденной до температуры (25 ± 2) °С дистиллированной водой в соотношении 1:2,5 (например смешивают 10 $см^3$ основного раствора и 25 $см^3$ дистиллированной воды). Массовая доля резазурина в рабочем растворе составляет 0,014 %.

Срок хранения рабочего раствора резазурина при температуре (4 ± 2) °С – не более 3 сут.

Основной и рабочий растворы хранят в темных склянках, в защищенном от света месте.

6.2.15 Приготовление раствора контрольного образца сычужного фермента (КО СФ)

1 г контрольного образца сычужного фермента с активностью 100 тыс. ед. растворяют в 100 $см^3$ дистиллированной воды при температуре (30 ± 1) °С, перемешивают и выдерживают до проведения анализа не менее 15 мин.

Хранят при температуре от 4 °С до 10 °С в течение 2 сут.

6.2.16 Определение активной кислотности (pH) среды

Определение активной кислотности (pH) питательных сред проводят потенциометрическим методом для контроля pH по прилагаемым инструкциям к соответствующим приборам.

Ориентировочное определение активной кислотности (pH) питательных сред допускается проводить с помощью индикаторных бумажек или готового универсального индикатора.

Требуемую величину активной кислотности (pH) питательной среды устанавливают в ее небольшом объеме, добавляя к ней по каплям 20 %-ный раствор гидроокиси натрия или 20 %-ный раствор молочной кислоты. Вычисляют, какой объем раствора следует прибавить ко всему объему среды для достижения требуемой величины pH. После прибавления раствора и тщательного перемешивания снова проверяют реакцию среды.

6.3 Подготовка проб к анализу

Отбор проб проводят в асептических условиях в стерильные посуду или пакеты. Отобранные пробы перед испытанием тщательно перемешивают или гомогенизируют при помощи перемешивающего устройства (гомогенизатора).

6.3.1 Молоко, сливки

Отобранные пробы перед испытанием тщательно перемешивают.

6.3.2 Кисломолочные и сквашенные продукты, сметана, закваски

Отобранные пробы перед анализом перемешивают и нейтрализуют.

Для этого в стерильную колбу вместимостью 50 см³ стерильно отбирают (10,0 ± 0,1) г/см^3 исследуемого продукта или закваски и добавляют 1 см^3 стерильного раствора двууглекислого натрия, приготовленного по 6.2.10, содержимое перемешивают.

6.3.3 Творог, творожные продукты, сыр и сырные продукты, плавленый сыр и плавленые сырные продукты, альбуминные и сырные пасты

(10,0 ± 0,1) г продукта взвешивают на стерильном часовом стекле, чашке Петри или в бюксе и переносят в стерильную или профламбированную ступку, прикрытую крышкой от чашки Петри, тщательно растирают.

6.3.4 Сгущенные продукты

Отобранные пробы перед анализом перемешивают стерильной ложкой. Взвешивают стерильную сухую колбу, в которую помещают (10,0 ± 0,1) г продукта.

6.3.5 Сухие продукты

Отобранную пробу тщательно перемешивают стерильной ложкой, взвешивают (10,0 ± 0,1) г продукта на кусочке стерильного пергамента, на чашке Петри или в бюксе, затем взвешенную пробу помещают в стерильную колбу или другую стерильную посуду.

6.3.6 Масло из коровьего молока, масляная паста, молочный жир, спреды и топленые смеси, высокожирные сливки

Перед испытанием пробу расплавляют на водяной бане при температуре от 40 °С до 45 °С и перемешивают до получения однородной эмульсии.

6.3.7 Мороженое

Отобранные пробы фасованного мороженого разворачивают и помещают в стерильную посуду со стерильными крышкой или пробкой.

6.4 Приготовление разведений продуктов для посева

6.4.1 Перед посевом готовят десятикратные разведения продукта в стерильных растворах хлористого натрия по 6.2.5 или разбавленного фосфатного буфера по 6.2.7.

Для приготовления разведений готовят все необходимые стерильные материалы и посуду в соответствии со спецификой анализа исследуемого продукта: пробирки с 9 см^3 или колбы с 90 см^3 растворов хлористого натрия или фосфатного буфера.

Приготовленные разведения должны быть использованы в течение не более 45 мин после их приготовления.

6.4.2. Из проб продуктов, подготовленных по 6.3.1 и 6.3.2, отбирают стерильной пипеткой 10 см^3 и вносят в 90 см^3 стерильных растворов хлористого натрия или фосфатного буфера. Получают разведение 1:10. Из первого разведения 1:10 готовят ряд последующих разведений 1:100, 1:1000 и т.д.

Из первого разведения 1:10 готовят последующие 1:100 и т.д., беря 1 см^3 предыдущего разведения и добавляя его в пробирку с 9 см^3 раствора для разведений.

6.4.3 Для приготовления каждого разведения берут новую стерильную пипетку. При посеве на чашки Петри посевной материал вносят от большего разведения к меньшему. В этом случае пользуются одной пипеткой.

6.4.4 К приготовленным по (10,0 ± 0,1) г массам продуктов, подготовленных по 6.3.3, 6.3.4, 6.3.5, добавляют 90 см^3 стерильных растворов хлористого натрия или фосфатного буфера, подогретых от 40 °С до 45 °С, и взбалтывают в течение 3–5 мин до возможно более полного эмульгирования. Получают разведение 1:10.

Из первого разведения 1:10 готовят последующие 1:100 и т.д.

6.4.5 В коническую колбу вместимостью 100 см³ помещают (10,0 ± 0,1) г казеина, добавляют 90 см^3 стерильного раствора двузамещенного фосфорнокислого калия по 6.2.8, имеющего pH 8,4 и подогретого до температуры (37 ± 1) °С. Колбу помещают в водяную баню такой же температуры и выдерживают в ней при периодическом встряхивании 20–25 мин.

Для приготовления последующих разведений казеина используют раствор двузамещенного фосфорнокислого калия с pH 7,4 по 6.2.8.

6.4.6 В коническую колбу вместимостью 100 см³ помещают (10,0 ± 0,1) г сыра, подготовленного по 6.3.3, добавляют 90 см^3 стерильных растворов хлористого натрия, или лимоннокислого натрия, или фосфатного буфера, подогретых от 40 °С до 45 °С, тщательно перемешивают до полного эмульгирования. Получают разведение 1:10.

Из первого разведения 1:10 готовят последующие 1:100 и т.д.

6.4.7 Из расплавленных проб масла, мороженого, подготовленных по 6.3.6 и 6.3.7, отбирают стерильной пипеткой по (10,0 ± 0,1) см^3 и вносят в 90 см^3 стерильных растворов хлористого натрия

или фосфатного буфера, подогретых от 40 °С до 45 °С, и взбалтывают в течение 3–5 мин до возможно более полного эмульгирования. Получают разведение 1 : 10.

Из первого разведения 1:10 готовят последующие 1:100 и т.д.

7 Условия проведения анализов

При выполнении измерений соблюдают следующие условия:
температура окружающего воздуха ..... (20 ± 5) °С;
относительная влажность воздуха ..... от 30 % до 80 %;
атмосферное давление ..... от 84 до 106 кПа.

8 Методы анализа

8.1 Метод определения уровня бактериальной обсемененности сырого молока – редуктазная проба

В процессе жизнедеятельности бактерии выделяют в окружающую среду наряду с другими окислительно-восстановительными ферментами анаэробные дегидразы, по старой классификации называемые редуктазами. Существует зависимость между количеством мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в молоке и содержанием в нем редуктаз, что дает возможность использовать редуктазную пробу как косвенный показатель уровня бактериальной обсемененности сырого молока.

8.1.1 Сущность метода

Метод основан на восстановлении резазурина окислительно-восстановительными ферментами, выделяемыми в молоко микроорганизмами. По продолжительности изменения окраски резазурина оценивают бактериальную обсемененность сырого молока.

8.1.2 Проведение анализа

Пробу с резазурином следует проводить не ранее чем через 2 ч после доения.

В пробирки наливают по 1 $см^3$ рабочего раствора резазурина по 6.2.14.2 и по 10 $см^3$ исследуемого сырого молока, закрывают резиновыми пробками и смешивают путем медленного трехкратного переворачивания пробирок. Пробирки помещают в редуктазник с температурой воды (37 ± 1) °С.

При отсутствии редуктазника допускается использовать водяную баню, обеспечивающую поддержание температуры (37 ± 1) °С.

Вода в редуктазнике или водяной бане после погружения пробирок с сырым молоком должна доходить до уровня жидкости в пробирке или быть немного выше, температуру (37 ± 1) °С поддерживают в течение всего времени определения.

Пробирки с сырым молоком и резазурином на протяжении анализа должны быть защищены от света прямых солнечных лучей (редуктазник должен быть плотно закрыт крышкой).

Время погружения пробирок в редуктазник считают началом анализа.

По истечении 1 ч пробирки вынимают из редуктазника и снимают показания. Появление окрашивания молока в этих пробирках при встряхивании не учитывают.

Пробирки с молоком, имеющие серо-сиреневую окраску до сиреневой со слабым серым оттенком, оставляют в редуктазнике еще на 30 мин

8.1.3 Обработка результатов

В зависимости от изменения цвета молоко относят к одному из классов в соответствии таблицей 1.

Таблица 1

Класс	Продолжительность изменения цвета	Окраска молока	Ориентировочное количество бактерий в 1 $см^3$ молока
I	Через 1 ч	От серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком	До 500 тыс
II	Через 1 ч	Сиреневая с розовым оттенком или ярко розовая	Более 500 тыс

Примечания:
1 Пробы сырого молока через 1,5 ч выдержки с окраской от серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком имеют ориентировочную бактериальную обсемененность менее 300 тыс.
2 Пробы сырого молока через 1 ч выдержки с окраской от бледно-розовой до белой имеют ориентировочную бактериальную обсемененность более 4 млн.

Цветовая шкала для определения класса сырого молока по редуктазной пробе с резазурином в соответствии с приложением А.

8.2 Сычужно-бродильная проба

8.2.1 Сущность метода

Метод основан на способности сырого молока свертываться под действием сычужного фермента и микроорганизмов сырого молока. По характеру образовавшегося сгустка оценивают качество сырого молока на его пригодность для производства сыра.

8.2.2 Проведение анализа

В чисто вымытые широкие пробирки, хорошо просушенные и ополоснутые два-три раза сырым молоком, из которого отбирают пробу, наливают около 30 $см^3$ молока. Затем вносят в каждую пробирку по 1 $см^3$ раствора контрольного образца сычужного фермента по 6.2.15, хорошо перемешивают и ставят на 12 ч в водяную баню или термостат при температуре (38 ± 1) °С, после чего вынимают из бани и проводят визуальную оценку.

8.2.3 Обработка результатов

По результатам визуальной оценки сырое молоко относят к одному из трех классов, указанных в таблице 2.

Таблица 2

Класс	Оценка качества молока	Характеристика сгустка
I	Хорошее	Сгусток с гладкой поверхностью, упругий на ощупь, без глазков на продольном разрезе, плавает в прозрачной сыворотке, которая не тянется
II	Удовлетворительное	Сгусток мягкий на ощупь, с единичными глазками (1–10), разорван, но не вспучен
III	Неудовлетворительное	Сгусток с многочисленными глазками, губчатый, мягкий на ощупь, вспучен, всплыл вверх или вместо сгустка образуется хлопьевидная масса

Сырое молоко с оценкой «Хорошее» и «Удовлетворительное» (I и II класс соответственно) считается пригодным для производства сыра, молоко с оценкой «Неудовлетворительное» (III класс) – не пригодным для производства сыра.

8.3 Сычужная проба

8.3.1 Сущность метода

Метод основан на способности молока, подвергнутого предварительной температурной обработке (пастеризации), свертываться под действием сычужного фермента. По характеру образовавшегося сгустка оценивают качество сырого молока на его пригодность для производства сыра.

8.3.2 Проведение анализа

Сырое молоко от индивидуальных сдатчиков, не подвергнутое температурной обработке, пастеризуют в лабораторных условиях. Для этого в колбу вместимостью 250 $см^3$ помещают около 150 $см^3$ молока, закрывают пробкой или фольгой. Колбу с молоком помещают в водяную баню с температурой (64 ± 1) °С и выдерживают в течение 30 мин, после чего молоко в колбе охлаждают до температуры (38 ± 1) °С.

Пастеризованное молоко разливают в 4 пробирки по 30 $см^3$, доводят до температуры (38 ± 1) °С в водяной бане или термостате.

Пастеризацию молока допускается проводить непосредственно в пробирках: сырое молоко разливают в 4 пробирки по 30 $см^3$, пробирки с молоком помещают в водяную баню с температурой (64 ± 1) °С и выдерживают в течение 30 мин, после чего молоко в пробирках охлаждают до температуры (38 ± 1) °С.

Затем в две пробирки вносят по 0,5 $см^3$, в другие две пробирки по 1,0 $см^3$ раствора контрольного образца сычужного фермента по 6.2.15, хорошо перемешивают и ставят на 1 ч при температуре (38 ± 1) °С в водяную баню или термостат.

После выдерживания пробирок в водяной бане или термостате в течение установленного времени при заданной температуре оценивают качество полученного сгустка.

8.3.3 Обработка результатов

Для оценки молока на свертываемость сначала осматривают сгусток, поворачивая каждую про-

бирку на 180 °. При хорошем или удовлетворительном качестве сгустка он не должен выпадать из пробирки. Затем осторожно с помощью шпателя отодвигают сгусток от стенки пробирки, переносят его в чашку Петри и характеризуют сгусток в соответствии с таблицей 3.

Таблица 3

Добавленный объем раствора КО СФ, $см^3$	Характеристика сгустка	Оценка молока по свертываемости	Класс
0,5	Сгусток с гладкой поверхностью, упругий на ощупь, без глазков	Хорошее	1
1,0			
0,5	Сгусток с гладкой поверхностью, мягкий на ощупь, без глазков	Удовлетворительное	2
1,0	Сгусток с гладкой поверхностью, упругий или мягкий на ощупь, без глазков		
0,5	Сгусток с неровной поверхностью, мягкий на ощупь, вспучен, с наличием глазков, дряблый или хлопьевидный	Неудовлетворительное	3
1,0			

Молоко с оценкой «Хорошее» и «Удовлетворительное» (1 и 2 класса соответственно) считается пригодным для производства сыра, молоко с оценкой «Неудовлетворительное» (3 класс) – не пригодным для производства сыра.

8.4 Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов КМАФАнМ

8.4.1 Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на твердой питательной среде КМАФАнМ при температуре (30 ± 1) °С в течение 72 ч.

8.4.2 Проведение анализа

8.4.2.1 Выбор разведений для посева

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения в соответствии с таблицей 4.

8.4.2.2 Посев

Для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает от 15 до 300 колоний.

Делают посев из разведений, указанных в таблице 4. При выборе разведений необходимо засевать три последовательных разведения, среднее из которых соответствует нормируемому.

Таблица 4

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева		
Сырые молоко и сливки, $см^3$	0,001	0,0001	0,00001
Пахта для промышленной переработки, $см^3$	0,001	0,0001	0,00001
Пастеризованные молоко, сливки, пахта и сыворотка и пастеризованные молочные напитки, коктейли, кисели, $см^3$	0,1	0,01	0,001
Ультрапастеризованное молоко без асептического розлива, $см^3$	1,0	0,1	–
Топленое молоко, $см^3$	0,1	0,01	–
Сгущенные с сахаром молоко или сливки, какао и кофе со сгущенным молоком и сахаром, сгущенные продукты из пахты, сыворотки, $см^3$	0,1	0,01	0,001
Сухое молоко, сухие сливки, ЗЦМ, сухие продукты из пахты, сыворотки, г	0,01	0,001	0,0001
Плавленый сыр, плавленые сырные продукты, сырные соусы, пасты, г	0,1	0,01	0,001
Сливочное масло и масляная паста, г	0,01	0,001	0,0001

Окончание таблицы 4

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева		
Спреды, г	0,01	0,001	0,0001
Мороженое, г	0,01	0,001	0,0001
Молочный жир, топленое масло, смеси топленые, г	0,1	0,01	0,001
Молочный альбумин, г	0,001	0,0001	0,00001
Молочный сахар, г	0,1	0,01	0,001
Казеин, казеинаты, г	0,1	0,01	0,001

Каждое из разведений должно быть засеяно в количестве 1 $см^3$ в одну чашку Петри с заранее маркированной крышкой и залито (14 ± 1) $см^3$ расплавленной и охлажденной до температуры 40 °С–45 °С питательной средой для определения КМАФАнМ по 6.2.3.

Допускается посев исследуемого продукта на чашки Петри из одного и того же разведения в количестве 1,0 и 0,1 $см^3$.

Сразу после заливки среды содержимое чашки Петри тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала.

Допускается проведение двух параллельных определений, то есть проведение посева каждого разведения на две чашки Петри.

8.4.2.3 Культивирование

После застывания среды чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат при температуре (30 ± 1) °С на 72 ч.

8.4.3 Обработка результатов

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке, поместив ее вверх дном на темном фоне, пользуясь лупой с увеличением в 4–10 раз. Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки. При подсчете колоний рекомендуется использовать счетчики.

При большом количестве однотипных колоний и равномерном их распределении допускается дно чашки Петри разделить на четыре и более одинаковых сектора, подсчитать количество колоний на двух-трех секторах (но не менее чем на 1/3 поверхности чашки), найти среднеарифметическое значение количества колоний и умножить на общее количество секторов всей чашки. Таким образом, находят общее количество колоний, выросших на одной чашке.

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов вычисляют как среднеарифметическое или как средневзвешенное значение.

8.4.3.1 Определение среднеарифметического количества микроорганизмов

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 $см^3$ или 1 г продукта X по каждой чашке Петри вычисляют по формуле

$$X = n \cdot 10^m, \quad (1)$$

где n – количество колоний, подсчитанных на чашке Петри;

m – количество десятикратных разведений.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое, полученное по всем чашкам.

8.4.3.2 Средневзвешенное значение количества микроорганизмов рассчитывают по ГОСТ ISO 7218 (подпункт 10.3.2.2).

8.5 Методы определения бактерий группы кишечных палочек (БГКП)

8.5.1 Метод определения БГКП по признакам роста на жидкой среде Кесслер

8.5.1.1 Сущность метода

Метод основан на способности БГКП сбраживать в питательной среде лактозу с образованием газа и кислоты при температуре (37 ± 1) °С в течение 24 ч. Признак роста БГКП на жидкой среде Кесслер – визуально наблюдаемое накопление газа в поплавке.

8.5.1.2 Проведение анализа

Посев продуктов или их разведений в жидкую среду Кесслер, приготовленную по 6.2.4.1, проводят в количествах, указанных в таблице 5. При выборе разведений необходимо засевать три последовательных разведения, среднее из которых соответствует нормируемому.

Таблица 5

Наименование продукта	Засеваемые объем или масса продукта
Сырые молоко и сливки, $см^3$	От 0,1 до 0,00001
Пахта для промышленной переработки, молочная сыворотка для производства напитков, $см^3$	От 0,1 до 0,01
Молочная сыворотка для производства других пищевых продуктов, $см^3$	От 0,1 до 0,001
Отобранные после пастеризации молоко и сливки, ультрапастеризованное молоко (без асептического розлива), $см^3$	10
Пастеризованные молоко и сливки, молоко с компонентами, кисломолочные продукты и напитки с компонентами и без компонентов, жидкий ЗЦМ, $см^3$	1; 0,1; 0,01
Топленое молоко, $см^3$	1
Творог, творожные продукты, г	От 0,1 до 0,001
Термически обработанные творожные продукты, $см^3$	0,1
Сметана, $см^3$	От 0,1 до 0,001
Термизированные сметанные продукты, $см^3$	0,1
Мороженое, сухие смеси для мороженого, г	0,1; 0,01
Масло из коровьего молока, г	0,1; 0,01
Сыры и сырные продукты, г	0,01; 0,001
Плавленые сыры и плавленые сырные продукты, г	0,1; 0,01
Сгущенные с сахаром молоко и сливки, какао и кофе со сгущенным молоком и сахаром в потребительской таре, см3	1,0
Сгущенные с сахаром молоко и сливки, какао и кофе со сгущенным молоком и сахаром в транспортной таре, см3	0,1
Сухое молоко, сухие сливки, молочный сахар, ЗЦМ и другие сухие продукты, г	0,1
Казеин, казеинаты и др., г	1,0; 0,1
Молочный альбумин и продукты на его основе, г	От 0,1 до 0,001
Кефирная закваска, $см^3$	3,0
Закваска на чистых культурах, $см^3$	10,0
Сухой бактериальный концентрат, г	1,0
Сухая закваска, г	1,0
Замороженный бактериальный концентрат, г	10,0

По 1 $см^3$ соответствующих разведений продукта засевают в пробирку с 5 $см^3$ жидкой среды Кесслер по 6.2.4.1. Каждое разведение засевается в одну пробирку со средой.

Посев 10 $см^3$ пастеризованного молока, отобранного после пастеризатора, 10 $см^3$ закваски на чистых культурах, 3 $см^3$ кефирной закваски, 10 $см^3$ замороженного бактериального концентрата или 10 $см^3$ разведения 1 : 10 сгущенных молочных продуктов с сахаром проводят в колбы с 40–50 $см^3$ жидкой среды Кесслер.

Пробирки или колбы с посевами помещают в термостат при (37 ± 1) °С на 18–24 ч. Окончательный результат снимают через 24 ч для всех продуктов, кроме мороженого. Для мороженого продолжительность культивирования посевов – 48 ч.

8.5.1.3 Обработка результатов

При снятии результатов пробирки или колбы с посевами просматривают и визуально определяют наличие или отсутствие газа в поплавках.

При наличии газообразования в каком-либо из засеваемых объемов считается, что БГКП обнаружены в данном объеме продукта.

При отсутствии газообразования в нормируемом объеме делают заключение об отсутствии в нем БГКП, а, следовательно, о соответствии продукта норме безопасности по данному показателю.

8.5.2 Определение количества БГКП на твердой питательной среде АЖФК для продуктов маслоделия и сыроделия

8.5.2.1 Сущность метода

Метод основан на способности БГКП давать рост и образовывать типичные колонии на твердой питательной среде АЖФК при температуре (37 ± 1) °С в течение 24 ч и предназначен для количественного подсчета БГКП в молоке и продуктах переработки молока.

8.5.2.2 Проведение анализа

При определении БГКП на среде АЖФК для проведения посева рекомендуется выбирать разведения, в котором БГКП должны отсутствовать, и два предыдущих.

Посев на среду можно проводить двумя способами – поверхностным и глубинным.

При поверхностном способе посева перед выполнением анализа проводят подготовку питательной среды. Для этого свежеприготовленную среду или среду после хранения, расплавленную на водяной бане, охлаждают до (50,0 ± 0,5) °С и разливают в стерильные чашки Петри по 12–15 $см^3$. Дно чашки должно быть равномерно покрыто слоем среды высотой около 2 мм. Чашки оставляют полуоткрытыми для подсушивания на (60 ± 5) мин в стерильных условиях (в боксе или специально обработанном термостате). После подсушивания среды чашки закрывают, маркируют и используют для проведения анализа.

При поверхностном способе посева каждое из выбранных разведений засевают по 0,1 или 0,2 $см^3$ и равномерно по всей поверхности втирают посевной материал в питательную среду стерильным шпателем Дригальского.

При глубинном способе посева каждое разведение должно быть засеяно по 1 $см^3$ в отдельную чашку Петри и залито расплавленной и охлажденной до 45 °С средой. После внесения среды содержимое чашки тщательно перемешивают путем легкого вращательного движения для равномерного распределения посевного материала. Чашки оставляют на горизонтальной поверхности для застывания агара.

Допускается проведение двух параллельных определений, то есть проведение посева каждого разведения на две чашки Петри.

8.5.2.3 Культивирование

После посева чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в термостат с температурой (37 ± 1) °С на 16–24 ч. Подсчет колоний проводят через 24 ч.

8.5.2.4 Обработка результатов

При поверхностном посеве БГКП образуют розовато-фиолетовые колонии диаметром больше 0,5 мм с более светлым по сравнению с центром ореолом, которые подлежат подсчету.

При поверхностном посеве для пересчета результатов на 1 г или 1 $см^3$ продукта число колоний, выросших на каждой чашке Петри, умножают на 10 и на соответствующее разведение при посеве 0,1 $см^3$; и умножают на 5 и на соответствующее разведение при посеве 0,2 $см^3$.

При глубинном посеве БГКП образуют мелкие колонии до 0,5 мм красного цвета (вокруг колоний обычно образуется красный ореол), которые подлежат подсчету.

Подсчитанное число колоний, выросших на каждой чашке, умножают на соответствующее разведение.

Количество БГКП продукта вычисляют как среднеарифметическое по 8.4.3.1.

8.5.3 Метод дифференциации энтеробактерий на среде Эндо

8.5.3.1 Сущность метода

Метод основан на способности ферментирующих лактозу энтеробактерий (БГКП) образовывать на среде Эндо темно-красные колонии с характерным металлическим блеском вследствие взаимодействия образующихся альдегидов с фуксином в присутствии сульфита натрия при температуре (37 ± 1) °С в течение 24 ч. Метод предназначен для дифференциации энтеробактерий на лактозоположительные (БГКП) и лактозоотрицательные (патогенные сальмонеллы и шигеллы) по виду образуемых на среде колоний.

8.5.3.2 Проведение анализа

На среду Эндо делают посевы со среды Кесслер или других накопительных питательных сред с признаками роста БГКП.

Пересев с накопительных сред на среду Эндо проводят в случае появления на накопительных средах признаков роста в нормируемом разведении продукта.

Перед выполнением посева среду Эндо по 6.2.4.3 расплавляют на водяной бане (или пользуются свежеприготовленной средой), охлаждают до 50 °С и разливают в стерильные чашки Петри примерно по 10 – 12 $см^3$, чтобы среда ровно покрывала дно чашки. Чашки со средой подсушивают в термостате при температуре 37 °С – 45 °С, расположив открытые чашки на стерильной бумаге в перевернутом виде. Время подсушивания – 1 ч. Допускается проводить подсушивание в боксе на столе при включенных бактерицидных лампах. Затем чашки закрывают, маркируют и используют для анализа.

Из пробирок и/или колбочек с накопительными средами с признаками роста БГКП, проводят посев петлей на среду Эндо. Анализируемый материал отбирают бактериальной петлей. Бактериальную петлю кладут на поверхность питательной среды и проводят штрихи по поверхности среды, располагая штрихи как можно ближе друг к другу для получения в конце штриха изолированных колоний. Для выполнения нескольких посевов на одной чашке дно чашки предварительно делят на равные сектора (рекомендуется не более 4 секторов).

8.5.3.3 Культивирование

Чашки с посевами переворачивают вверх дном и помещают в термостат при (37 ± 1) °С на 18–24 ч.

8.5.3.4 Обработка результатов

Результаты посевов оценивают визуально по характеру образовавшихся колоний:

- образование красных или темно-красных колоний с металлическим блеском на среде Эндо свидетельствует о принадлежности микроорганизмов, давших рост на накопительных питательных средах, к лактозоположительным энтеробактериям (БГКП). Для дальнейшей идентификации лактозоположительных энтеробактерий выполняют оксидазный тест; определяют принадлежность окрашиванием по Граму; проверяют ферментацию лактозы;

- образование полупрозрачных бесцветных или бледно-розовых колоний свидетельствует о принадлежности микроорганизмов, давших рост на накопительных питательных средах, к лактоотрицательным энтеробактериям, в том числе патогенным энтеробактериям.

8.6 Методы определения технически вредных микроорганизмов (микроорганизмов порчи) молока и продуктов переработки молока для внутризаводского контроля

8.6.1 Метод определения общего количества психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

8.6.1.1 Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на твердой питательной среде КМАФАнМ при температуре (7 ± 1) °С в течение 7–10 сут и предназначен для оценки санитарно-гигиенических условий получения, хранения и транспортировки сырого молока, а также выявления причин микробиологической порчи продуктов переработки молока.

8.6.1.2 Проведение анализа

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения в соответствии с таблицей 6.

Таблица 6

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева		
Сырые молоко и сливки, $см^3$	0,01	0,001	0,0001
Продукты переработки молока*, $см^3$ или г	0,1	0,01	0,001
* При выявлении причины пороков, связанных с развитием психротрофных микроорганизмов.			

Для определения общего количества психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает не менее 15 и не более 300 колоний. Из каждой пробы делают посев из разведений, указанных в таблице 6. Каждое из разведений должно быть засеяно в количестве 1 $см^3$ в одну чашку Петри с заранее маркированной крышкой и залито 10–15 $см^3$ расплавленной и охлажденной до температуры 40 °С –45 °С питательной средой КМАФАнМ, приготовленной по 6.2.3.

Допускается посев исследуемого продукта на чашки Петри из одного и того же разведения в количестве 1,0 и 0,1 $см^3$.

После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат с температурой (7 ± 1) °С на 7–10 сут.

8.6.1.3 Обработка результатов

Количество психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 $см^3$ г или 1 г сырого молока, сырых сливок или продуктов переработки молока подсчитывают по 8.4.3.

8.6.2 Метод определения общего количества термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

8.6.2.1 Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на твердой питательной среде КМАФАнМ при температуре (44 ± 1) °С в течение 72 ч, и предназначен для оценки санитарно-гигиенических условий получения сырого молока и выявления источника микробиологической порчи продуктов переработки молока.

8.6.2.2 Проведение анализа

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения в соответствии с таблицей 7.

Таблица 7

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева		
Сырые молоко и сливки, $см^3$	0,1	0,01	0,001
Масло из коровьего молока, масляная паста, спреды, г	0,1	0,01	0,001
Плавленый сыр и плавленые сырные продукты, г	0,1	0,01	0,001
Сухие продукты из молока, сливок, пахты, сыворотки, г	0,1	0,01	–

Для определения общего количества термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает от 15 до 300 колоний. Из каждой пробы делают посев из разведений, указанных в таблице 7. Каждое из разведений должно быть засеяно в количестве 1 $см^3$ в одну чашку Петри с заранее маркированной крышкой и залито 10–15 $см^3$ расплавленной и охлажденной до температуры 40 °С – 45 °С питательной средой КМАФАнМ, приготовленной по 6.2.3.

Допускается проведение двух параллельных определений, то есть проведение посева каждого разведения на две чашки Петри.

После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в термостат с температурой (44 ± 1) °С на 72 ч.

8.6.2.3 Обработка результатов

Количество термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1$см^3$ или 1 г сырого молока, сырых сливок или продуктов переработки молока подсчитывают по 8.4.3.

8.6.3 Метод определения спор аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

8.6.3.1 Сущность метода

Метод основан на посеве предварительно прогретого при температуре (88 ± 2) °С в течение (12 ± 2) мин посевного материала в питательную среду КМАФАнМ с последующим культивированием посевов при (30 ± 1) °С в течение 72 ч и подсчете видимых колоний. Метод предназначен для оценки санитарно-гигиенических показателей сырья и выявления источника микробиологической порчи продуктов переработки молока.

8.6.3.2 Проведение анализа

Для определения количества спор аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов проводят посев 0,1 и 0,01 $см^3$(г) продукта.

Посевной материал (разведения продукта) прогревают в водяной бане при температуре (88 ± 2) °С в течение (12 ± 2) мин, охлаждают до температуры (23 ± 1) °С.

Из каждого подготовленного разведения делают посев по 1 $см^3$ на одну чашку Петри с заранее промаркированной крышкой. Каждую чашку Петри заливают 10–15 $см^3$ питательной среды КМАФАнМ, приготовленной по 6.2.3, охлажденной до (45 ± 1) °С, тщательно перемешивают и оставляют до застывания.

Допускается проведение двух параллельных определений, то есть проведение посева каждого разведения на две чашки Петри.

После застывания сред чашки Петри переворачивают вверх дном и ставят в термостат при температуре (30 ± 1) °С на 48–72 ч.

8.6.3.3 Обработка результатов

Для подсчета выбирают чашки, на которых выросло от 5 до 150 колоний споровых аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

Количество спор аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 $см^3$ или 1 г сырого молока, сырых сливок или продуктов переработки молока подсчитывают по 8.4.3.

8.6.4 Метод определения спор мезофильных анаэробных бактерий

Определение содержания спор мезофильных анаэробных бактерий проводят по ГОСТ 32012.

8.6.5 Метод определения дрожжей и плесневых грибов

Определение содержания дрожжей и плесневых грибов проводят по ГОСТ 10444.12.

8.7 Методы микроскопических испытаний

В молочной промышленности микроскопические испытания проводят при изучении микроморфологических особенностей микрофлоры молока, лабораторных и производственных заквасок, продуктов переработки молока.

8.7.1 Сущность метода

Метод основан на визуальном наблюдении микроорганизмов с помощью приборов (микроскопов), позволяющих многократно увеличивать подготовленный исследуемый объект.

При микроскопическом исследовании учитываются как жизнеспособные, так и нежизнеспособ-

ные клетки микроорганизмов, при этом чувствительность метода – не менее 10^5 клеток в 1 $см^3$ или 1 г исследуемого продукта.

8.7.2 Подготовка к проведению анализа

8.7.2.1 Приготовление микропрепарата

Для приготовления препарата жидкого продукта по 6.3.1 и 6.3.2 на чистое предметное стекло наносят петлей каплю продукта и распределяют ее на площади 1-2 $см^2$.

Для приготовления препарата из творога, творожных продуктов, творожных сырков, сырных и альбуминных паст на стекло наносят каплю воды, вводят в нее петлей исследуемый материал, тщательно перемешивают и растирают на площади 1-2 $см^2$.

Для приготовления препарата из твердых продуктов – сыр, сырные продукты и т.д. их тщательно растирают со стерильной водой в стерильной ступке. Затем полученную массу петлей наносят на чистое предметное стекло и распределяют на площади 1-2 $см^2$.

При исследовании колоний микроорганизмов, выросших на твердых питательных средах (агаровая культура), часть колонии отбирают с помощью бактериологической петли или иглы и тщательно растирают в капле воды на предметном стекле.

Приготовленные микропрепараты высушивают при комнатном температуре на воздухе.

8.7.2.2 Фиксирование микропрепарата

Для закрепления клеток микроорганизмов на стекле высушенные микропрепараты фиксируют. Для этого предметное стекло с высушенным микропрепаратом, обращенным вверх, берут пинцетом и проводят 3–5 раз через верхнюю часть пламени горелки с промежутками в 5-6 с. Зафиксированный микропрепарат охлаждают на воздухе.

8.7.2.3 Окрашивание микропрепарата метиленовым голубым

Зафиксированный микропрепарат помещают на подставку для окраски мазком вверх. Пипеткой наносят рабочий раствор метиленового голубого по 6.2.13.2 так, чтобы покрыть весь мазок, по истечении 30–60 с краситель осторожно сливают. Препарат промывают водой.

Окрашенный мазок высушивают на воздухе.

8.7.2.4 Окрашивание микропрепарата по Граму

Зафиксированный микропрепарат помещают на подставку для окраски мазком вверх, накладывают полоску фильтровальной бумаги и наливают раствор кристаллического фиолетового по 6.2.11.2. Окраску проводят в течение 1–2 мин.

Снимают бумагу, сливают избыток красителя и, не промывая препарат водой, наливают раствор Люголя по 6.2.11.3 на 1–2 мин до почернения препарата.

Раствор Люголя сливают. Предметное стекло погружают несколько раз в этиловый спирт. Процесс обесцвечивания считается завершенным, когда от мазка перестают отделяться окрашенные в фиолетовый цвет струйки жидкости.

Микропрепарат тщательно промывают водой.

Повторную окраску микропрепарата проводят водно-спиртовым раствором фуксина по 6.2.11.5 в течение 2 мин.

8.7.2.5 Подготовка микропрепаратов и окраска по Граму в модификации Г.П. Калины

На предметное стекло в каплю воды с внесенной агаровой культурой, вносят петлей каплю реактива 1, приготовленного по 6.2.12.1. Смесь распределяют на площади 1–2 $см^2$, просушивают при (20 ± 2) °С и фиксируют по 8.7.2.2. Препарат ополаскивают водой и тщательно просушивают фильтровальной бумагой.

После просушивания на препарат наносят с избытком реактив 2, приготовленный по 6.2.12.2, чтобы жидкость покрывала всю поверхность стекла. Продолжительность окрашивания – 30–60 с. После окрашивания препарат ополаскивают проточной водой, направляя струю под углом на стекло, помещенное вертикально. Препарат просушивают фильтровальной бумагой.

Грамположительные микроорганизмы приобретают темно-фиолетовый цвет, а грамотрицательные – красный цвет.

8.7.3 Проведение анализа

Просушенный микропрепарат помещают на предметный столик микроскопа и просматривают микропрепарат, используя иммерсионную систему. Микроскопирование препаратов дрожжей и плесневых грибов допускается проводить с меньшим увеличением без использования иммерсионной системы.

8.7.4 Обработка результатов

Состав микрофлоры ферментируемых, в том числе кисломолочных, продуктов при микроскопировании должен соответствовать составу заквасочной микрофлоры, входящей в используемую при их производстве бактериальную закваску.

Ориентировочный состав микрофлоры кисломолочных продуктов в микропрепаратах приведен

в приложении Б.

8.8 Метод определения промышленной стерильности

8.8.1 Сущность метода

Метод основан на способности микроорганизмов, выдержавших стерилизацию, размножаться в стерильных продуктах при оптимальных режимах термостатной выдержки и вызывать в нем органолептические и (или) микробиологические и (или) физико-химические изменения.

8.8.2 Проведение анализа

Отобранную потребительскую упаковку со стерилизованным или ультрапастеризованным продуктом выдерживают в термостате при температуре (37 ± 1) °С в течение определенного времени.

По истечении срока термостатной выдержки потребительскую упаковку с продуктом охлаждают до (20 ± 5) °С и подвергают внешнему осмотру. При наличии вздутия крышки или донышка, не опадающего при нажатии пальцами, упаковку с продуктом считают бомбажной.

Потребительскую упаковку без внешних дефектов вскрывают, стерилизованный или ультрапастеризованный продукт анализируют органолептически и по показателям титруемой кислотности, проводят посев на КМАФАнМ.

8.8.3 Обработка результатов

В стерилизованном или ультрапастеризованном молоке, стерилизованных сливках, сливочном масле после термостатной выдержки в течение 3–5 суток не должно происходить органолептических изменений. Допускается изменение титруемой кислотности продукта не более чем на 2 °Т. Количество мезофиль-ных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов не должно превышать 10 КОЕ/см^3(г), 100 КОЕ/г – для стерилизованных сливочного масла и плавленого сыра.

Для стерилизованного сливочного масла дополнительно контролируют кислотность жировой фазы по ГОСТ 3624 с изменением значения показателя не более чем 0,5 °К.

В концентрированных и сгущенных стерилизованных продуктах после термостатной выдержки при температуре 37 °С в течение 6 суток не допускаются видимые дефекты и признаки порчи (вздутие упаковки, изменение внешнего вида и др.), изменения вкуса и консистенции, титруемой кислотности, в микроскопическом препарате не должны обнаруживаться клетки микроорганизмов. Для продуктов детского питания – отсутствие при посеве проб плесневых грибов, дрожжей, молочнокислых микроорганизмов.

Продукт считается промышленно стерильным, если отвечает всем вышеперечисленным требованиям.

9 Требования, обеспечивающие безопасность

При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования:

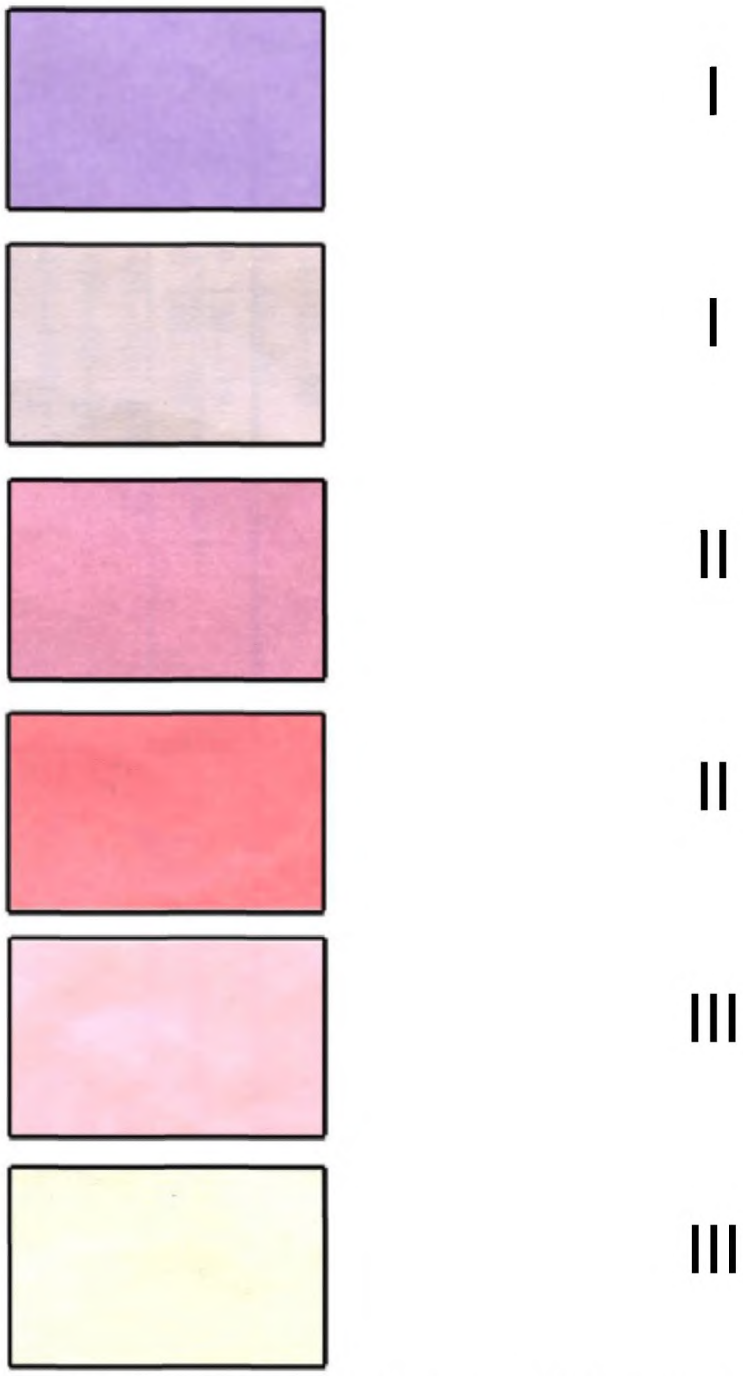
- помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021;
- содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005;
- безопасность при работе с химическими реактивами в соответствии с ГОСТ 12.1.007;
- требования безопасности при работе в микробиологической лаборатории с микроорганизмами III–IVгрупп 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)

Цветовая шкала для определения класса сырого молока по редуктазной пробе с резазурином

А.1 Цветовая шкала для определения класса сырого молока по редуктазной пробе с резазурином представлена на рисунке А.1.



I – окраска молока I класса; II – окраска молока II класса; III – окраска молока при бактериальной обсемененности свыше 4 млн жизнеспособных клеток.

Рисунок А.1 – Цветовая шкала

Приложение Б
(рекомендуемое)

Ориентировочный состав микрофлоры кисломолочных продуктов в микропрепаратах

Б.1 Ориентировочный состав микрофлоры кисломолочных продуктов в микропрепаратах представлен в таблице Б.1.

Таблица Б.1

Наименование продуктов	Ориентировочный состав микрофлоры	Характеристика микропрепарата
Творог, творожные продукты, сметана	Лактококки или лактококки и термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков или кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, длинные цепочки кокков в виде бус
Простокваша	Лактококки и(или) термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков и(или) длинные цепочки кокков в виде бус
Мечниковская простокваша, йогурт	Термофильные молочнокислые стрептококки и палочки	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус, палочки одиночные, в парах, цепочки палочек
Ряженка	Термофильные молочнокислые стрептококки или молочнокислые стрептококки и болгарская палочка	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус или кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус, крупные палочки одиночные, в парах, цепочках
Варенец	Термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус
Кумыс, кумысный продукт	Болгарская и ацидофильная молочнокислые палочки, дрожжи	Крупные палочки одиночные, в парах, в цепочках, единичные дрожжи
Айран	Термофильные молочнокислые стрептококки, болгарская молочнокислая палочка, дрожжи	Кокки, диплококки, длинные цепочки в виде бус, крупные палочки с закругленными концами одиночные, в парах, цепочки, единичные дрожжи не в каждом поле зрения
Кефир	Лактококки, молочнокислые палочки, дрожжи	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, прямые палочки одиночные, в парах, в цепочках, единичные дрожжи не в каждом поле зрения
Ацидофилин	Ацидофильная молочнокислая палочка, лактококки и дрожжи	Крупные прямые палочки одиночные и в парах, короткие цепочки палочек, кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, возможно наличие дрожжей
Йогурт	Термофильные молочнокислые стрептококки, болгарская молочнокислая палочка	Кокки, диплококки, длинные цепочки в виде бус, крупные палочки с закругленными концами одиночные, в парах, в цепочках
Продукты, обогащенные бифидобактериями	Основная микрофлора продукта (лактококки, и/или термофильный стрептококк, и/или молочнокислые палочки, и/или дрожжи, и т.д.) и бифидобактерии	Картина микропрепарата соответствует основной микрофлоре продукта: кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, и/или длинные цепочки в виде бус, и/или прямые палочки одиночные, в парах, в цепочках, и/или единичные дрожжи не в каждом поле зрения, и т.д. Кроме того, в поле зрения должны встречаться единичные палочки неправильной формы (изогнутые, булавовидные, V-образной формы) одиночные, парные, в коротких цепочках и скоплениях

Библиография

[1] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции», принятый Решением Совета Евразийской Экономической комиссии № 67 от 09 октября 2013 г.

УДК 576.8:006.354 ОКС 67.100.10 Н19 ОКП 92 2000

Ключевые слова: молоко, молочная продукция, методы микробиологического анализа, мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы, редуктаза, бактерии группы кишечных палочек, промышленная стерильность

Подписано в печать 30.03.2015. Формат 60х84 1/8.
Усл. печ. л. 3.26. Тираж 31 экз. Зак. 1204

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