Российская академия сельскохозяйственных наук

Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт
маслоделия и сыроделия
(ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии)

2.3.2. Пищевые продукты и пищевые добавки

Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов)

МР 2.3.2.2327-08

2008

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации



_____ Г.Г. Онищенко

«7» февраля 2008 г.

Введены в действие: с момента утверждения

2.3.2. Пищевые продукты и пищевые добавки

Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов)

МР 2.3.2.2327-08

2008

Методические рекомендации
по организации производственного
микробиологического контроля
на предприятиях молочной промышленности
(с атласом значимых микроорганизмов)

МР 2.3.2.2327-08

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ РАЗРАБОТАНЫ:

ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии – Ю.Я. Свириденко, Г.М. Свириденко, Г.Д. Перфильев, М.Б. Захарова, Л.С. Матевосян, Д.С. Мягконосов, О.А. Шатрова, Н.Н. Оносовская, Е.Г. Сёмова

ФГУН ЦНИИ эпидемиологии – С.Ш. Рожнова

ОАО «Вимм-Билль-Данн» – Н.Г. Меркулова

при организационном и техническом содействии Российского союза предприятий молочной отрасли – В.В. Лабинова, Т.И. Крикун, Л.В. Абдуллаевой

ЭКСПЕРТИЗА ДОКУМЕНТА ПРОВЕДЕНА:

Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека – О.И. Аксеновой, Л.В. Чикиной, И.В. Свяховской

ГУ НИИ питания РАМН – С.А. Шевелевой

© ГНУ ВНИИМС, 2008

Содержание

Введение 7
1 Область применения 9
2 Нормативные ссылки 9
3 Термины, определения, обозначения и сокращения 11
4 Требования к организации работы производственной лаборатории 14
4.1 Подготовка помещений для микробиологических исследований 14
4.2 Подготовка посуды и материалов для микробиологических исследований 18
4.3 Приготовление растворов для разведений 19
4.4 Приготовление растворов реактивов 20
4.5 Приготовление растворов антибиотиков 21
4.6 Питательные среды 22
5 Отбор проб, подготовка их к анализу, приготовление разведений и выполнение посевов 32
5.1 Отбор проб. Общие правила 32
5.2 Отбор проб готовой продукции 32
5.3 Маркирование, хранение и транспортирование проб 36
5.4 Подготовка проб к анализу 37
5.5 Приготовление разведений продуктов для посева 37
5.6 Техника проведения посевов 38
6 Методы анализа 41
6.1 Качественные методы оценки молока-сырья 41
6.2 Качественные методы контроля закваски 51
6.3 Определение каталазной и оксидазной активности микроорганизмов 53
6.4 Методы микроскопических исследований 54
6.5 Методы контроля санитарно-показательных и технически вредных микроорганизмов 58
6.6 Методы определения заквасочных микроорганизмов 75
6.7 Методы контроля эффективности термообработки молока и молочных продуктов 82
7 Организация контроля санитарно-гигиенического состояния производства 84
7.1 Контроль санитарно-гигиенического состояния оборудования, трубопроводов, инвентаря, упаковочных материалов и т.д. 84
7.2 Контроль санитарно-гигиенического состояния воздушной среды 89
7.3 Контроль санитарно-гигиенического состояния питьевой воды 90
7.4 Контроль соблюдения гигиены работниками предприятия 101
8 Проведение контроля загрязненности производства ферментированных молочных продуктов бактериофагами 102
8.1 Подготовка к проведению анализа 102
8.2 Методы индикации бактериофагов 104
9 Организация контроля основного сырья на молокоперерабатывающих предприятиях 108
9.1 Контроль молока-сырья 108

9.2 Контроль обезжиренного молока-сырья 109
9.3 Контроль сливок-сырья 110
9.4 Контроль пахты-сырья 110
9.5 Контроль сыворотки-сырья 110
10 Микробиологический контроль вспомогательного сырья и компонентов 112
11 Контроль эффективности пастеризации 113
12 Контроль качества закваски 114
12.1 Контроль активизированного БК 114
12.2 Контроль производственной закваски 114
Приложение А Схемы микробиологического контроля производства продуктов переработки молока 116
Приложение Б Нормы безопасности и рекомендуемая периодичность контроля условно-патогенных и патогенных микроорганизмов в молоке, продуктах его переработки и при оценке санитарно-гигиенического состояния производства 142
Приложение В Качественные методы микробиологического контроля, используемые для оценки молока и молочных продуктов 146
Приложение Г Признаки роста микроорганизмов, подлежащих контролю в молоке и молочных продуктах на рекомендуемых питательных средах 154
Приложение Д Атлас микроорганизмов молока и молочных продуктов 171
Приложение Е Фаговый мониторинг производства 207
Приложение Ж Журналы микробиологического контроля 213
Приложение З Электронная версия журналов микробиологического контроля

Введение

Гарантия выпуска высококачественной и безопасной продукции – соблюдение предприятиями санитарно-гигиенических требований на всех этапах производства, начиная с сырья и заканчивая готовым продуктом.

Это требование наиболее значимо именно для предприятий молочной промышленности, где из-за специфики сырья, технологического процесса, особенностей готовой продукции и условий ее хранения в высшей степени важен микробиологический контроль всей технологической цепи.

В мировой практике выпуск гарантированно безопасной и качественной молочной продукции обеспечивается внедрением в практику производств внутренних систем контроля безопасности и качества, интегрируемых в процесс производства, в частности системы ХАССП, функционирующей в соответствии с международными стандартами серии ИСО.

В практике отечественного производства молочных продуктов для организации и проведения микробиологического контроля отсутствует единый руководящий документ, содержащий всю необходимую информацию о приемах, принципах, методах, средствах контроля, нормах содержания микроорганизмов, подлежащих контролю и периодичности контроля потенциально опасных микроорганизмов.

Данные методические рекомендации созданы на основе обобщения результатов научных исследований последних лет и их широкого внедрения в практике отечественного производства молока и продуктов его переработки.

Документ включает положения, нормы, требования, методы контроля действующих законов и подзаконных документов, межгосударственных и национальных стандартов, а также ряда технических документов (инструкции, МУК, МР, МУ, ТУ).

Материалы, представленные в методических рекомендациях, являются основой системы микробиологического контроля на молочных предприятиях, обеспечивающей выпуск гарантированно безопасной и качественной продукции, многократно проверенной на практике.

Методические рекомендации также содержат в полном объеме материалы, необходимые для разработки индивидуальных, адаптированных к условиям конкретного производства, программ производственного контроля.

Документ соответствует действующим нормативным и техническим документам и максимально гармонизирован с международными стандартами.

Методические рекомендации разработаны взамен Инструкции по микробиологическому контролю производства на предприятиях молочной промышленности, утвержденной Госагропромом СССР 28.12.1987, и Инструкции по порядку и периодичности контроля за содержанием микробиологических и химических загрязнителей в молоке и молочных продуктах на предприятиях молочной промышленности, утвержденной Минсельхозпродом РФ 29.12.1995 (в части микробиологических показателей).

1 Область применения

Настоящие методические рекомендации устанавливают требования к организации и порядок проведения микробиологического контроля в условиях производственных лабораторий на предприятиях молочной промышленности.

Требования настоящих методических рекомендаций используют для инспекционного контроля органы надзора.

2 Нормативные ссылки

ФЗ № 29-ФЗ О качестве и безопасности пищевых продуктов

ФЗ № 52-ФЗ О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения (с изменениями от 30 декабря 2001 г.; 10 января, 30 июня 2003 г.; 22 августа 2004 г.; 9 мая, 31 декабря 2005 г.)

Проект ФЗ Технический регламент на молоко и продукты его переработки

ГОСТ Р 51232-98 Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества

ГОСТ Р 51446-99 Микробиология. Продукты пищевые. Общие правила микробиологических исследований

ГОСТ Р 51600-2000 Молоко. Методы определения наличия антибиотиков

ГОСТ Р 51705-2001 Системы качества. Управление качеством пищевых продуктов на основе принципов ХАССП. Общие требования

ГОСТ Р 51921-2002 Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий Listeria monocytogenes

ГОСТ Р 52054-2003 Молоко натуральное коровье – сырье. Технические условия

ГОСТ Р 52738-2007 Молоко и продукты переработки молока. Термины и определения

ГОСТ Р ИСО 9001-2001 Система менеджмента качества. Требования

ГОСТ Р ИСО 14001-98 Системы управления окружающей средой. Требования и руководство по применению

ГОСТ 3622-68 Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка их к испытанию

ГОСТ 3623-73 Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации

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

ГОСТ 9225-84 Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа

ГОСТ 10444.1-84 Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе

ГОСТ 10444.11-89 Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов

ГОСТ 10444.12-88 Продукты пищевые. Методы определения дрожжей и плесневых грибов

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

ГОСТ 18963-73 Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа

ГОСТ 23453-90 Молоко. Методы определения количества соматических клеток

ГОСТ 23454-79 Молоко. Методы определения ингибирующих веществ

ГОСТ 24065-80 Молоко. Методы определения соды

ГОСТ 24066-80 Молоко. Метод определения аммиака

ГОСТ 24067-80 Молоко. Метод определения перекиси водорода

ГОСТ 25102-90 Молоко и молочные продукты. Методы определения содержания спор мезофильных анаэробных бактерий

ГОСТ 26668-85 Продукты пищевые и вкусовые. Методы отбора проб для микробиологических анализов

ГОСТ 26781-85 Молоко. Метод измерения pH

ГОСТ 26809-86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу

ГОСТ 30425-97 Консервы. Метод определения промышленной стерильности

ГОСТ 30347-97 Молоко и молочные продукты. Методы определения Staphylococcus aureus

ГОСТ 30519-97 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода Salmonella

ОСТ 10-213-97 Сыворотка молочная. Технические условия

ОСТ 10 287-2001 Пахта – вторичное молочное сырье. Технические условия

СанПиН 2.3.4.551-96 Санитарные правила и нормы. Производство молока и молочных продуктов

СанПиН 2.1.4.1074-01 Санитарные правила и нормы. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества

СанПиН 2.3.2.1078-01 Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования безопасности пищевой ценности пищевых продуктов

СП 1.1.1058-01 Организация и проведение производственного контроля за соблюдением санитарных правил и выполнением противоэпидемических (профилактических) мероприятий

МУК 4.2.1018-01 Методические указания. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды

МУ 2.3.975-00 Методические указания. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздушной среды помещений организаций пищевой промышленности, общественного питания и торговли продовольственными товарами

МУ ВНИИМС 4.1.002-97 Методические рекомендации по проведению фагового мониторинга на сыродельных предприятиях

СП 1.2.731-99 Санитарные правила. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами

Р 3.5.1904-04 Руководство. Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях

ТУ 9811-152-04610209-2004 Сливки-сырье

ТУ 9811-153-04610209-2004 Молоко-сырье для сыроделия

3 Термины, определения, обозначения и сокращения

3.1 **Производственная лаборатория:** структурное подразделение предприятия-изготовителя, осуществляющее контроль сырья, технологического процесса, готовой продукции и санитарно-гигиенического состояния производства в соответствии со схемой производственного контроля. В производственной лаборатории не проводят работ с заквасочными микроорганизмами, в том числе по приготовлению производственных заквасок.

3.2 **Санитарно-показательные микроорганизмы:** микроорганизмы, не являющиеся причиной инфекционных заболеваний и токсикоинфекций, но используемые для косвенной оценки микробиологической безопасности продукта.

3.3 **Технически вредные микроорганизмы:** микроорганизмы, не влияющие на безопасность продукта, но оказывающие влияние на качество, вызывая микробиологическую порчу продуктов.

3.4 **Боксированное помещение [бокс]:** изолированное помещение с тамбуром (предбоксником), оборудованное соответствующим образом для обеспечения повышенной стерильности при проведении микробиологических анализов.

3.5 **«Заразная» зона:** помещение или группа помещений лаборатории, где проводятся работы с анализируемыми объектами и микробиологические анализы.

3.6 **«Чистая» зона:** помещение или группа помещений лаборатории, где не проводятся работы с анализируемыми объектами и микробиологические анализы.

3.7 **Питательные среды:** комплекс ростовых веществ, обеспечивающих размножение, рост и развитие определенных микроорганизмов.

3.8 **Сухие питательные среды:** порошкообразные или гранулированные питательные среды стандартного состава, предназначенные для приготовления рабочих питательных сред, промышленного производства, соответствующие утвержденным документам, а также зарубежного производства, имеющие разрешения уполномоченных органов на их применение.

3.9 **Рабочая питательная среда:** среда, подготовленная для выполнения микробиологических посевов.

3.10 **Плотная (твердая) питательная среда:** рабочая питательная среда, содержащая микробиологического агара более 0,8 %.

3.11 **Полужидкая (полутвердая) питательная среда:** рабочая питательная среда, содержащая микробиологического агара от 0,3 % до 0,8 %.

3.12 **Жидкая питательная среда:** рабочая питательная среда, содержащая микробиологического агара менее 0,3 %.

3.13 **Основная питательная среда (общего назначения):** среда, предназначенная для выращивания различных микроорганизмов.

3.14 **Элективная (накопительная) питательная среда:** среда, предназначенная для избирательного выделения и накопления микроорганизмов определенной группы (вида) из объектов, содержащих разнообразную микрофлору.

3.15 **Дифференциально-диагностическая питательная среда:** среда, предназначенная для разграничения отдельных групп (видов) микроорганизмов.

3.16 **Признак роста:** внешнее изменение питательной среды, свидетельствующее о росте и развитии микроорганизмов.

3.17 **Выборка:** совокупность единиц продукции, отобранной для контроля партии. Размер выборки определяется видом продукции, объемом партии, видом упаковочной тары (потребительская или транспортная).

3.18 **Объединенная проба:** проба, составленная из серии точечных проб, помещенных в одну емкость.

3.19 **Точечная проба:** проба, взятая из определенной части нештучной продукции (фляги, цистерны, монолит масла в ящике и т.д.).

3.20 **Ингибирующие вещества (ИВ):** вещества различной химической природы, оказывающие ингибирующее (подавляющее) действие на развитие микроорганизмов, в том числе заквасочных.

3.21 **Бактерии группы кишечных палочек** (БГКП, коли-формы) – бесспоровые, грамотрицательные, каталазоположительные, оксидазоотрицательные, аэробные и факультативно-анаэробные, чаще подвижные палочки с закругленными концами. БГКП являются представителями семейства энтеробактерий родов эшерихия, цитробактер, энтеробактер, клебсиелла, серратия, сбраживающих лактозу с образованием кислоты и газа.

3.22 **Общие колиформные бактерии (ОКБ):** грамотрицательные, оксидазоотрицательные, не образующие спор палочки, способные расти на дифференциальных лактозных средах, ферментирующие лактозу до кислоты, альдегида и газа при температуре (37±1) °С в течение 24-48 ч.

3.23 **Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ):** общие колиформные бактерии, ферментирующие лактозу до кислоты, альдегида и газа при температуре (44±1) °С в течение 24 ч.

3.24 **Стерилизация:** процесс термической обработки при температуре выше 100 °С, обеспечивающий полное уничтожение всех видов патогенных и сапрофитных микроорганизмов, включая их споры.

3.25 **Термизация:** процесс термической обработки молока и продуктов переработки молока, осуществляемый при температуре от 60 до 68 °С с выдержкой до 30 с, при сохранении активности щелочной фосфатазы молока.

3.26 **Пастеризация** (низкотемпературная, высокотемпературная): процесс термической обработки молока и продуктов переработки молока, осуществляемый при различных режимах (температура/время) в диапазоне температур от 63 до 120 °С с выдержкой в течение времени, обеспечивающей снижение количества любых патогенных микроорганизмов в молоке и продуктах его переработки до уровня, при котором они не наносят существенного вреда здоровью человека.

Низкотемпературная пастеризация проводится при температуре не выше 76 °С и сопровождается инактивацией щелочной фосфатазы.

Высокотемпературная пастеризация проводится при различных режимах (температура/время) в диапазоне температур от 77 до 120 °С и сопровождается инактивацией как щелочной фосфатазы, так и пероксидазы.

3.27 **Стерилизация продукта:** процесс термической обработки, осуществляемой в герметично укупоренной потребительской упаковке при температурах выше 120 °С с выдержкой, обеспечивающей соответствие продукции требованиям промышленной стерильности.

3.28 **Дезинфекция**: обработка материала каким-либо дезинфектантом с целью полного уничтожения патогенных микроорганизмов.

3.29 **Ферментированный продукт:** молочный или молочный составной, или молокосодержащий продукт, изготовленный сквашиванием молока и/или смесей молока с молочными и/или немолочными компонентами с использованием заквасочных микроорганизмов.

3.30 **Производственный контроль:** комплекс обязательных мероприятий, направленных на обеспечение контроля за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно-противоэпидемиологических (профилактических) мероприятий в целях обеспечения безопасности и/или безвредности для человека и среды обитания в процессе производства, хранения, транспортировки и реализации продукции и

товаров, при выполнении работ и оказании услуг, в том числе путем проведения лабораторных испытаний, исследований и измерений, осуществляемых индивидуальными предпринимателями и юридическими лицами.

3.31 **Программа производственного контроля:** документ предприятия-изготовителя, определяющий порядок и периодичность контроля сырья, производственного процесса, готового продукта и санитарно-гигиенического состояния производства.

3.32 **Нормальный (стандартный) контроль:** контроль санитарно-гигиенического состояния производства, сырья, производственного процесса и готовой продукции, обеспечивающий гарантию безопасности и качества выпускаемого продукта. Контроль нормируемых показателей проводится в определенных точках и с определенной периодичностью, внесенной в программу производственного контроля.

3.35 **Усиленный контроль:** контроль санитарно-гигиенического состояния производства, сырья, производственного процесса и готовой продукции проводится в случае:

- обнаружения превышения установленных требований микробиологической безопасности по одному или нескольким показателям относительно допустимых норм;
- при появлении специфических органолептических пороков готового продукта и для выявления возможных причин микробиологической порчи продукта;
- при изменении технологии производства или источников получения сырья;
- в случае возникновения нештатных ситуаций (аварий), способных привести к выпуску опасной для здоровья человека продукции.

При усиленном контроле может увеличиваться количество показателей и/или количество точек, подлежащих контролю, изменяться периодичность контроля (вплоть до сплошного).

3.36 **Входной контроль:** контроль основного и вспомогательного сырья, поступающего на предприятие, на соответствие показателям безопасности и качества, условиям и срокам хранения, заложенным в нормативные и/или технические документы на конкретный вид сырья.

3.37 **Выходной контроль:** контроль продукции при отгрузке ее потребителю на соответствие показателям безопасности и качества, заложенным в нормативные и/или технические документы на конкретный вид продукта.

Сокращения:

НВЧ – наиболее вероятное число клеток.

КМАФАнМ – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

Среда КМАФАнМ – среда для количественного определения мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

БГКП - бактерии группы кишечных палочек (коли-формы).

ГПС – глюкозопептонная среда.

ЛПС – лактозопептонная среда.

АЖФК – агар желчный фиолетово-красный.

БК – бактериальный концентрат.

БКЛ, БКП – моновидовые бактериальные концентраты лейконостоков и Lbc. plantarum.

БЗ – бактериальная закваска.

4 Требования к организации работы производственной лаборатории

Производственный контроль проводится в производственных лабораториях, имеющих разрешение на работу, выданное федеральными органами исполнительной власти в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Производственный контроль включает контроль санитарно-гигиенического состояния производства, контроль основного и вспомогательного сырья, производственного процесса и готовой продукции.

Схемы контроля различных групп молочных продуктов приведены в приложении А.

Производственные лаборатории молочных предприятий, осуществляющие работы с санитарно-показательными микроорганизмами, получают лицензию на деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных заболеваний IV группы патогенности или III-IV группы патогенности, в территориальных органах Роспотребнадзора.

В условиях производственных лабораторий контролю подлежат:

- санитарно-показательные микроорганизмы;
- технически вредная микрофлора, вызывающая микробиологическую порчу молочных продуктов;
- заквасочные микроорганизмы, в том числе пробиотические культуры, в частности, бифидобактерии, уровень развития которых контролируется при получении ферментированных молочных продуктов.

В производственных лабораториях, размещенных в одном производственном корпусе с основными цехами, не допускается проведение работ с условно-патогенными и патогенными микроорганизмами. Эти работы проводятся в лабораториях, лицензированных на соответствующий вид деятельности и аккредитованных в установленном порядке.

Нормы содержания и рекомендуемый порядок контроля условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, контролируемых в лабораториях, лицензированных на работу с патогенными микроорганизмами, представлены в приложении Б.

Руководитель производственной микробиологической лаборатории несет ответственность за разработку программы производственного контроля и ее выполнение.

4.1 Подготовка помещений для микробиологических исследований

Специфика микробиологических работ требует, чтобы помещение, отведенное под лабораторию, было изолировано от производственных помещений и, по возможности, располагалось в отдельно стоящем здании.

Состав, расположение и размеры помещений, выделяемых для производственной лаборатории, должны обеспечивать:

- безопасные условия труда;
- необходимый уровень защиты анализируемого объекта от загрязнения микроорганизмами из окружающей среды;
- охрану окружающей среды от загрязнения микрофлорой из анализируемых объектов и их посевов.

Лаборатория должна быть снабжена холодным и горячим водоснабжением, канализацией, приточно-вытяжной вентиляцией.

Помещения должны быть достаточными для обеспечения безопасного проведения работ. Рекомендуемый объем лабораторного помещения на одного работающего – не менее 15 $м^3$, площадь – не менее 4,5 $м^2$.

Внутренняя отделка помещений должна быть выполнена в соответствии с их функциональным назначением. Поверхность пола, стен, потолка в лабораторных помещениях должна быть гладкой, без щелей, легко обрабатываемой, устойчивой к действию моющих и дезинфицирующих средств, полы не должны быть скользкими.

Каждая комната должна иметь естественное и искусственное освещение.

Комнаты, мебель и оборудование должны быть промаркированы с указанием их назначения по зонам.

Лаборатория должна быть снабжена всеми нормативными, техническими и методическими документами в сфере их деятельности, общими инструкциями по технике безопасности и инструкциями по эксплуатации приборов.

Приборы, оборудование и средства измерений, используемые в работе лаборатории, должны быть исправны, аттестованы (прошедшие метрологическую экспертизу в установленные сроки) и иметь технический паспорт.

Лаборатория должна обеспечивать единство измерений (испытаний) с применением методов измерений (испытаний), аттестованных в соответствующем порядке.

Запрещается входить в лабораторию в верхней одежде и головных уборах, вносить и хранить посторонние предметы и вещи.

Работники микробиологической лаборатории должны находиться и работать в халатах и специальном головном уборе (косынке, шапочке и т.д.), сменной обуви. Запрещается использование лабораторной спецодежды вне лабораторных и производственных помещений. Спецодежда работников микробиологической лаборатории при необходимости должна быть продезинфицирована.

В помещениях лаборатории запрещается принимать пищу, курить.

Каждый работник лаборатории должен иметь постоянное рабочее место.

Помещения лаборатории должны быть разделены на «заразную» и «чистую» зоны.

В «чистой» зоне располагаются:

- помещение для спецодежды;
- помещение руководителя и/или комната для работы с документами;
- моечная, оборудованная для мытья посуды;
- помещение, оборудованное для приготовления питательных сред;
- стерилизационная;
- подсобные помещения для хранения реактивов, посуды, аппаратуры и хозяйственного инвентаря.

Помещение руководителя и/или комната для работы с документами – комнаты, оборудованные рабочими столами, компьютерами и т.д. В комнатах проводят работы по ведению журналов, сбору материалов, составлению отчетов и т.д.

Моечная должна быть оборудована:

- двухсекционной мойкой (одна секция – для замачивания грязной посуды, вторая – для мойки и ополаскивания) с подводкой горячей и холодной воды;
- столом или стеллажом для чистой посуды;

- столом или стеллажом для использованной посуды;
- шкафами для хранения чистой посуды;
- шкафами для хранения моющих средств и инвентаря;
- электрической (газовой) плиткой для кипячения посуды;
- бактерицидными лампами.

Примечание – Допускается использование посудомоечной машины.

Помещение для приготовления сред должно быть оборудовано:
- pH-метром;
- дистиллятором;
- весами;
- холодильником;
- плитами электрическими или газовыми;
- раковиной с подводкой горячей и холодной воды;
- столами для приготовления питательных сред;
- шкафами для хранения реактивов, сухих питательных сред, других необходимых материалов;
- посудой (колбы, воронки, мерные стаканы, ступки, кастрюли, бачки и т.д.);
- бактерицидными лампами.

Стерилизационная должна быть оборудована:
- стерилизаторами паровыми (автоклавами);
- стерилизаторами суховоздушными для стерилизации посуды (необязательное оборудование);
- сушильным шкафом для подсушивания стерильной посуды из автоклава;
- бактерицидными лампами;
- столом для нестерильного материала;
- столом для стерильного материала.

Подсобные помещения должны быть снабжены закрытыми шкафами для хранения реактивов, посуды, аппаратуры и хозяйственного инвентаря.

В «заразной» зоне располагаются:
- лабораторная(ые) комната(ы) для микробиологических исследований;
- боксированное помещение;
- автоклавная, оборудованная автоклавами для обеззараживания отработанного материала и зараженной посуды.

Примечание – В случае невозможности выделения отдельного помещения для автоклавной допускается его совмещение со стерилизационной, при условии наличия отдельного автоклава для обеззараживания и разделения потоков.

Не исключается возможность использования одного автоклава при условии принятия адекватных мер для разделения предметов, предназначенных для стерилизации и обеззараживания, и наличия документированной процедуры обработки автоклава.

Лабораторная(ые) комната(ы) предназначена для проведения анализов молока-сырья (определение редуктазной пробы, ингибирующих веществ, соматических клеток, сычужно-бродильной пробы и т.д.), закваски (определение газо- и ароматообразующей активности, приготовление микропрепарата и его микроскопирование) и т.д. и должна быть оборудована:

- раковиной с подводкой горячей и холодной воды;

- лабораторными столами для стационарной установки приборов: микроскопа, весов и другого оборудования;

- рабочими столами для проведения анализов, снабженными различными типами горелок;

- термостатами;

- электрической (газовой) плитой;

- холодильником;

- закрытыми шкафами для хранения стерильной посуды и готовых питательных сред;

- смесителями для приготовления десятичных разведений (необязательное оборудование);

- водяной баней (необязательное оборудование);

- микроволновой печью для расплавления сред (необязательное оборудование);

- бактерицидными лампами и/или другим оборудованием, обеспечивающим обеззараживание.

Боксированное помещение (бокс) предназначено для проведения микробиологических анализов (посевов), оно комплектуется из двух отделений: собственно бокса и предбоксника.

Предбоксник служит для одевания специальной санитарной одежды (халаты, колпаки или косынки, тапочки) и должен быть оснащен:

- столом для временного размещения вносимых материалов;

- вешалкой с плечиками;

- бактерицидными лампами.

Бокс должен быть оборудован:

- столом для проведения анализов;

- весами;

- бактерицидными лампами и/или другим оборудованием, обеспечивающим обеззараживание.

Допускается размещать шкафы для посуды и холодильники.

Боксированное помещение необходимо снабдить звуковым или световым сигналом для возможности оповещения при возникновении неординарных ситуаций.

При входе в лабораторию и боксированное помещение должен быть дезинфицирующий коврик.

При отсутствии специального бокса допускается проведение посевов в лабораторной комнате, которая предварительно должна быть обработана аналогично боксу или оборудована ламинарным шкафом.

Расчет необходимого количества бактерицидных ламп проводят с учетом их мощности, объема помещения, категории помещения в соответствии с требованиями Р 3.5.1904 и МУ 2.3.975.

Лабораторная мебель должна иметь покрытие, устойчивое к действию моющих и дезинфицирующих средств. Поверхность столов не должна иметь швов и трещин.

Перед началом работы рабочее место для проведения микробиологических анализов необходимо освободить от ненужных предметов и продезинфицировать (70 % этиловым спиртом). При смене характера работы также должна быть проведена уборка и дезинфекция рабочего места.

Стол, одежду и другие предметы, случайно загрязненные при выполнении работ анализируемым материалом, необходимо подвергнуть мойке и дезинфекции.

По окончании работ необходимо привести рабочее место в порядок и продезинфицировать.

Для поддержания в лабораторном помещении надлежащих санитарно-гигиенических условий текущая уборка помещений проводится ежедневно влажным способом после окончания рабочего дня: в «чистой» зоне лаборатории с применением моющих средств, в «заразной» зоне – с применением моющих и дезинфицирующих средств.

В боксированных помещениях проводится еженедельная генеральная уборка с применением дезинфицирующих средств путем протирания поверхностей и стен (на высоту до 2 м). После влажной уборки включают бактерицидные лампы или озонаторы, или применяют иные способы дезинфекции.

Стеклянные поверхности бактерицидных ламп протирают ветошью, смоченной спиртом, не реже 1 раза в неделю с соблюдением техники безопасности.

Внутреннее оконное остекление и рамы протирают и моют по мере загрязнения, но не реже одного раза в месяц, с наружной стороны – не реже двух раз в год (весной и осенью).

4.2 Подготовка посуды и материалов для микробиологических исследований

4.2.1 Мойку посуды необходимо проводить с использованием моющих средств, предназначенных для этих целей.

Всю новую посуду, предназначенную для бактериологических работ, перед использованием кипятят в подкисленной воде (раствор соляной кислоты объемной долей 1-2 %) в течение 15 мин, тщательно ополаскивают проточной водой.

Посуда с питательными средами после снятия результатов обеззараживается перед мойкой путем стерилизации в автоклаве при 121 °С в течение 30 мин. Посевы в пробирках можно обеззараживать кипячением в течение 1 ч.

Остатки агаровых питательных сред с посуды счищают в специальную емкость, снабженную крышкой. Освобожденную посуду ополаскивают и замачивают в растворе с моющим средством. После замачивания посуду тщательно моют и ополаскивают проточной водой.

Использованные пипетки вертикально погружаются в емкость (стакан) с дезинфицирующим раствором до уровня возможного микробного загрязнения.

Порядок мойки пипеток:

- освобождают от ватных тампонов;
- ополаскивают теплой водой для удаления остатков посевного материала;
- замачивают в моющем растворе на 20-30 мин (если внутри пипеток остались загрязненные места, их можно зачистить с помощью длинной проволоки с накрученной на конце ватой);
- сильно загрязненные пипетки погружают в хромовую смесь на 20-30 мин;
- тщательно ополаскивают проточной теплой водой.

4.2.2 Вымытую и высушенную посуду стерилизуют:

- **сухим жаром**. Стерилизация сухим жаром проводится в сушильном шкафу. Подготовленный к стерилизации материал кладут на полки так, чтобы он не соприкасался со стенками. Шкаф закрывают и после этого включают нагрев. Продолжительность стерилизации при температуре 150 °С – 2 ч; при 165 °С – 1 ч, при 180 °С –

40 мин, при 200 °С – 10-15 мин, считая с момента достижения указанной температуры. Стерильную посуду вынимают из стерилизационного шкафа после его охлаждения ниже 60 °С;

- паром под давлением. Лабораторную посуду и материалы, разрушающиеся при температуре выше 160 °С, стерилизуют в автоклаве при (121±1) °С в течение (30±1) мин с последующим подсушиванием.

Перерасчет давления, показываемого манометром автоклава, в температуру проводится по следующей шкале:

0,5 атм – 112 °С;
0,7 атм – 116 °С;
0,8 атм – 118 °С;
1,0 атм – 121 °С;
2,0 атм – 134 °С.

Чашки Петри, пипетки и др. посуду стерилизуют завернутыми в бумагу или в металлических и стеклянных пеналах.

Для обеспечения безопасности и «чистоты» посева в конец пипетки перед стерилизацией вкладывают кусочек ваты.

Резиновые пробки стерилизуют в автоклаве завернутыми в бумагу.

При отсутствии аппаратов для стерилизации посуду, пипетки и пробки (для определения редуктазы и сычужно-бродильной пробы) непосредственно перед испытанием кипятят в дистиллированной воде не менее 30 мин.

Стерильную посуду хранят или в плотно закрывающихся шкафах, или в бюксах не более 30 сут.

4.2.3 Подготовка и стерилизация посуды и материалов для смывов

Ватные или марлевые тампоны заворачивают каждый в отдельности в бумагу и стерилизуют.

Отдельно стерилизуют пробирки с 5 см^3 раствора хлористого натрия при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

Тампон может быть закреплен на проволоке или деревянной палочке, пропущенной через ватную пробку. В этом случае его вместе с пробкой вставляют в пробирку с 5 см^3 раствора хлористого натрия или 5 см^3 среды Кесслер таким образом, чтобы тампон не касался раствора, и стерилизуют при (121±1) °С в течение 20 мин.

4.2.4 Требования к обслуживанию автоклавов

Автоклавирование проводится персоналом, имеющим свидетельство об окончании специальных курсов.

Автоклав должен быть оборудован манометром. Манометры ежегодно поверяются в территориальных органах Ростехрегулирования. Ежеквартально работа манометров проверяется метрологической службой предприятия с соответствующей регистрацией результатов проверки в журнале.

Для контроля эффективности процесса стерилизации используют температурные индикаторы с диапазоном температур от 110 до 134 °С.

4.3 Приготовление растворов для разведений

4.3.1 Для приготовления разведений необходимо использовать термостойкие пробирки диаметром (21±2) мм, высотой (200±2) мм (П1-21-200ТС или П2-21-200ТС).

4.3.2 Подготовка воды (далее – вода)

4.3.2.1 Питьевую воду рекомендуется предварительно выдержать на свету в течение суток, прокипятить в открытом сосуде 30 мин и охладить до комнатной

температуры. Необходимо контролировать активную кислотность воды, которая должна составлять 7,2-7,6 ед. pH.

Подготовленную воду используют для приготовления питательных сред и растворов для разведений.

4.3.2.2 Использование дистиллированной воды для приготовления растворов, реактивов и питательных сред должно быть оговорено в каждом конкретном случае и сопровождаться обязательным контролем pH.

4.3.2.3 При использовании воды для приготовления разведений ее разливают в пробирки по 10 $см^3$ или в колбы по 93 $см^3$ и стерилизуют при температуре (121±1)° С в течение (20±1) мин.

4.3.3 Приготовление раствора хлористого натрия (физиологический раствор)

8,5 г хлористого натрия растворяют в 1 $дм^3$ воды, разливают раствор в пробирки по 10 $см^3$ или в колбы по 93 $см^3$ и стерилизуют при (121±2) °С в течение (20±1) мин. После стерилизации в пробирках должно остаться 9 $см^3$, а в колбах 90 $см^3$ раствора хлористого натрия.

4.3.4 Приготовление раствора фосфатного буфера

Сначала готовят концентрированный раствор фосфатного буфера. Для этого 34 г однозамещенного фосфорнокислого калия растворяют в 500 $см^3$ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1 $дм^3$. Доводят активную кислотность раствора до 7,2 ед. pH раствором гидроокиси натрия массовой концентрацией 20 % и добавляют дистиллированную воду в мерную колбу до объема 1 $дм^3$.

1,25 $см^3$ концентрированного раствора фосфатного буфера вносят в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$, доводят объем до метки дистиллированной водой. Затем разливают в пробирки по 10 $см^3$ или в колбы по 93 $см^3$ и стерилизуют при (121±2) °С в течение (15±1) мин.

4.3.5 Приготовление раствора лимоннокислого натрия (для разведений сыра)

20 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 (121±2) °С в течение (15±1) мин.

4.4 Приготовление растворов реактивов

4.4.1 Приготовление реактивов для окраски по Граму

4.4.1.1 Приготовление насыщенного спиртового раствора кристаллического фиолетового

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

4.4.1.2 Приготовление водно-спиртового раствора кристаллического фиолетового

1 $см^3$ насыщенного спиртового раствора кристаллического фиолетового по 4.4.1.1 растворяют в 10 $см^3$ дистиллированной воды.

4.4.1.3 Приготовление раствора Люголя

2 г йодида 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.

4.4.1.4 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 очень стойкий и может храниться долгое время в посуде из темного стекла с притертой пробкой.

4.4.1.5 Приготовление водно-спиртового раствора фуксина (раствора Пфейфера)

К 1 части карболового фуксина Циля приливают 9 частей дистиллированной воды. Раствор очень нестойкий, поэтому его готовят непосредственно перед использованием.

4.4.2 Приготовление реактивов из метиленового голубого

4.4.2.1 Приготовление основного спиртового раствора метиленового голубого для окрашивания микропрепаратов

10 г метиленового голубого смешивают со 100 $см^3$ 96 % раствора этилового спирта. Раствор ставят в термостат при температуре (37±1) °С на 24 ч, затем фильтруют в термостате при той же температуре.

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

4.4.2.2 Приготовление краски для препаратов

К 30 $см^3$ основного спиртового раствора метиленового голубого прибавляют 100 $см^3$ дистиллированной воды и 1 $см^3$ раствора гидроокиси калия с массовой концентрацией 10 $г/дм^3$.

4.4.3 Приготовление раствора резазурина для постановки редуктазной пробы и определения ингибирующих веществ

Основной раствор резазурино-натриевой соли готовят следующим образом: 0,1 г резазурино-натриевой соли переносят в мерную колбу вместимостью 200 $см^3$ и доводят до метки прокипяченной и охлажденной до (25±2) °С дистиллированной водой. Смесь тщательно перемешивают.

Срок хранения основного раствора не более 30 сут при температуре 8-10 °С.

Основной раствор резазурино-натриевой соли используется для приготовления рабочего раствора для постановки редуктазной пробы и при определении ингибирующих веществ.

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

Хранят рабочий раствор не более 3 сут при температуре 0-5 °С.

Основной и рабочий растворы хранят в светонепроницаемой посуде.

4.5 Приготовление растворов антибиотиков

Водные растворы антибиотиков готовят непосредственно перед использованием.

4.5.1 Приготовление раствора пенициллина

Во флакон с пенициллином, содержащим 500000 $ед/см^3$, добавляют от 5,0 до 7,0 $см^3$ стерильной дистиллированной воды, тщательно перемешивают для растворения. Содержимое флакона переносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят до метки стерильной дистиллированной водой при температуре от 35 до 40 °С. Получают раствор пенициллина, содержащий 5000 $ед/см^3$.

При использовании пенициллина другой активности делают соответствующий пересчет.

4.5.2 Приготовление раствора стрептомицина

0,4 г стрептомицина вносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, добавляют от 10 до 20 $см^3$ стерильной дистиллированной воды при температуре от 35 до 40 °С, перемешивают до растворения, затем доливают стерильной дистиллированной водой до метки. Массовая концентрация стрептомицина в растворе – 4,0 $г/дм^3$.

4.5.3 Приготовление раствора левомицетина (хлорамфеникол)

0,4 г левомицетина вносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, добавляют от 10 до 20 $см^3$ стерильной дистиллированной воды при температуре от 35 до 40 °С, перемешивают до растворения, затем доливают стерильной дистиллированной водой до метки. Массовая концентрация стрептомицина в растворе – 4,0 $г/дм^3$.

4.5.4 Приготовление раствора неомицина

0,5 г неомицина вносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, добавляют от 10 до 20 $см^3$ стерильной дистиллированной воды при температуре от 35 до 40 °С, перемешивают до растворения, затем доливают стерильной дистиллированной водой до метки. Массовая концентрация неомицина в растворе – 5,0 $г/дм^3$.

4.5.5 Приготовление растворов антибиотиков для учета бифидобактерий в смешанных культурах

4.5.5.1 Приготовление раствора неомицина

0,5 г неомицина (сульфата или основания) растворяют в 500 $см^3$ стерильной дистиллированной воды и кипятят в течение 2-3 мин. При использовании неомицина в таблетированной форме его предварительно тщательно растирают в профламбированной ступке. Массовая концентрация неомицина в растворе – 1,0 $г/дм^3$.

4.5.5.2 Приготовление раствора диклосациллина

0,025 г диклосациллина растворяют в 50 $см^3$ дистиллированной воды, полученный раствор стерилизуют фильтрацией. Срок хранения раствора - 15 сут при 4 °С.

4.5.6 Водные растворы антибиотиков добавляют к расплавленной и охлажденной до (46±1) °С питательной среде.

4.6 Питательные среды

4.6.1 Рабочие питательные среды для посевов готовят из сухих питательных сред путем их растворения в воде с последующей стерилизацией в соответствии с инструкцией по приготовлению, приведенной на этикетке или в сопроводительных документах.

Для приготовления рабочих питательных сред используют водопроводную или дистиллированную воду. Водопроводную воду рекомендуется готовить по 4.3.2.1. Использование дистиллированной воды оговаривается в соответствующих пунктах при приготовлении конкретной рабочей среды.

4.6.1.1 Определение активной кислотности (pH) питательных сред

Определение активной кислотности (pH) питательных сред проводят потенциометрическим методом с помощью анализатора потенциометрического для контроля pH по прилагаемым инструкциям.

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

4.6.1.2 Контроль качества рабочих питательных сред

Качество вновь приготовленных питательных сред проверяют путем параллельного посева одних и тех же проб на новую среду и ранее используемую. Результат считается удовлетворительным при получении данных одного порядка.

Контроль стерильности рабочих питательных сред осуществляют путем термостатирования пробы среды при 37 °С в течении 48 ч. Если после термостатирования на средах отсутствуют признаки роста, то среда считается стерильной.

4.6.1.3 Хранение рабочих питательных сред

Если особые условия хранения конкретной рабочей питательной среды не оговорены в инструкции по ее применению, то среды хранят в холодильнике не более 3 мес или при температуре 18-23 °С не более 1 мес при условии сохранения внешнего вида среды.

4.6.2 Основные питательные среды, необходимые для проведения производственного контроля

Для проведения микробиологического контроля необходимо располагать комплексом питательных сред, обеспечивающим контроль всех значимых групп микроорганизмов. Выбор питательной среды для контроля конкретной группы микроорганизмов определяется специалистами предприятия, проводящими микробиологический контроль и отвечающими за безопасность и качество выпускаемой продукции.

Основное требование, предъявляемое к питательным средам, – обеспечение ростовых характеристик и специфичности на уровне арбитражных сред, т.е. сред, использование которых регламентировано нормативными документами (национальными стандартами).

4.6.2.1 Среда КМАФАнМ – плотная основная среда для определения общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

Приготовление

(50±5) г сухой среды вносят в (1000±50) $см^3$ холодной воды. Смесь тщательно перемешивают, кипятят 3-5 мин, не допуская пригорания, и фильтруют через ватно-марлевый фильтр (при наличии осадка). В полученной среде проверяют активную кислотность и при необходимости корректируют ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной кислоты до pH (7,3±0,1) ед. Среду вновь доводят до кипения, разливают в колбы или пробирки, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре (121±2) °С в течение (15±1) мин.

Готовую питательную среду проверяют на стерильность. Отсутствие изменений в питательной среде после выдержки 72 ч при (30±1) °С свидетельствует о стерильности питательной среды.

Использование

Рабочую среду непосредственно перед применением расплавляют, помещая посуду со средой в водяную баню. Расплавленную среду осторожно охлаждают до температуры 40-45 °С, не допуская вспенивания. В чашку Петри питательную среду вносят в количестве, необходимом для создания слоя среды не менее 2 мм (обычно требуется 10-15 $см^3$ агаровой среды).

О наличии роста судят по появлению на питательной среде видимых колоний микроорганизмов.

Рекомендации к применению

Среда используется для оценки санитарно-гигиенического состояния молока и молочных продуктов, материалов и компонентов, воды, оборудования, воздуха.

Изменяя условия культивирования на среде КМАФАнМ, определяют следующие группы микроорганизмов:

- общее количество мезофильных микроорганизмов (режимы культивирования: температура – 29-31 °С, продолжительность – 72 ч);
- общее количество термофильных микроорганизмов (режимы культивирования: температура – 42-45 °С, продолжительность – 72 ч);
- общее количество психротрофных микроорганизмов (режимы культивирования: температура – 7 °С, продолжительность – 7-10 сут).

Среда может быть использована для определения:

- липолитических микроорганизмов (режимы культивирования: температура – 20-23 °С, продолжительность – 5-6 сут).

Для определения липолитических микроорганизмов среду КМАФАнМ используют в качестве основы, при этом предварительно на дно чашки Петри наливают стерильный расплавленный говяжий жир до образования сплошного тонкого слоя. Колонии липолитических бактерий, разлагающих жир, образуют на среде зоны просветления;

- протеолитических микроорганизмов (режимы культивирования: температура – 30 °С, продолжительность – 48 ч).

Для определения протеолитических микроорганизмов среду КМАФАнМ используют в качестве основы, при этом предварительно на дно чашки Петри наливают 1 $см^3$ стерильного обезжиренного молока. Колонии протеолитических бактерий, разлагающих белок, образуют на среде зоны просветления;

- споровых аэробных микроорганизмов (режимы культивирования: температура – 30 °С, продолжительность – 48-72 ч).

Для определения споровых аэробных микроорганизмов необходимо перед посевом прогреть посевной материал или соответствующие разведения при температуре 87 °С в течение 10 мин;

- молочнокислых микроорганизмов в кисломолочных продуктах и закваске;
- ароматообразующих (цитратсбраживающих) заквасочных микроорганизмов (режимы культивирования: температура – 30 °С, продолжительность – 48-72 ч).

Для определения ароматообразующих (цитратсбраживающих) заквасочных микроорганизмов к 1 $дм^3$ среды КМАФАнМ перед стерилизацией добавляют 10 г цитрата кальция. После термостатирования вокруг колоний ароматообразующих заквасочных микроорганизмов образуются зоны просветления.

4.6.2.2 Среда Кесслер для определения БГКП

А Жидкая среда Кесслер

Приготовление

16 г сухой среды Кесслер растворяют в 1 $дм^3$ питьевой водой. Смесь размешивают и кипятят при помешивании 2-5 мин. Разливают в пробирки с поплавками по 5 $см^3$ или колбочки с поплавками по 40-50 $см^3$ и стерилизуют при (121±1) °С в течение (11±1) мин. Готовая для применения среда должна иметь темно-фиолетовый цвет. Допускается наличие небольшого осадка.

Признаком роста является наличие газа, образование которого в поплавке определяется визуально.

Рекомендации к применению

Используется для индикации и количественного учета БГКП в молоке и молочных продуктах по ГОСТ 9225, в смывах с оборудования, рук и халатов персонала, во время приемо-сдаточных испытаний.

Б Плотная среда Кесслер

Приготовление

16 г сухой среды Кесслер и 8 г агара помещают в колбу и вносят 1 $дм^3$ воды. Смесь размешивают и кипятят при перемешивании 2-5 мин до полного расплавления агара. Расплавленную среду разливают по 7-8 $см^3$ по пробиркам и стерилизуют при (121±1) °С в течение (11±1) мин.

Признаком роста является наличие газа, образование которого определяется визуально по разрывам столбика со средой.

Рекомендации к применению

Используется для индикации и количественного учета **БГКП** в молоке и молочных продуктах, в смывах с оборудования, рук и халатов персонала при внутрипроизводственном контроле при отсутствии поплавков, необходимых для посева на жидкую среду Кесслер.

4.6.2.3 Среда Кода – жидкая элективная среда для определения БГКП в объектах окружающей среды.

Приготовление

30 г сухой среды растворяют в 1 $дм^3$ воды. В полученной среде проверяют активную кислотность и при необходимости корректируют ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной кислоты до 7,4-7,6 ед. pH. Среду кипятят 5 мин при постоянном перемешивании. Готовую среду разливают в стерильные пробирки по 5 $см^3$.

Цвет среды должен быть зеленым.

Признаком роста лактозоположительных энтеробактерий (БГКП) является **изменение цвета среды с темно-зеленого до ярко-желтого;** лактозоотрицательных энтеробактерий (шигелл, сальмонелл) – **помутнение среды без изменения цвета.**

Рекомендации к применению

Среда применяется при контроле санитарно-гигиенического состояния производства и определении БГКП в смывах.

4.6.2.4 Глюкозопептонная среда (ГПС) или лактозопептонная среда (ЛПС) – жидкие элективные среды для определения БГКП в воде.

Приготовление

Среду готовят двух видов: концентрированную и нормальную.

Концентрированная среда

К 20 г сухой среды при постоянном перемешивании добавляют 100 $см^3$ воды с температурой 90-95 °С. Контролируют активную кислотность готовой питательной среды и в случае необходимости корректируют ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной кислоты до величины 7,2-7,6 ед. pH. Готовую среду разливают по 10 $см^3$ в колбы и по 1 $см^3$ в пробирки с ватными пробками или тампонами.

Среда нормальной концентрации

К 10 $см^3$ концентрированной питательной среды добавляют 90 $см^3$ воды. Готовую среду разливают по 10 $см^3$ в пробирки с поплавками или комочками ваты.

Среды стерилизуют в автоклаве при 112 °С (0,5 атм) в течение 12 мин.

Признаками роста БГКП является помутнение, газообразование и изменение окраски сред с буровато-зеленой (для концентрированной) или голубой (среда нормальной концентрации) на желтую.

Рекомендации к применению

Среды служат для определения БГКП в воде в соответствии с ГОСТ Р 51232, ГОСТ 18963 и МУК 4.2.1018.

4.6.2.5 Среда АЖФК (агар желчный фиолетово-красный) – плотная элективная среда для количественного определения БГКП в молоке и молочных продуктах.

Приготовление

35 г сухой среды 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 среды, разлитой в пробирки или флаконы, прокипяченной в водяной бане или пастеризованной текучим паром в автоклаве (30,0±0,5) мин, в течение 7 сут.

Перед выполнением анализа среду расплавляют на водяной бане (или пользуются свежеприготовленной средой), охлаждают до (50,0±0,5) °С и разливают в стерильные чашки Петри примерно по (11±1) $см^3$, чтобы дно чашки было покрыто равномерно. Чашки оставляют полуоткрытыми на (60±5) мин для подсушивания. Затем их закрывают, маркируют и используют среду для анализа.

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

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

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

Рекомендации к применению

Среда применяется для количественного учета КОЕ БГКП и визуальной оценки характера образующихся колоний.

Среда рекомендуется при проведении контроля производственного процесса выработки сыров и сырных продуктов.

4.6.2.6 Среда Эндо – плотная дифференциально-диагностическая среда для дифференциального определения и идентификации БГКП при контроле санитарного состояния производства и качества готового продукта на предприятиях пищевой промышленности.

Приготовление

40 г сухой среды вносят в 1 $дм^3$ дистиллированной воды, тщательно размешивают, затем нагревают и кипятят в течение 3-5 мин, не допуская пригорания. После охлаждения до 40-50 °С среду разливают в стерильные чашки Петри и подсушивают в термостате.

Рекомендации к применению

Посев на среду проводят исключительно с накопительных сред (Кесслер, Кода, ГПС, ЛПС), давших признаки роста БГКП.

По характеру колоний на среде Эндо судят о принадлежности микроорганизмов, давших рост на накопительных питательных средах, к лактозоположительным или лактозоотрицательным энтеробактериям.

Характерным ростом для БГКП является образование красных или темно-красных колоний с металлическим блеском.

4.6.2.7 Среда агаровая для определения дрожжей и плесеней – плотная элективная среда для определения дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочных продуктах, а также для микробиологического контроля санитарного состояния производства.

Приготовление

60 г сухой среды вносят в 1 $дм^3$ дистиллированной воды, нагревают до полного растворения, при наличии осадка фильтруют. В полученной среде проверяют активную кислотность и при необходимости корректируют ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной кислоты до 4,6-4,7 ед. pH, разливают в пробирки и стерилизуют 15 мин при температуре 121 °С.

Чашки выдерживают при температуре 20-23° С в течение 3-5 сут. Подсчитывают отдельно типичные колонии дрожжей и плесеней.

Рекомендации к применению

Среду можно применять без антибиотиков. Дрожжи на этой среде формируют блестящие, чаще белые, колонии круглой формы с гладкой поверхностью и ровным краем. Рост плесневых грибов сопровождается образованием мицелия. Молочнокислые микроорганизмы из-за низкого содержания азотистых соединений в среде и низкого уровня pH могут давать точечные колонии в виде пыли, не подлежащие учету.

4.6.2.8 Среда Сабуро – плотная питательная среда основного характера для анализа консервов на стерильность и определения дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочных продуктах.

Приготовление

70 г сухой среды вносят в 1 $дм^3$ дистиллированной воды и оставляют на 30 мин для набухания. Среду нагревают до расплавления агара. В полученной среде проверяют активную кислотность и при необходимости корректируют ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной кислоты до (5,8±0,1) ед. pH, разливают в колбы и стерилизуют 30 мин при 112 °С (0,5 атм).

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

Рекомендации к применению

При анализе продуктов на стерильность среда используется без применения антибиотиков, а для определения дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочных продуктах – с обязательным использованием антибиотиков.

Для повышения селективности сред, используемых для определения дрожжей и плесеней по 4.6.2.7 и 4.6.2.8, к средам добавляют антибиотики, приготовленные согласно 4.5, в объемах, указанных в таблице 1.

Таблица 1 – Схема добавления антибиотиков в питательные среды

Объем питательной среды, $см^3$	Объем добавляемых к среде растворов антибиотиков, $см^3$			
	пенициллина	стрептомицина	неомицина	левомицетина
980	10	10	–	–
930	–	–	70	–
975	–	–	–	25

Водные растворы антибиотиков вносят перед использованием в расплавленную и охлажденную до (46±1) °С питательную среду.

4.6.2.9 Среда СДА – полужидкая среда основного характера для определения общего количества спор мезофильных анаэробных бактерий при контроле молока, сухого молока, при исследовании сыров.

Приготовление

(50±5) г сухой среды вносят в 1 $дм^3$ воды, тщательно перемешивают, нагревают и кипятят 3-5 мин, не допуская пригорания. В полученной среде проверяют активную кислотность и при необходимости корректируют ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной или соляной кислоты до значения (7,3±0,1) ед. pH. Готовую среду разливают в пробирки по (12±1) $см^3$, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре (121±2)° С в течение (15±1) мин.

Признаками роста являются изменение окраски среды с красной на желтую и образование газа.

Рекомендации к применению

При посеве избегают взбалтывания среды и попадания внутрь среды воздуха для обеспечения анаэробных условий.

4.6.2.10 Среда ЛАССА – полужидкая дифференциально-диагностическая среда для определения спор и вегетативных клеток лактатсбраживающих маслянокислых бактерий.

Приготовление

(50±5) г сухой среды вносят в 1 $дм^3$ воды, тщательно перемешивают, нагревают и кипятят 3-5 мин, не допуская пригорания. В полученной среде проверяют активную кислотность и при необходимости корректируют ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной кислоты до значения (5,7±0,1) ед. pH. Готовую среду разливают в пробирки по (12±1) $см^3$, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре (121±2) °С в течение (15±1) мин.

Признаками роста являются изменение окраски среды с малиновой на соломенно-желтую и газообразование.

Рекомендации к применению

При посеве избегают взбалтывания среды и попадания внутрь среды воздуха для обеспечения анаэробных условий.

4.6.2.11 Среда для определения бифидобактерий – плотная питательная среда основного характера для определения бифидобактерий в ферментированных молочных продуктах, бифидосодержащих бактериальных концентратах и закваске.

Приготовление

(50±5) г сухой среды вносят в 1 $дм^3$ холодной воды, тщательно перемешивают, нагревают, не допуская пригорания, и кипятят 3-5 мин. В полученной среде проверяют активную кислотность и при необходимости корректируют ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной кислоты до значения (7,4±0,2) ед. pH. Среду разливают в пробирки по 20 $см^3$, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре (121±2) °С в течение (15±1) мин.

Непосредственно перед применением пробирки с рабочей средой нагревают в водяной бане до кипения и выдерживают в течение (25±5) мин. По окончании тепловой обработки среду быстро охлаждают до температуры 40-45 °С. Посевы культивируют (72±2) ч при температуре (37±1) °С.

Рекомендации к применению

Среда предназначена для определения бифидобактерий в ферментированных молочных продуктах, содержащих наряду с бифидобактериями молочнокислые микроорганизмы. Поэтому при проведении посева необходимо создавать анаэробные условия, проводя посев «в высокий столбик», и избегать взбалтывания среды и попадания внутрь столбика среды воздуха из пипетки.

Бифидобактерии на данной среде образуют непрозрачные белесые колонии в виде «дисков» или «гречишных зерен».

При определении бифидобактерий в продуктах со смешанной микрофлорой в готовые среды перед расплавлением рекомендуется вносить на 20 $см^3$ среды 0,2 $см^3$ раствора неомицина, приготовленного по 4.5.5.

4.6.2.12 Среда для культивирования бифидобактерий – полутвердая среда основного характера для культивирования бифидобактерий и дальнейшего их использования при производстве ферментированных молочных продуктов.

Приготовление

50 г сухой среды вносят в 1 $дм^3$ воды. Среду тщательно перемешивают, нагревают, не допуская пригорания, кипятят 3-5 мин. В полученной среде проверяют активную кислотность и при необходимости корректируют ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной кислоты до значения (7,4±0,2) ед. pH. Среду разливают в пробирки или колбы, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре (121±2) °С в течение (15±1) мин.

Непосредственно перед применением пробирки или колбы со средой нагревают в водяной бане до кипения и выдерживают в течение (25±5) мин. По окончании тепловой обработки среду охлаждают до (45±2) °С.

Посевы культивируют (48±2) ч при температуре (37±1) °С.

Рекомендации к применению

При посеве избегают взбалтывания среды и попадания внутрь среды воздуха для обеспечения анаэробных условий.

Признаками роста бифидобактерий являются образование колоний в виде «комет», «гвоздиков», «кучевых облаков» различной степени четкости.

4.6.2.13 Водный агар

Приготовление

20 г микробиологического агара вносят в 1 $дм^3$ воды. Среду тщательно перемешивают, нагревают, не допуская пригорания, кипятят 3-5 мин. Среду разливают в пробирки или колбы, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре (121±2) °С в течение (11±1) мин.

Рекомендации к применению

Применяют при определении микроорганизмов, обладающих протеолитической активностью, а также для создания анаэробных условий при определении споровых анаэробных микроорганизмов.

4.6.2.14 Стерильное обезжиренное молоко

Приготовление

Обезжиренное молоко разливают в пробирки по 10 $см^3$ (возможно использование 10 % восстановленного обезжиренного молока), закрывают ватными пробками и стерилизуют при (121±2) °С в течение (11±1) мин.

Рекомендации к применению

Применяют при определении молочнокислых микроорганизмов, а также микроорганизмов, обладающих протеолитической активностью.

4.6.2.15 Среда для определения цитратсбраживающих ароматообразующих микроорганизмов – плотная питательная среда на основе среды КМАФАнМ, предназначенная для количественного определения цитратсбраживающих ароматообразующих микроорганизмов.

Приготовление

(50±5) г сухой среды КМАФАнМ вносят в (1000±50) $см^3$ воды. Смесь тщательно перемешивают, затем нагревают и кипятят 3-5 мин, не допуская пригорания. При наличии осадка фильтруют через ватно-марлевый фильтр. В полученной среде проверяют активную кислотность и при необходимости корректируют ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной кислоты до значения (7,3±0,1) ед. pH. В расплавленную среду добавляют 10 г цитрата кальция, предварительно хорошо растертого в ступке. Среду, периодически перемешивая до равномерного распределения осадка, разливают в пробирки, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре (121±2) °С в течение (15±1) мин.

Рекомендации к применению

Применяют при определении цитратсбраживающих ароматообразущих молочнокислых микроорганизмов закваски, БК и ферментированных молочных продуктов. При определении ароматообразующих микроорганизмов вокруг их колоний образуются зоны просветления.

4.6.2.16 Молочно-солевой агар – плотная питательная среда, предназначенная для определения солеустойчивых микроорганизмов.

Приготовление

115 г сухой основы вносят в 1 $дм^3$ дистиллированной воды. Смесь тщательно перемешивают, кипятят 3-5 мин, не допуская пригорания. В полученной среде проверяют активную кислотность и при необходимости устанавливают её 20-30 % раствором гидроокиси натрия или 20 % раствором молочной кислоты на уровне (7,2±0,1) ед. pH. Среду разливают мерно в колбы, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре (121±2) °С в течение (20±1) мин.

Использование рабочей среды: перед посевом к расплавленной и охлажденной до (45±1) °С среде добавляют 10 % (по объёму) стерильного обезжиренного молока, хорошо перемешивают и разливают по 15-20 $см^3$ среды в чашки Петри. Чашки могут храниться в холодильнике не более 5 сут.

Рекомендации к применению

Применяют при выявлении солеустойчивых микроорганизмов, включающих микрококки, стафилококки, энтерококки, споровые аэробные палочки.

Для выделения среди солеустойчивой микрофлоры микрококков и стафилококков (каталазоположительные кокки, расположенные поодиночке, парами, неправильными скоплениями) необходимо:

- выполнить пробу на каталазу по 6.3;
- приготовить микропрепарат по 6.4.1.

При выявлении на молочно-солевом агаре каталазоположительных кокков, дающих при рассмотрении микропрепаратов типичную картину для стафилококков, количество которых превышает допустимую норму, определяемую для сырья, продукта или рассола, необходимо:

- в молоке-сырье (10^5 КОЕ/$см^3$) – искать источник стафилококковой инфекции (мастит);
- в рассоле ($5 \cdot 10^4$ КОЕ/$см^3$) – проводить термическую или иную обработку рассола;
- в готовом продукте – отдавать в специализированную лабораторию для определения коагулазоположительных стафилококков.

4.6.2.17 Среда для определения пропионовокислых бактерий – плотная питательная среда, предназначенная для количественного определения пропионовокислых бактерий.

Приготовление

В (1000±50) $см^3$ воды вносят 30 г пептона, 1 г дрожжевого автолизата, 20 г агара. Смесь тщательно перемешивают, затем нагревают и кипятят до расплавления агара, не допуская пригорания. Добавляют 20 $см^3$ 40 % молочной кислоты. В полученной среде проверяют активную кислотность и доводят ее 20-30 % раствором гидроокиси натрия до значения (7,1±0,1) ед. pH. Среду перемешивают, разливают в пробирки, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре (121±2) °С в течение (15±1) мин.

Рекомендации к применению

Применяют при определении пропионовокислых бактерий в производственной закваске, БК и ферментированных молочных продуктах. **Пропионовокислые бактерии при росте на этой среде дают кремовые колонии в виде «дисков» и «гречишных зерен».**

5 Отбор проб, подготовка их к анализу, приготовление разведений и выполнение посевов

5.1 Отбор проб. Общие правила

Отбор проб молока и продуктов его переработки для микробиологического анализа проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 9225 и ГОСТ 26668.

Контроль осуществляют путем анализа пробы, отобранной из трех единиц транспортной тары или из потребительской тары с продукцией, попавшей в выборку. Для контроля продукции в потребительской таре из партии продукции выделяют по одной единице потребительской тары (для сыра – по одной головке, для стерилизованной продукции – 5 единиц потребительской тары). При этом масса отбираемой средней пробы должна быть не менее 100 г для сгущенных, полутвердых, твердых и сыпучих продуктов или не менее 100 $см^3$ для жидких продуктов.

Контроль продукции в цистернах и флягах (молоко-сырье, сливки-сырье и т.д.) осуществляют путем анализа объединенной пробы, составленной для каждой партии продукции. Партией считают молоко или сливки от одного хозяйства, одного сорта, в однородной таре и оформленные одним документом, удостоверяющим качество и безопасность продукции. Для молока или сливок в цистернах партией считают каждую цистерну или ее секцию (отсек).

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.

Пробы отбирают 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.

Перед вскрытием тары с продукцией крышки фляг, цистерн, банок и т.д. очищают от загрязнений, промывают и протирают.

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 продезинфицированы.

Отбор проб проводится с соблюдением вышеуказанных правил из точек, определенных программой производственного контроля, и в соответствии со схемами микробиологического контроля производства продуктов переработки молока (**приложение А**).

Основанием для выбора точек, в которых осуществляют отбор проб для проведения лабораторных исследований и испытаний, определение периодичности их отбора являются санитарные правила, гигиенические нормативы и данные санитарно-эпидемиологической оценки производства.

5.2 Отбор проб готовой продукции

Отбор проб готовой продукции для микробиологического анализа проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 9225. При этом правила приемки и общие правила отбора проб должны соответствовать требованиям ГОСТ 13928, ГОСТ 26809, ГОСТ 3622.

Пробы для микробиологических испытаний от продукции, попавшей в выборку, составленную согласно таблице 2, отбирают до отбора проб, предназначенных для органолептических и физико-химических анализов.

Таблица 2 – Число единиц тары с продукцией в выборке для проведения отбора проб молока и продуктов его переработки

Наименование продукта	Число транспортной тары, единиц	
	в партии	в выборке
Молоко, сливки, кисломолочные и сквашенные продукты (жидкие), сметана:		
в потребительской таре	до 100	2
	от 101 до 200	3
	от 201 до 500	4
	от 501 и более	5
в транспортной таре (кроме сметаны)	независимо от размера, но не менее 20	5 %
	менее 20	1
Творог, творожные изделия, альбуминные и сырные пасты, сыр домашний		
в потребительской таре	до 50	2
	от 51 до 100	3
	от 101 до 200	4
	от 201 до 300	5
	от 301 и более	6
в транспортной таре (включая сметану)	независимо от размера, но не менее 10	10 %
	менее 10	1
Масло из коровьего молока, масляная паста, молочный жир, спреды и смеси топленые, сливки пластические (в потребительской и транспортной таре)	независимо от размера, но не менее 20	5 %
	менее 20	1
Сыр и сырные продукты, включая плавленые (в потребительской и транспортной таре)	до 5	1
	от 6 до 15	2
	от 16 до 25	3
	от 26 до 40	4
	от 41 до 60	5
	от 61 до 85	6
	от 86 до 100	7
	от 101 и более	5 %, но не менее 7

Наименование продукта	Число транспортной тары, единиц	
	в партии	в выборке
Сгущенные и сухие продукты переработки молока, стерилизованное масло:		
в потребительской таре	независимо от размера	3 %, но не менее 2
в транспортной таре	независимо от размера	3 %, но не менее 2, для сухих продуктов – не менее 3
Молочный сахар, казеин, сухая альбуминная масса (транспортная тара)	до 10	1
	от 11 до 20	3
	от 21 до 60	6
	от 61 и более	10 %, но не менее 6

Продукты в потребительской таре

Для анализа продукции по микробиологическим показателям используют в качестве пробы для анализа по одной единице потребительской тары с продукцией.

Если масса нетто одной единицы потребительской тары менее массы пробы, необходимой для проведения микробиологических испытаний, то количество единиц потребительской тары увеличивают до достижения необходимой массы или объема пробы.

Молоко и сливки сырье

Объединенную пробу в размере 0,5 или 0,25 $дм^3$ молока-сырья составляют из точечных проб, отобранных из каждой фляги или цистерны после органолептической оценки молока и рассортировки его методом предельной кислотности по ГОСТ 3624. Для проведения редуктазной пробы из объединенной пробы молока выделяют пробу объемом 50-60 $см^3$.

Объединенную пробу сливок-сырья в размере 0,5 или 0,25 $дм^3$ составляют из точечных проб, отобранных из каждой фляги или цистерны после органолептической оценки и определения кислотности титриметрическим методом по ГОСТ 3624.

Молоко и сливки пастеризованные, кисломолочные и сквашенные продукты (жидкие)

От продукции в транспортной таре, попавшей в выборку, стерильным черпаком или мутовкой после тщательного перемешивания отбирают 50-60 $см^3$ продукта в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой.

Продукцию в потребительской таре (бутылках, пакетах и т.д.) перед отбором проб перемешивают пятикратным переворачиванием. Продукцию, которую нет возможности перемешать вышеописанным способом, следует перемешивать после вскрытия упаковочной единицы 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.

Творог, творожные изделия, альбуминные и сырные пасты, домашний сыр

В продукции, попавшей в выборку в транспортной таре, 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 3/4 его длины. Из столбика продукта на щупе отбирают стерильным шпателем не менее 15-20 г продукта и помещают в стерильную посуду, которую закрывают стерильной пробкой.

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

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

От продукции, попавшей в выборку в транспортной таре, пробу отбирают стерильным щупом на расстоянии 3-5 см от края, направляя щуп к противоположной стороне и опуская на 3/4 его длины.

Из столбика масла на щупе отбирают стерильным шпателем 15-20 г продукта и помещают в стерильную посуду. Оставшийся после отбора пробы столбик продукта на щупе возвращают на прежнее место, а поверхность масла аккуратно заделывают.

От продукции, попавшей в выборку в потребительской таре, отбирают для анализа стерильным шпателем 15-20 г (включая поверхностный слой).

Отобранную пробу помещают в стерильную посуду, которую закрывают стерильной пробкой.

Сыр и сырные продукты

В продукции, попавшей в выборку, в намеченном месте отбора пробы поверхность сыра прижигают нагретым ножом или шпателем. Стерильный щуп вводят наклонно в середину головки на 3/4 его длины. Из столбика сыра на щупе отбирают стерильным шпателем 15-20 г сыра и помещают в стерильную посуду с притертой или ватной пробкой или стерильную чашку Петри с крышкой. Верхнюю часть столбика сыра со щупа возвращают на прежнее место, поверхность сыра заливают подогретым до (110±10) °С парафином или иным разрешенным для контакта с молочными продуктами материалом или оплавляют нагретым шпателем.

Сыр и сырные продукты, созревающие в полимерных материалах, после отбора проб подлежат повторному упаковыванию.

Сыр плавленый и плавленые сырные продукты

От продукции, попавшей в выборку, из разных мест продукта (включая поверхностный слой) стерильным шпателем или ланцетом отбирают на анализ 15-20 г продукта и помещают в стерильную посуду, которую стерильно закрывают.

Сгущенные продукты

От продукции в транспортной таре, попавшей в выборку, стерильной трубкой или черпаком отбирают на анализ 40-50 г продукта в стерильную посуду, которую стерильно закрывают.

От сгущенных молочных продуктов в потребительской таре пробу отбирают стерильным пробником, щупом или ложкой после вскрытия тары.

Сухие продукты

От продукции в транспортной таре, попавшей в выборку, отбирают на анализ 40-50 г продукта в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или пробкой.

От сухих молочных продуктов в потребительской таре после ее вскрытия отбирают стерильным пробником, щупом или ложкой 40-50 г продукта, помещают в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или пробкой.

Стерилизованные продукты

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

5.3 Маркирование, хранение и транспортирование проб

Посуду с пробой, отобранной при контроле технологического процесса, маркируют с указанием:

- места отбора проб;
- наименования сырья, полуфабриката, продукта;
- номера пробы;
- дня (часа) отбора пробы.

Пробы, предназначенные для контроля на предприятии, маркируют с указанием:

- поставщика (при контроле молочного сырья);
- наименования продукта;
- номера пробы;
- дня (часа) отбора пробы.

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

- номер пробы;
- наименование предприятия-изготовителя;
- наименование и сорт продукта (при наличии);
- номер и объем партии;
- дату и час выработки продукта с момента окончания технологического процесса;
- дату и час отбора проб;
- должность и подпись лица, отобравшего пробу;
- объем необходимых анализов;
- обозначение документа, в соответствии с которым изготовлен и может быть идентифицирован продукт.

Микробиологические анализы продукта проводят не более чем через 4 ч с момента отбора проб.

Пробы должны храниться и транспортироваться до начала исследования в условиях, обеспечивающих температуру продуктов не выше 6 °С, не допуская подмораживания.

Пробы замороженных продуктов хранятся и транспортируются при минусовых температурах в соответствии с условиями хранения конкретного продукта.

Отобранные пробы регистрируются в рабочих журналах перед подготовкой проб к анализу.

5.4 Подготовка проб к анализу

Молоко и сливки сырье

Отобранные пробы перед исследованием тщательно перемешивают.

Молоко, сливки, сметана

Отобранные пробы перед исследованием тщательно перемешивают.

Кисломолочные и сквашенные продукты, закваски

Отобранные пробы перед исследованием тщательно перемешивают и нейтрализуют. Для этого отбирают стерильной пипеткой 10 $см^3$ исследуемого продукта или закваски в стерильную пробирку или колбочку и добавляют 1 $см^3$ стерильного раствора двууглекислого натрия с массовой концентрацией 100 $г/дм^3$, содержимое перемешивают.

Творог, творожные изделия, сыр и сырные продукты, в т.ч. плавленые, альбуминные и сырные пасты, домашний сыр

10 г продукта взвешивают на стерильном часовом стекле, чашке Петри, в бюксе, переносят в стерильную ступку, прикрытую крышкой от чашки Петри, и тщательно растирают.

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

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

Сгущенные продукты

Банки с продуктом и крышки фляг тщательно промывают щеткой в чисто теплой воде и вытирают.

Перед вскрытием крышку банки, пробку бочки и часть днища вокруг пробки фламбируют.

Открывают банки стерильным консервным ножом, а пробку бочки – пробойником. После вскрытия отверстия банки и бочки немедленно закрывают стерильным пергаментом, профламбированной жестяной крышкой или крышкой чашки Петри. Содержимое банки тщательно перемешивают стерильной ложкой. Затем взвешивают стерильную сухую колбу или другую стерильную посуду и в нее отвешивают 10 г продукта.

Сухие продукты

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

5.5 Приготовление разведений продуктов для посева

Перед посевом готовят десятикратные разведения продукта в стерильных растворах хлористого натрия по 4.3.3, лимоннокислого натрия (для сыров) по 4.3.5, фосфатного буфера по 4.3.4 или воды по 4.3.2.2.

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

Из проб молока, сливок, сквашенных напитков из пахты и сыворотки или других продуктов, отбираемых по объему, берут стерильной пипеткой 10 $см^3$ и вносят в 90 $см^3$ раствора для разведений. Получают разведение 1:10 (первое разведение).

Отобранные пробы масла, спредов вносят в соответствующие стерильные растворы, подогретые до 40-45 °С.

К 10 г альбуминной или сырной пасты, сгущенных продуктов, сухих продуктов, концентратов и других продуктов, отбираемых по весу, добавляют 90 $см^3$ соответствующих стерильных растворов, подогретых до 40-45 °С, и взбалтывают в течение 3-5 мин до возможно более полного эмульгирования. Получают разведение 1:10 (первое разведение).

К 10 г сыра, помещенного в стерильную ступку, постепенно добавляют 90 $см^3$ раствора лимоннокислого натрия, подогретого до 40-45 °С, сыр тщательно растирают до получения однородной массы или эмульсии. Получают разведение 1:10 (первое разведение).

При приготовлении первого разведения допускается уменьшение объема или навески продукта до 1 $см^3$ (г) при соответствующем уменьшении объема раствора для разведений.

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.

Для приготовления каждого разведения берут новую стерильную пипетку.

5.6 Техника проведения посевов

5.6.1 Техника посева аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (посев на чашки Петри)

Посев на чашки Петри проводят, используя твердые (плотные) питательные среды, содержащие 0,8-1,5 % агара или 10-15 % желатина, которые дают возможность для роста и подсчета отдельных колоний микроорганизмов.

Для посева обычно готовят 3 стерильные чашки Петри и такое же число пробирок с какой-либо плотной питательной средой (в зависимости от поставленной задачи). Затем выбирают те разведения исследуемого материала, которые должны дать десятки, сотни и тысячи колоний соответственно.

На крышках чашек Петри предварительно делают надписи восковым карандашом, маркером или др., отражающие следующую информацию:

- о материале (продукте), из которого сделан посев;
- о соответствующем разведении;
- о дате проведения посева.

Перед началом посева необходимо заранее подготовить соответствующим образом все необходимые материалы (чашки, пробирки, пипетки, спиртовку и т.д.), обработать спиртом рабочую поверхность стола, руки, расположить на рабочем столе наиболее удобным образом материалы. Посев проводят, соблюдая правила стерильности.

После тщательного перемешивания соответствующего разведения стерильной пипеткой берут 1 $см^3$ материала и вносят в чашку Петри, слегка приоткрывая крышку со стороны спиртовки и выдувая содержимое пипетки. Таким образом проводят посев всех намеченных разведений.

При посеве на чашки Петри посевной материал вносят от большего разведения к меньшему. В этой случае пользуются одной пипеткой.

Затем осторожно приподняв (с одного края) крышку чашки Петри, выливают расплавленную и охлажденную до 40 °С питательную среду. Количество питательной среды, вносимой на одну чашку, должно составлять около 10-15 $см^3$.

Все операции при использовании для посевов агаровых сред необходимо проводить быстро, без задержек, чтобы избежать преждевременного застывания

агара. Начинающим рекомендуется использовать водяную баню для поддержания температуры агаровых сред на уровне 40-45 °С.

Сразу после внесения питательной среды ее смешивают с посевным материалом легким вращательным покачиванием чашки, но так, чтобы не смочить крышку. Затем чашку с посевом ставят для застывания среды на горизонтальную поверхность.

5.6.2 Техника посева аэробных микроорганизмов

Посев аэробных микроорганизмов проводят на поверхности плотных (твердых) питательных сред, обеспечивая тем самым аэробные условия для их развития.

Расплавленную питательную среду разливают в чашки Петри и ставят для застывания на горизонтальную поверхность. Застывшую среду подсушивают, так как влажная поверхность ее способствует слиянию колоний. Подсушивать среду в чашках Петри рекомендуется в термостате при температуре 37-45° С, расположив открытые чашки на стерильной бумаге в перевернутом виде. Время подсушивания – 1 ч. Можно проводить подсушивание в боксе на столе при включенных бактерицидных лампах.

5.6.2.1 Для количественной оценки аэробной микрофлоры исследуемых объектов в подготовленную чашку Петри на поверхность плотной питательной среды вносят 0,1-0,2 $см^3$ исследуемого материала (объем зависит от конкретных условий) и стерильным шпателем Дригальского втирают посевной материал в питательную среду равномерно по всей поверхности.

5.6.2.2 Для оценки видовой (групповой) принадлежности микрофлоры, содержащейся в материале, поверхностный посев проводят с использованием бактериологической петли. При этом материал на питательной среде распределяют параллельными штрихами по всей чашке в одном направлении. При таком способе посева материал, находящийся на петле, расходуется постепенно и по линиям, нанесенным в конце посева, вырастают изолированные колонии микроорганизмов.

5.6.3 Техника посева анаэробных микроорганизмов

Для создания условий развития анаэробных микроорганизмов могут быть использованы следующие приемы:

- посев в высокий столбик питательной среды;
- культивирование посевов в анаэростатах или других устройствах, создающих анаэробные условия;
- применение специальных реагентов для создания анаэробных условий.

Посев анаэробных микроорганизмов проводят в пробирках с простерилизованной питательной средой, разлитой высоким столбиком. Для анализа анаэробных микроорганизмов, как правило, используют твердые или полутвердые питательные среды.

Непосредственно перед посевом для снижения содержания свободного кислорода питательные среды, разлитые по пробиркам и закрытые ватными пробками, кипятят в водяной бане в течение 10-20 мин. При кипячении из среды вытесняются газообразные вещества, в том числе кислород.

Пробирки с прокипяченными питательными средами быстро охлаждают до 40 °С и используют для посева.

Засев среды проводят соответствующим разведением посевного материала пипеткой. Посевной материал при этом должен свободно стекать из пипетки без принудительного выдувания.

Для уменьшения диффузии кислорода из воздуха питательные среды можно сверху заливать стерильным вазелиновым или парафиновым маслом или водным агаром (толщина слоя 1-1,5 см).

При посеве анаэробных микроорганизмов возможно использование анаэробных инкубаторов или настольных анаэробных систем с газогенераторными пакетами.

5.6.4 Метод предельных разведений

При проведении анализов методом предельных разведений учет количества определяемой группы микроорганизмов ведется по наиболее вероятному числу (НВЧ).

Проведение анализа

Готовят ряд последовательных разведений исследуемого продукта в стерильной воде с таким расчетом, чтобы последние разведения не содержали учитываемых микроорганизмов.

Из разведений делают посевы по 1 $см^3$ в два параллельных ряда пробирок с питательной средой. Последнее засеваемое разведение берут с таким расчетом, чтобы в нем отсутствовали определяемые микроорганизмы.

Посевы термостатируют при оптимальной температуре развития микроорганизмов учитываемой группы. Время культивирования, необходимое для проявления признаков роста на питательной среде, также зависит от группы микроорганизмов.

Обработка результатов

НВЧ микроорганизмов определяют по количеству пробирок с признаками роста.

Сначала составляют числовую характеристику, которая состоит из трех цифр, указывающих число пробирок с признаками роста.

Первая цифра числовой характеристики соответствует тому разведению, при котором в двух пробирках есть признаки роста. Следующие цифры означают число пробирок с признаками роста в двух последующих разведениях. Выбор трех последовательных разведений для составления числовой характеристики желательно проводить таким образом, чтобы в первом из выбранных разведений обе пробирки имели признаки роста, а в последнем разведении признаки роста в обеих пробирках отсутствовали.

По числовой характеристике таблицы 3 находят НВЧ, которое умножают на то разведение, с которого составляют числовую характеристику. Полученное число соответствует статистически достоверному количеству клеток бактерий в 1 г или 1 $см^3$ продукта.

Таблица 3 – НВЧ микроорганизмов при посеве в два ряда

Числовая характеристика	НВЧ микроорганизмов при посеве в два ряда	Числовая характеристика	НВЧ микроорганизмов при посеве в два ряда
001	0,5	200	2,5
010	0,5	201	5,0
011	0,9	210	6,0
020	0,9	211	13,0
101	1,2	212	20,0
110	1,3	220	25,0
120	2,0	221	70,0
121	3,0	222	110,0

6 Методы анализа

Для микробиологического контроля допускается использование аттестованных в установленном порядке методик выполнения измерений.

6.1 Качественные методы оценки молока-сырья

Качественная оценка молока-сырья проводится методами, указанными ниже, или другими методами, утвержденными в установленном порядке.

6.1.1 Редуктазная проба

В процессе жизнедеятельности бактерии выделяют в окружающую среду окислительно-восстановительные ферменты – дегидрогеназы (редуктазы). Существует корреляция между общим количеством бактерий в молоке и количеством выделяемых ими окислительно-восстановительных ферментов, что дает возможность использовать редуктазную пробу как косвенный показатель уровня бактериальной обсемененности сырого молока.

Чувствительность редуктазной пробы составляет порядка 300 тыс. КОЕ/см^3 и более. При меньшем уровне бактериальной обсемененности молока-сырья данный метод не может быть использован.

Показатели редуктазной пробы всегда несколько ниже, чем значения бактериальной обсемененности, получаемые чашечным методом на среде КМАФАнМ.

6.1.1.1 Метод определения редуктазы с резазурином

Сущность метода

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

Проведение анализа

Пробу с резазурином следует проводить не ранее, чем через 2 ч после доения (средняя продолжительность бактерицидной фазы неохлажденного молока).

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

При отсутствии редуктазника можно использовать водяную баню, помещенную в термостат с температурой (37±1) °С.

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

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

Время погружения пробирок в редуктазник считают началом анализа.

Показания снимают через 1 и 1,5 ч.

Появление окрашивания молока в пробирках, исчезающее при встряхивании, не учитывают.

По истечении 1 ч пробирки вынимают из редуктазника. Пробирки с молоком, имеющим окраску от серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком, оставляют в редуктазнике еще на 30 мин.

Обработка результатов

В зависимости от продолжительности обесцвечивания или изменения цвета молоко относят к одному из четырех классов, указанных в таблице 4 и **приложении В.**

Таблица 4 – Класс молока по редуктазной пробе

Класс молока	Продолжительность обесцвечивания, ч	Окраска молока	Ориентировочное количество бактерий в 1 $см^3$ молока, КОЕ
Высший	1,5	От серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком	До 300 тыс.
I	1	Серо-сиреневая до сиреневой со слабым серым оттенком	От 300 тыс. до 500 тыс.
II	1	Сиреневая с розовым оттенком, или ярко-розовая	От 500 тыс. до 4 млн.
III	1	Бледно-розовая или белая	От 4 млн. до 20 млн.

Молоко, имеющее через 1,5 ч окраску, соответствующую I классу, относят к высшему классу.

6.1.1.2 Метод определения редуктазы с использованием микробитестов с резазурином

Микробитесты с резазурином предназначены для определения уровня общей бактериальной обсемененности молока-сырья при проведении редуктазной пробы.

Микробитесты с резазурином представляют собой полоски бумаги фиолетового цвета, которые необходимо хранить в светонепроницаемых пакетах, а при работе предохранять от действия солнечного света. Анализ следует проводить не ранее чем через 2 ч после доения.

Для проведения анализа необходимо вскрыть упаковку с микробитестами профламбированными ножницами, достать из нее микробитест и поместить его в стерильную пробирку, добавить 10 $см^3$ исследуемого молока, закрыть стерильной резиновой пробкой и перемешать путем медленного трехкратного переворачивания пробирки. Затем пробирки помещают в редуктазник с температурой воды (37±1) °С.

Время погружения пробирок в редуктазник считают началом анализа.

Показания снимают через 1 и 1,5 ч.

По истечении 1 ч пробирки вынимают из редуктазника. Пробирки с молоком, имеющим окраску от серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком, оставляют в редуктазнике ещё на 30 мин.

Обработка результатов

В зависимости от продолжительности обесцвечивания или изменения цвета молоко относят к одному из четырех классов в соответствии с таблицей 4 и **приложением В.**

6.1.2 Определение ингибирующих веществ (ИВ)

Сущность метода

Метод основан на сравнительном определении дегидрогеназной активности тест-культуры Streptococcus thermophilus, чувствительной к ингибиторам бактериального роста, при ее развитии в испытуемом молоке и стандартном образце (СКИВ).

Чувствительность метода позволяет обнаружить в молоке содержание пенициллина 0,01 МЕ/см^3; стрептомицина 10 мкг/см^3; тетрациклина 1мкг/см^3, массовою долю формалина 0,005 %; массовую долю перекиси водорода 0,01 %.

6.1.2.1 Метод определения ИВ с индикатором резазурином

Сущность метода

Метод основан на восстановлении резазурина при развитии в молоке чувствительных к ингибирующим веществам микроорганизмов вида Streptococcus thermophilus.

Приготовление культуры термофильного стрептококка для определения ингибирующих веществ

Из сухой закваски

Для восстановления активности культуры 100 см^3 обезжиренного молока стерилизуют при (121±1) °С в течение 10-15 мин и охлаждают до 42-43 °С. Во флакон с сухой закваской термофильного стрептококка добавляют 5-7 см^3 стерилизованного молока и тщательно перемешивают. Содержимое флакона вносят в молоко, подготовленное как указано выше, и перемешивают.

Заквашенное молоко термостатируют при температуре (43±2) °С в течение 12-18 ч до образования сгустка, после чего закваску охлаждают и используют для приготовления коллекционной тест-культуры.

Для приготовления коллекционной тест-культуры в пробирку с 10 см^3 стерильного обезжиренного молока вносят 1 петлю культуры и выдерживают в термостате при (43±2) °С в течение 16-18 ч. Коллекционную тест-культуру хранят при 6-9 °С и перевивают через 1-14 сут.

Через 3-4 пересадки культуру снова готовят из сухой закваски. Допускается использовать культуру дольше, если она не утратила своей активности и по микроскопическому препарату соответствует требованиям (продолжительность сквашивания при перевивке 16-18 ч, сгусток плотный; консистенция однородная, допускается мягкая крупитчатость или вязкая; в поле зрения микроскопа в препарате тест-культуры – диплококки одиночные или собранные в цепочки).

Рабочую тест-культуру готовят из коллекционной в пробирках или бутылочках – в зависимости от необходимого количества. В пробирку с 10 см^3 или бутылочку со 100 см^3 стерильного обезжиренного молока вносят 1 петлю коллекционной тест-культуры и выдерживают в термостате при (43±2) °С в течение 16-18 ч до образования сгустка.

Для проведения анализа используют 1-2 суточную культуру при условии хранения ее в холодильнике при 6-8 °С.

Приготовление из сухого бактериального препарата «Интест»

При приготовлении рабочей культуры из сухого бактериального препарата «Интест» во флакон с препаратом добавляют стерильной пипеткой 10 см^3 стерильной или кипяченной дистиллированной воды, подогретой до температуры (45±1) °С. Флакон закрывают пробкой и его содержимое тщательно перемешивают до получения однородной взвеси.

Полученную бактериальную суспензию используют для проведения анализов спустя 30 мин. За это время происходит набухание клеток.

Одна порция (флакон) культуры, приготовленной из препарата «Интест», предназначена для анализа 30 проб исследуемого молока.

При необходимости культуру хранят при температуре (6±2) °С и используют для проведения анализов в течение 72 ч.

Проведение анализа

В чистые пробирки (лучше стерильные) наливают по 10 $см^3$ исследуемого молока и закрывают стерильными резиновыми пробками (лучше ватно-марлевыми, т.к. при последующей пастеризации резиновые пробки могут вылетать из пробирок). Оставшуюся часть пробы сохраняют до конца анализа в холодильнике при температуре (6±2) °С.

При наличии большого количества проб исследуемого молока анализ проводят сериями. Количество пробирок с исследуемым молоком в каждой серии не более 20.

Одновременно проводят контрольный анализ. Для этого в пробирку наливают 10 $см^3$ восстановленного препарата СКИВ. Для получения восстановленного препарата вскрывают колпачок и пробку флакона с сухим препаратом. Во флакон вносят пипеткой 10 $см^3$ дистиллированной воды, подогретой до температуры (50±10) °С, закрывают пробкой и встряхивают до полного растворения.

Пробирки с исследуемым молоком и контрольной пробой нагревают в водяной бане до (87±2) °С с выдержкой 10 мин, затем охлаждают до (47±1) °С.

Затем в пробирки стерильной пипеткой вносят рабочую тест-культуру в количестве 0,5 $см^3$, приготовленную из коллекционной тест-культуры, или 0,3 $см^3$ тест-культуры, приготовленной из бактериального препарата «Интест». Ватно-марлевые пробки заменяют на стерильные резиновые пробки.

Содержимое пробирок тщательно перемешивают трехкратным переворачиванием. Пробирки выдерживают в течение 1 ч 15 мин при температуре (46±1) °С в редуктазнике или водяной бане.

Затем в пробирки с исследуемым молоком и контрольной пробой вносят по 1 $см^3$ основного раствора резазурина, подготовленного по 4.4.3, температурой (20±2) °С. Содержимое пробирок перемешивают путем двукратного переворачивания.

Пробирки с исследуемым молоком и контрольной пробой выдерживают в течение 10 мин в редуктазнике или водяной бане с терморегулятором или водяной бане, помещенной в термостат при (46±1) °С.

Обработка результатов

При отсутствии в исследуемом молоке (и в контрольной пробе) ингибирующих веществ содержимое пробирок будет иметь розовый или белый цвет.

При наличии в молоке ингибирующих веществ содержимое пробирок будет иметь окраску, характерную для молока 1 класса по цветовой шкале для определения класса по редуктазной пробе с резазурином (**приложение В**).

6.1.2.2 Определение ИВ с индикатором метиленовым голубым

Сущность метода

Метод основан на восстановлении метиленового голубого при развитии в молоке чувствительных к ингибирующим веществам Streptococcus thermophilus.

Подготовка к анализу

Приготовление коллекционной и рабочей тест-культуры проводят по 6.1.2.1.

Приготовление водного раствора пептона

3 г пептона помещают в колбу и доливают до 100 $см^3$ водой, стерилизуют при (121±2) °С в течение 10 мин и хранят в холодильнике при (6±2) °С в течение 30 сут. В случае отсутствия стерилизатора допускается кипячение раствора пептона от 1 до 2 мин на слабом огне; данный раствор должен быть использован в течение 7-8 ч.

Приготовление водного раствора метиленового голубого

0,5 г метиленового голубого вносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят до метки прокипяченной и охлажденной до (25±2) °С дистиллированной водой. Смесь тщательно перемешивают до полного растворения и хранят в холодильнике при (6±2) °С не более 30 сут в светонепроницаемой посуде.

Подготовка пробок

Резиновые пробки помещают в стеклянную посуду с дистиллированной водой или заворачивают в бумагу и стерилизуют в автоклаве при 0,1 мПа в течение 20 мин. При отсутствии автоклава резиновые пробки кипятят непосредственно перед испытанием в дистиллированной воде или конденсате в течение 30 мин.

Приготовление смеси для анализа

К 20 $см^3$ водного раствора пептона добавляют 3,5 $см^3$ односуточной культуры термофильного стрептококка (следует использовать стерильную пипетку или предварительно хорошо ополоснуть ее раствором пептона), 0,1 $см^3$ водного раствора метиленового голубого и хорошо перемешивают. Смесь готовят перед анализом.

Объем приготовляемой смеси определяют в зависимости от числа исследуемых проб.

Проведение анализа

В чистые пробирки наливают по 10 $см^3$ исследуемого молока и закрывают стерильными ватно-марлевыми пробками. Оставшуюся часть пробы хранят в холодильнике при (6±2) °С в течение 24 ч.

Пробирки с исследуемым молоком нагревают в водяной бане до (87±2) °С и выдерживают 10 мин, затем охлаждают до (43±2) °С.

После этого в пробирки вносят стерильной пипеткой по 2 $см^3$ приготовленной смеси для анализа, закрывают стерильными резиновыми пробками, перемешивают (пробирки трёхкратно переворачивают) и выдерживают в водяной бане при температуре 41-42 °С в течение 2 ч.

Обработка результатов

При отсутствии в молоке ингибирующих веществ содержимое пробирок будет иметь белый цвет.

При наличии в молоке ингибирующих веществ содержимое пробирок будет иметь голубой цвет. Голубое кольцо, образующееся в пробирке на поверхности молока высотой до 1 см, не учитывают.

6.1.3 Методы определения антибиотиков

Анализ молока на антибиотики делают при получении положительных результатов на наличие ингибирующих веществ по ГОСТ 23454 и отрицательных результатов на отсутствие соды, аммиака и перекиси водорода по ГОСТ 24065 – ГОСТ 24067.

6.1.3.1 Метод с индикатором бромкрезолпурпуром

Сущность метода

Метод основан на изменении окраски агаровой среды со спорами Bac. stearothermophilus var. calidolactis C953 от фиолетовой до желтой при отсутствии в исследуемом молоке антибиотиков и других ингибирующих веществ и сохранении окраски при их наличии.

Подготовка к анализу

Стеклянную бутылочку с питательной таблетированной средой «Delvotest®» вынимают из холодильника и выдерживают в течение 20 мин при температуре от 15 до 25 °С.

Осторожно, не повреждая упаковки, отрезают от блока с ампулами, содержащими агаровую среду со спорами Bac. stearothermophilus var. calidolactis C953, необходимое количество ампул (с учетом контрольной пробы) и маркируют. Оставшиеся ампулы хранят в холодильнике.

Отвинчивают колпачок стеклянной бутылочки и помещают его на стол вниз донышком. Пинцетом вынимают капсулу с силикагелем и поролоновый уплотнитель. Насыпают в колпачок необходимое количество таблеток питательной среды. Поролоновый уплотнитель и капсулу с силикагелем помещают обратно в бутылочку.

Проведение анализа

Соединительной частью шприца прокалывают фольгу, укупоривающую ампулы.

В каждую ампулу пинцетом помещают по одной таблетке питательной среды «Delvotest®». Бутылочку со средой плотно закрывают колпачком и хранят в дальнейшем при комнатной температуре.

Шприцем отбирают 0,1 $см^3$ пробы молока и вносят в ампулу. Для каждой пробы молока используют новый наконечник. Оставшееся молоко сохраняют до конца анализа в холодильнике при температуре (6±2) °С.

Ампулы «Delvotest®» помещают в термостат и выдерживают при температуре (64,0±0,5) °С в течение 3 ч. Аналогично проводят контрольное определение, внося в ампулу 0,1 $см^3$ предварительно восстановленного по 6.1.2.1. препарата СКИВ.

Обработка результатов

Ампулы извлекают из термостата и определяют цвет содержимого.

Желтый цвет содержимого ампул с контрольным и анализируемыми образцами молока свидетельствует об отсутствии в молоке ингибирующих веществ. Фиолетовое кольцо на поверхности содержимого ампулы (размером не более 1 мм) не учитывают.

Фиолетовый цвет содержимого ампул с анализируемым образцом молока свидетельствует о наличии в молоке ингибирующих веществ (**приложение В**).

Вывод о наличии в молоке антибиотиков делают при получении отрицательных результатов после усиленных исследований молока на отсутствие соды, аммиака и перекиси водорода по ГОСТ 24065 – ГОСТ 24067.

6.1.3.2 Определение антибиотиков с использованием Copan Test (CH АТК)

Сущность метода

Метод основан на изменении окраски агаровой среды со спорами Bac. stearothermophilus var. calidolactis от фиолетовой до желтой при отсутствии в исследуемом молоке антибиотиков и сохранении окраски при их наличии.

Проведение анализа

С помощью ножниц отрезают необходимое количество тестовых пробирок, содержащих гелевую матрицу со спорами Bac. stearothermophilus var. calidolactis, питательные вещества и индикатор pH.

С помощью специальной пипетки, находящейся в комплекте, добавляют 0,1 $см^3$ исследуемого образца в тестовую пробирку. Для каждого образца используют отдельную пипетку.

Пробирки термостатируют в специальном термостате или в водяной бане при температуре (64±1) °С в течение 3 ч.

Обработка результатов

Изменение цвета среды в пробирке на желтый свидетельствует об отсутствии антибиотиков.

Цвет среды не изменился – антибиотики присутствуют.

Частичное изменение цвета среды (желто-фиолетовый) свидетельствует о концентрации ингибирующих веществ ниже чувствительности теста.

Для обработки результатов используют цветовую шкалу (**приложение В**).

6.1.4 Методы определения количества соматических клеток

Определение проводится методами, указанными ниже, или другими методами, утвержденными в установленном порядке.

6.1.4.1 Визуальный метод определения количества соматических клеток в молоке

Сущность метода

Метод основан на взаимодействии сульфанола (поверхностно-активное вещество), входящего в состав препарата «Мастоприм», с соматическими клетками. В результате взаимодействия нарушается целостность клеточной оболочки и внутреннее содержимое клетки выходит наружу. В итоге в щелочной среде изменяется вязкость (консистенция) молока, что фиксируется визуально.

Подготовка к анализу

Приготовление водного раствора препарата «Мастоприм»

2,5 г препарата вносят в мерную колбу или цилиндр вместимостью 100 $см^3$ и доливают до метки дистиллированной водой (или питьевой свежекипяченой водой), нагретой до температуры 30-35 °С. Раствор перед применением взбалтывают до равномерного распределения осадка.

Срок годности раствора – 1 сут при температуре хранения 10-30 °С.

Проведение анализа

В луночку пластинки ПМК-1 (пластинки молочно-контрольные) вносят 1 $см^3$ тщательно перемешанного молока и добавляют 1 $см^3$ водного раствора препарата «Мастоприм». Молоко с препаратом интенсивно перемешивают деревянной, пластмассовой или стеклянной палочкой в течение 10 с. Полученную смесь из луночки на пластинке при непрерывном интенсивном перемешивании поднимают палочкой вверх на 50-70 мм, после чего в течение не более 60 с оценивают результаты анализа.

Обработка результатов

Количество соматических клеток в исследуемом молоке устанавливают по консистенции смеси молока с препаратом «Мастоприм» в соответствии с требованиями таблицы 5.

Таблица 5 – Количество соматических клеток в молоке, определяемое по консистенции смеси молока с препаратом «Мастоприм»

Характеристика консистенции смеси	Количество соматических клеток в 1 $см^3$ молока
Однородная жидкость или слабый сгусток, который слегка тянется за палочкой в виде нити	До 500 тыс.
Выраженный сгусток, при перемешивании которого хорошо видна выемка на дне луночки пластинки. Сгусток не выбрасывается из луночки	От 500 тыс. до 1 млн.
Плотный сгусток, который выбрасывается палочкой из луночки пластинки	Свыше 1 млн.

6.1.4.2 Метод определения количества соматических клеток в молоке с применением вискозиметра

Сущность метода

Метод основан на взаимодействии сульфанола (поверхностно-активное вещество), входящего в состав препарата «Мастоприм», с соматическими клетками. В результате взаимодействия нарушается целостность клеточной оболочки и внутреннее содержимое клетки выходит наружу. В итоге в щелочной среде изменяется вязкость (консистенция) молока, что фиксируется с помощью вискозиметра.

Подготовка к анализу

Приготовление водного раствора препарата «Мастоприм»

3,5 г препарата вносят в мерную колбу или цилиндр вместимостью 100 $см^3$ и доливают до метки дистиллированной водой (или питьевой свежекипяченой водой), нагретой до температуры 30-35 °С. Раствор перед применением взбалтывают до равномерного распределения осадка.

Срок годности раствора – 1 сут при температуре хранения 10-30 °С.

Особенности проведения анализа

Во время исследования температура помещения, в котором проводятся исследования, должна быть 10-30 °С.

Кислотность исследуемого молока должна быть 16-21 °Т.

Проведение анализа

В сосуд прибора вносят 5 $см^3$ водного раствора препарата «Мастоприм» и 10 $см^3$ исследуемого молока, тщательно профильтрованного через четыре слоя марли и перемешанного.

Затем смесь молока с раствором препарата «Мастоприм» перемешивают в течение 30 с десятикратным отклонением рабочего сосуда от вертикальной оси на 145 °С при ручном или нажатием кнопки «Пуск» при автоматическом перемешивании. По окончании перемешивания определяют время вытекания смеси через капилляр.

После проведения анализа смеси для каждой исследуемой пробы молока сосуд следует два – три раза промыть дистиллированной водой и четыре – пять раз продуть с помощью резиновой груши. После очистки сосуда прибор считается подготовленным для дальнейших анализов.

Обработка результатов

Количество соматических клеток в исследуемом молоке устанавливают по времени вытекания смеси в соответствии с инструкциями по эксплуатации вискозиметрических анализаторов молока, которые должны быть аттестованы в установленном порядке.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать:

- для времени вытекания смеси от 12,0 до 18,0 с – 1 с;
- для времени вытекания смеси от 18,1 до 25,0 с – 2 с;
- для времени вытекания смеси от 25,1 до 31,0 с – 3 с;
- для времени вытекания смеси от 31,1 до 37,0 с – 4 с;
- для времени вытекания смеси от 37,1 до 46,0 с – 5 с;
- для времени вытекания смеси от 46,1 до 58,0 с – 6 с.

Предел допускаемой погрешности результатов измерений составляет 10 % в интервале доверительной вероятности P=0,95.

6.1.4.3 Метод определения количества соматических клеток в молоке с применением счетчика соматических клеток

Сущность метода

Метод основан на окрашивании ядер соматических клеток специальным флуоресцентным реагентом. После воздействия света на окрашенное ядро клетки возникает сигнал флуоресценции, регистрируемый в виде изображения. По полученному изображению определяется количество соматических клеток. Результат количества соматических клеток отображается на дисплее прибора.

Средства измерения

Счетчик соматических клеток - прибор с применением прямой флуоресцентно-оптической технологии.

Особенности проведения анализа

Проба отбирается в специальный флакон после того, как сборное молоко тщательно перемешано (не менее 5 мин).

Перед измерением необходимо дождаться исчезновения пены в молоке.

Хранение проб молока: молоко до проведения анализа можно хранить в холодильнике не более 36 ч. Замороженное молоко не подлежит анализу данным методом.

Хранение кассет: кассеты хранят в закрытых пакетах в холодильнике. Кассеты нельзя подвергать воздействию прямого солнечного света. Реагенты, содержащиеся в кассетах, разлагаются под действием света за 1 мин.

Проведение анализа:

- нажать кнопку «On/Off» для включения или выключения прибора. Прибор оснащен функцией автоматического выключения, которая выполняется, если прибор в течение 2 мин не использовался;
- вынуть одну кассету из пакета;
- осторожно перемешать пробу, для этого несколько раз перевернуть флакон с молоком. Не трясти пробу молока перед анализом. Температура пробы должна быть в диапазоне от 10 °С до 40 °С;
- поместить всасывающее отверстие кассеты в пробу молока и нажать на поршень. Удостовериться, что молоко дошло до середины дорожки 3. Молоко вступит в реакцию с реагентами. В течение последующих 2 мин кассету необходимо поместить в прибор и запустить измерение;
- поместить кассету в прибор, при этом всасывающее отверстие кассеты должно быть слева. Закрыть крышку отсека для образца, т.к. открытая крышка может исказить результаты измерения;
- нажать кнопку «RUN» для выполнения измерений. Дисплей покажет прохождение различных этапов процедуры измерений;
- записать отображенное на дисплее значение количества соматических клеток в молоке;
- вынуть кассету из прибора. Выбросить использованную кассету в урну для мусора;
- после завершения измерения закрыть в приборе крышку отсека для образца.

Обработка результатов

Диапазон измерений счетчика составляет от 10000 до 4000000 соматических клеток/см^3, что на дисплее прибора отображается как 10 – 4000/ml. Следовательно,

количество соматических клеток в исследуемом молоке соответствует показанию прибора, умноженному на 10^3 клеток/см^3.

6.1.5 Сычужно-бродильная проба

Сущность метода

Метод основан на способности молока-сырья свертываться под действием сычужного фермента, а также микроорганизмов сырого молока способствовать этому процессу за счет сбраживания лактозы и снижения pH. По характеру образовавшегося сгустка оценивают качество молока-сырья на его пригодность для производства сыра.

Подготовка к анализу

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, нагретой до (30±1) °С, перемешивают и выдерживают не менее 15 мин. Хранят при температуре 4-10 °С в течении 2 сут.

Проведение анализа

В чисто вымытые широкие пробирки, хорошо просушенные и ополоснутые два-три раза молоком, из которого отбирают пробу, наливают около 30 см^3 молока. Затем вносят в каждую пробирку по 1 см^3 раствора сычужного фермента, 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.

Обработка результатов

По результатам визуальной оценки молоко-сырье относят к одному из трех классов, указанных в таблице 6.

Таблица 6 – Класс молока по сычужно-бродильной пробе

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 и не горькая на вкус
II	Удовлетворительное	Сгусток мягкий на ощупь, с единичными глазками (1-10), разорван, но не вспучен
III	Плохое	Сгусток с многочисленными глазками, губчатый, мягкий на ощупь, вспучен, всплыл вверх или вместо сгустка образуется хлопьевидная масса

6.1.6 Сычужная проба

Сущность метода

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

Подготовка к анализу

Приготовление раствора контрольного образца сычужного фермента

1 г контрольного образца сычужного фермента с активностью 100 тыс. ед. растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды, нагретой до (30±1) °С, перемешивают и выдерживают не менее 15 мин. Хранят при 4-10 °С в течение 2 сут.

Подготовка молока к испытанию

Молоко-сырье 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 не выше 38 °С.

Проведение анализа

Пастеризованное молоко разливают в 4 пробирки по 30 $см^3$, доводят до температуры (38,0±0,5) °С в водяной бане или термостате. Затем в две пробирки вносят по 0,5 $см^3$, в другие две пробирки по 1,0 $см^3$ раствора контрольного образца сычужного фермента, хорошо перемешивают и ставят на 1 ч при температуре (38,0±0,5) °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.

Обработка результатов

Для оценки молока на свертываемость сначала осматривают сгусток, поворачивая каждую пробирку на 180 °С. 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 7.

Таблица 7 – Класс молока по сычужной пробе

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 сыропригодным, молоко с оценкой «неудовлетворительное» (3 класс) – несыропригодным.

6.2 Качественные методы контроля закваски

6.2.1 Определение кислотообразующей активности (титруемая кислотность)

Сущность метода

Метод основан на нейтрализации кислот, образующихся в результате сбраживания лактозы заквасочными микроорганизмами при развитии их в молоке, раствором гидроокиси натрия в присутствии индикатора фенолфталеина.

Проведение анализа

Производственную закваску хорошо размешивают. В колбу вместимостью от 100 до 250 $см^3$ вносят дистиллированную воду в объеме 20 $см^3$ и закваску в объеме 10 $см^3$, три капли 1 % раствора фенолфталеина.

Смесь тщательно перемешивают и титруют 0,1 N раствором гидроокиси натрия до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Обработка результатов

Кислотность, выраженную в градусах Тернера (°Т), находят умножением объема раствора гидроокиси натрия, затраченного на нейтрализацию кислот, содержащихся в закваске, на коэффициент 10.

6.2.2 Определение активной кислотности

Сущность метода

Метод основан на определении активности ионов водорода с помощью потенциометрических анализаторов.

Проведение анализа

Производственную закваску хорошо размешивают. В стакан вместимостью 50-100 $см^3$ наливают (40±5) $см^3$ закваски температурой (20±2) °С и погружают электроды прибора. Электроды не должны касаться стенок и дна стакана. Через 10-15 с снимают показания по шкале прибора.

Показания по прибору отсчитывают через 3-5 с после установления стрелки.

При использовании для определения активной кислотности pH-метра-милливольтметра pH-150M измерение pH осуществляется в цифровой форме с помощью измерительного преобразователя и набора электродов. Отсчет показаний следует проводить после их установления. Время установления показаний не превышает 3 мин, однако в некоторых случаях может достигать 10 мин.

После каждого измерения электроды датчика промывают дистиллированной водой. В промежутках между измерениями электроды датчика погружают в стакан с дистиллированной водой.

6.2.3 Определение газообразующей активности (наличие углекислого газа)

Сущность метода

Метод основан на оценке высоты поднятия сгустка за счет расширения газов, выделяемых газообразующими микроорганизмами, при нагревании пробы.

Проведение анализа

Производственную закваску хорошо размешивают. 20 $см^3$ закваски, отобранные пипеткой, осторожно, избегая попадания на стенки, вносят в пробирку диаметром 15 мм, отмечают уровень закваски и помещают в емкость с холодной водой. На дно емкости предварительно кладут вату. Затем температуру воды доводят до 90 °С и, не вынимая пробирки, отмечают уровень поднятия сгустка.

Обработка результатов

При нагревании сгусток становится губчатым и приподнимается над отделившейся сывороткой на высоту от 0,6 до 3 см.

Закваска, используемая при изготовлении сыров с рисунком, должна характеризоваться поднятием сгустка на высоту не менее 1 см.

6.2.4 Определение ароматообразующей активности закваски (наличие диацетила и ацетоина)

Сущность метода

Метод основан на способности диацетила и ацетоина, продуцируемых ароматообразующими микроорганизмами в молоке, давать окрашенные соединения в щелочной среде.

Проведение анализа

Для определения ароматобразующей активности закваску подогревают до 90 °С в водяной бане, охлаждают до комнатной температуры, фильтруют через бумажный фильтр. Затем 3 капли фильтрата смешивают на белой фарфоровой пластине (чашке) с 3 каплями 40 % раствора КОН и наблюдают за изменением окраски смеси, отмечая время появления розового окрашивания.

Для испытаний можно использовать сыворотку, полученную при определении газообразующей активности по 6.2.1.

Обработка результатов

При наличии в закваске нужного количества ароматических веществ (ацетоин + диацетил) появляется ярко выраженное розовое окрашивание через 10-15 мин.

Для закваски, используемой в сыроделии, допустимое время появления розового окрашивания составляет не более 20 мин.

Более позднее окрашивание не принимается во внимание.

6.3 Определение каталазной и оксидазной активности микроорганизмов

Тесты на каталазу и оксидазу проводят при идентификации микроорганизмов, в частности при контроле санитарно-гигиенического состояния воды.

6.3.1 Определение каталазной активности микроорганизмов

Сущность метода

Метод основан на способности каталазы, продуцируемой некоторыми микроорганизмами при росте на питательной среде, разлагать перекись водорода с выделением пузырьков газа.

Проведение анализа

Испытания проводят с охлажденной до комнатной температуры культурой, не допуская соприкосновения клеток с нагретой поверхностью и применяя обезжиренные стерильные пробирки, предметные стекла, пипетки.

Определение каталазной активности микроорганизмов, выросших на плотных питательных средах, проводят следующим образом. На колонию микроорганизмов, взятую с поверхности питательной среды или извлеченную из нее и помещенную на предметное стекло, после выдержки на воздухе в течение 30 мин пипеткой наносят каплю 3 % раствора перекиси водорода.

Определение каталазной активности микроорганизмов, выросших на жидких и полужидких питательных средах, проводят следующим образом. Из посевов отбирают 2-3 $см^3$ культуральной жидкости, переносят ее в пробирку и нейтрализуют раствором гидроокиси натрия или соляной кислоты.

1-2 капли нейтрализованной культуральной жидкости пипеткой переносят на предметное стекло и после выдержки на воздухе в течение 30 мин добавляют к ней каплю 3 % раствора перекиси водорода.

Если в посевах обнаружены газообразующие микроорганизмы, то при определении их каталазной активности ставят контрольную пробу аналогично пробе на ка-

талазу, но без добавления перекиси водорода. В данном случае газообразующие микроорганизмы относят к каталазоположительным при отсутствии пузырьков газа в контрольной пробе или при явно повышенном газообразовании в пробе с перекисью водорода по сравнению с контрольной пробой.

Обработка результатов

При появлении на стекле пузырьков газа через 30-60 с считают, что они образовались в результате разложения перекиси водорода каталазой, образуемой микроорганизмами **(Приложение Г).**

6.3.2 Определение оксидазной активности микроорганизмов

Сущность метода

Метод основан на способности оксидазы, продуцируемой некоторыми микроорганизмами при росте на питательной среде, изменять цвет индикатора.

Подготовка к проведению анализа

Реактивы для оксидазного теста

Вариант 1

Используют 1 % водный раствор тетраметил-п-фенилендиамингидрохлорида. Раствор готовят перед употреблением.

Вариант 2

30-40 мг α-нафтола растворяют в 2,5 $см^3$ ректификованного этилового спирта, прибавляют 7,5 $см^3$ дистиллированной воды и растворяют 40-60 мг диметил-п-фенилендиамина. Раствор готовят непосредственно перед определением.

Вариант 3

Используют готовые индикаторные системы «СИБ-оксидаза».

Проведение анализа

Полоску фильтровальной бумаги помещают в чистую чашку Петри и смачивают 2-3 каплями реактива для оксидазного теста. Готовые бумажные системы смачивают дистиллированной водой. Часть изолированной колонии стеклянной палочкой или платиновой петлей (металлическая петля из нихрома может дать ложноположительную реакцию) наносят штрихом на подготовленную фильтровальную бумагу. Реакция считается положительной, если в течение 1 мин появляется фиолетово-коричневое (вариант 1) или синее (варианты 2 и 3) окрашивание штриха.

Обработка результатов

Микроорганизмы, давшие положительную реакцию, считаются оксидазоположительными.

6.4 Методы микроскопических исследований

В молочной промышленности микроскопические исследования проводят при изучении микроморфологических особенностей микрофлоры молока, лабораторных и производственных заквасок, сыров на различных этапах их производства и т.д.

Атлас санитарно-показательных, технически вредных и заквасочных микроорганизмов, значимых для молока и продуктов его переработки, представлен в приложении Д.

Сущность метода

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

При микроскопическом исследовании учитываются как жизнеспособные, так и нежизнеспособные клетки микроорганизмов, при этом чувствительность метода – не менее 10^5 клеток в 1 $см^3$ исследуемого образца.

Эффективность и объективность микроскопических исследований зависит от:

- методики подготовки объекта исследования (способ приготовления микропрепарата);

- состояния и правильности подготовки микроскопа.

Подготовка исследуемых объектов (приготовление микропрепаратов)

При контроле молочной продукции наиболее распространенными способами приготовления микропрепаратов являются следующие способы:

- способ фиксирования и окрашивания;

- способ «раздавленной капли».

Приготовление фиксированных и окрашенных микропрепаратов

Приготовление мазка

На чистое, хорошо обезжиренное, профламбированное в пламени горелки и остуженное стекло бактериологической петлей наносят каплю стерильной воды, в которую с помощью прокаленной, охлажденной бактериологической петли вносят исследуемый материал и распределяют его на площади 1-2 $см^2$ таким образом, чтобы получить тонкий равномерный мазок.

Если исследуется плотный материал (сыр и т.д.), то материал предварительно тщательно растирается со стерильной водой.

При исследовании колоний микроорганизмов, выросших на плотной питательной среде, часть колонии отбирают с помощью бактериологической петли или иглы и тщательно растирают в капле воды на предметном стекле.

Приготовленные мазки высушивают при комнатном температуре на воздухе.

Фиксирование мазка

Для закрепления клеток микроорганизмов на стекле высушенные мазки фиксируют. Для этого предметное стекло с высушенным мазком, обращенным вверх, берут пинцетом и проводят несколько раз через верхнюю часть пламени горелки с промежутками 5-6 с. Зафиксированный мазок охлаждают на воздухе.

Окрашивание мазка

Окрашивание мазков проводят после их фиксации.

Простое окрашивание:

- зафиксированный мазок помещают на подставку для окраски мазком вверх;

- пипеткой наносят раствор метиленового голубого по 4.4.2 так, чтобы покрыть весь мазок;

- по истечении 30-60 с краситель осторожно сливают;

- препарат промывают легкой струей воды, направляя струю на ребро предметного стекла, а не на мазок. Краску можно смывать, опуская стекло в емкость с водой;

- окрашенный мазок высушивают на воздухе;

- окрашивание мазков можно проводить с помощью специальных красящих бумажек или фильтровальной бумаги, пропитанной метиленовым голубым.

При использовании для окрашивания фильтровальной бумаги, пропитанной красителем, на сухой зафиксированный мазок наносят каплю дистиллированной воды, сверху кладут полоску окрашенной бумаги, наносят еще 1-2 капли воды и выдерживают определенное время, затем бумагу осторожно убирают, препарат высушивают.

Окраска по методу Грама:

- зафиксированный мазок помещают на подставку для окраски мазком вверх;

- на мазок накладывают полоску фильтровальной бумаги и на нее наливают раствор кристаллического фиолетового по 4.4.1.2. Окраску проводят в течение 1-2 мин;

- снимают бумагу, сливают избыток красителя и, не промывая препарата водой, наливают раствор Люголя по 4.4.1.3 на 1-2 мин до почернения препарата;

- раствор Люголя сливают. Предметное стекло погружают несколько раз в стаканчик со спиртом, процесс обесцвечивания считается завершенным, когда от мазка перестают отделяться окрашенные в фиолетовый цвет струйки жидкости;

- препарат тщательно промывают водопроводной водой.

- препарат окрашивают в течение 2 мин водно-спиртовым раствором фуксина по 4.4.1.5.

Возможно использование вместо основного красителя (кристаллического фиолетового) готовой к использованию фильтровальной бумаги, пропитанной 1 % спиртовым раствором кристаллического фиолетового. На препарат помещают фильтровальную бумагу и наносят на нее 2-3 капли воды. Окрашивание ведут в течение 1-2 мин. Затем бумагу снимают и дальнейшую окраску препарата ведут общепринятым способом.

При проведении окраски по Граму допускается использование готовых тест-наборов для окрашивания.

Микроскопическая картина грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов приведена в **приложении В**.

Приготовление микропрепарата способом «раздавленная капля»

На середину чистого предметного стекла бактериальной петлей наносят небольшую каплю стерильной воды или физиологического раствора.

В каплю жидкости той же петлей вносят небольшое количество исследуемого материала. Тщательно перемешивают. При приготовлении препарата из жидких культур допускается наносить каплю исследуемого материала непосредственно на предметное стекло.

Каплю осторожно накрывают покровным стеклом. Для этого одним ребром покровное стекло ставят на край капли, затем медленно опускают так, чтобы между стеклами не попали пузырьки воздуха. Излишек жидкости, выступающий за края покровного стекла, убирают полоской фильтровальной бумаги.

Правила подготовки микроскопа

В практике работы производственных лабораторий обычно используют биологические световые микроскопы с окулярами и объективами с увеличением от 5^{x} до 40^{x} (без иммерсии) и с увеличением от 60^{x} до 100^{x} (иммерсионные системы); конденсором с аппертурой 1,2-1,4; окуляр-микрометром и объектив-микрометром.

Микроскоп следует хранить в специально отведенном месте в деревянном футляре или накрытым стеклянным колпаком или пакетом из полимерной пленки.

Не допускается хранение микроскопа во влажных помещениях, в местах с резкой сменой температуры, вблизи химических реактивов.

Необходимо содержать микроскоп в чистоте и предохранять от механических повреждений.

После работы микроскоп нужно обтереть мягкой тряпкой, иммерсионное масло удалить с объектива и конденсора ваткой или мягкой тряпкой, смоченной бензи-

ном. Не следует использовать другие органические растворители (спирт, ацетон, эфир), т.к. они разрушают смолы, которыми склеены линзы объектива, что может привести к порче оптической системы микроскопа.

Нельзя протирать оптическую систему микроскопа бумагой или грубой тканью.

Для работы следует использовать специальные иммерсионные масла промышленного производства. Нельзя заменять иммерсионное масло растительным или минеральным маслом, которое портит линзу объектива.

Нельзя прикасаться пальцами к поверхности линз, т.к. на них остаются следы, нарушающие четкость изображения.

При попадании пыли на фронтальную линзу объектива или окуляра, их протирают мягкой тряпкой, слегка смоченной бензином. При засорении внутренней части объектива или окуляра чистку их рекомендуется проводить в специальных мастерских. Разбирать объектив нельзя.

Рабочее положение микроскопа на столе регулируется в соответствии с высотой стола, стула, положением корпуса и рук исследователя.

При микроскопировании препаратов в светлом поле зрения важное значение имеет установка правильного освещения и подбор («подгонка») объектива и окуляра.

При настройке освещения конденсор поднимают (отпускают) до уровня предметного стекла. При этом он должен находиться в центре круглого окна столика. Если конденсор смещен в сторону, то его осторожно передвигают вращением винтов столика так, чтобы он занял правильное положение.

Диафрагма при настройке освещения должна быть полностью открыта.

В качестве источника света используют или специальные осветители, или рассеянный дневной свет. При использовании рассеянного дневного света обычно применяют плоское зеркало микроскопа. В случае освещения прямым солнечным светом целесообразно использовать белый матовый или синий светофильтр. При недостаточном естественном освещении используют вогнутое зеркало.

При использовании осветителей искусственного света их устанавливают перед микроскопом на расстоянии 300-400 мм и включают в сеть. Открыв диафрагму, направляют свет на вогнутое зеркало микроскопа.

Настройку освещения проводят, используя объектив малого увеличения. Для этого поворотом револьвера устанавливают объектив с увеличением 8^{x} (10^{x}) и опускают его на расстояние 5-10 мм от предметного столика. Глядя в окуляр, вращая зеркало, добиваются равномерного и яркого освещения всего поля зрения.

При проведении исследований микропрепаратов при различных увеличениях пользуются разными сочетаниями окуляров и объективов. Выбор нужного увеличения определяется микроскопируемым объектом, разрешающей способностью микроскопа, целями исследования. Обычно при изучении дрожжевых клеток и плесневых грибов используют объектив $40^{`}$, для изучения бактерий применяют иммерсионный объектив И90 или И100.

Порядок работы

На предметный столик микроскопа помещают приготовленный препарат и зажимают его клеммами.

Осторожно опускают с помощью макрометрического винта тубус микроскопа почти до соприкосновения объектива с покровным стеклом, а иммерсионный объектив погружают в каплю иммерсионного масла, нанесенного на препарат, наблюдая сбоку (глаза должны находиться на уровне предметного столика).

Нельзя опускать объектив резко и низко, тем более давить объективом на окуляр, т.к. при этом можно раздавить покровное и предметное стекло, повредить фронтальную линзу объектива. Особенно осторожно следует опускать тубус микроскопа при работе с иммерсионной системой, т.к. рабочее расстояние между препаратом и объективом в этой системе составляет около 0,15 мм.

После того как тубус будет опущен, смотря в окуляр, медленно вращают микрометрический винт до появления в поле зрения микроскопа контура объекта (грубая наводка).

Наиболее четкого и резкого изображения добиваются вращением микрометрического винта.

6.5 Методы контроля санитарно-показательных и технически вредных микроорганизмов

6.5.1 Определение общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Сущность метода

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

Проведение анализа

Выбор разведений для посева

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения в соответствии с таблицей 8.

Посев

Для определения общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает не менее 30 и не более 300 колоний. Из каждой пробы делают посев на две-три чашки из разведений, указанных в таблице 8 в соответствии с 5.6.1. 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 40-45 °С питательной средой для определения общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

Таблица 8 - Объем или масса засеваемого продукта при определении общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева, см^3 или г		
Молоко и сливки сырье	0,001	0,0001	0,00001
Пахта-сырье	0,001	0,0001	0,00001
Молоко, сливки, пахта и сыворотка пастеризованные	0,1	0,01	0,001
Молоко или сливки сгущенные с сахаром, какао и кофе со сгущенным молоком и сахаром, сгущенные продукты из пахты, сыворотки	0,1	0,01	0,001
Молоко сухое, сливки сухие, ЗЦМ, сухие продукты из пахты, сыворотки	0,01	0,001	0,0001

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева, $см^3$ или г		
Плавленый сыр, плавленые сырные продукты, сырные соусы, пасты	0,1	0,01	0,001
Сливочное масло и масляная паста	0,01	0,001	0,0001
Спреды	0,01	0,001	0,0001
Молочный жир, топленое масло, смеси топленые	0,1	0,01	0,001
Альбуминная масса	0,001	0,0001	0,00001
Сахар молочный	0,1	0,01	0,001

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

Культивирование

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

Обработка результатов

Каждую чашку помещают вверх дном на темном фоне и проводят подсчет количества выросших колоний, пользуясь лупой с увеличением в 4-10 раз. Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки чернилами.

При подсчете колоний рекомендуется пользоваться счетчиками.

При большом числе колоний и равномерном их распределении дно чашки Петри делят на четыре и более одинаковых сектора, подсчитывают число колоний на двух-трех секторах (но не менее чем на 1/3 поверхности чашки), находят среднее арифметическое число колоний и умножают на общее количество секторов всей чашки. Находят общее количество колоний, выросших на одной чашке.

Число КОЕ в 1 $см^3$ или 1 г продукта X_1 вычисляют по формуле

$$X_1 = n \cdot 10^m \qquad (1)$$

где n – количество колоний, подсчитанных на чашке Петри;

m – число десятикратных разведений.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

Картина роста мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов молока-сырья представлена в приложении Г.

6.5.2 Определение общего количества психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Сущность метода

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

Проведение анализа

Выбор разведений для посева

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения в соответствии с таблицей 9.

Посев

Для определения общего количества психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмо выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает не менее 30 и не более 300 колоний. Из каждой пробы делают посев на две-три чашки из разведений, указанных в таблице 9 в соответствии с 5.6.1. 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 40-45 °С питательной средой КМАФАнМ.

Таблица 9 – Объем или масса засеваемого продукта при определении общего количества психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева, $см^3$ или г		
Молоко и сливки сырье	0,01	0,001	0,0001
Масло из коровьего молока, масляные пасты, спреды	0,1	0,01	0,001

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

Культивирование

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

Обработка результатов

Каждую чашку помещают вверх дном на темном фоне и проводят подсчет количества выросших колоний, пользуясь лупой с увеличением в 4-10 раз. Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки чернилами.

При подсчете колоний рекомендуется пользоваться счетчиками.

При большом числе колоний и равномерном их распределении дно чашки Петри делят на четыре и более одинаковых сектора, подсчитывают число колоний на двух-трех секторах (но не менее чем на 1/3 поверхности чашки), находят среднее арифметическое число колоний и умножают на общее количество секторов всей чашки. Находят общее количество колоний, выросших на одной чашке.

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке аналогично 6.5.1.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

Картина роста психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов молока-сырья представлена в приложении Г.

6.5.3 Определение общего количества термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на плотной питательной среде КМАФАнМ при (44±1) °С в течение 72 ч, и предназначен для оценки санитарно-

гигиенических условий получения молока-сырья и выявления источника микробиологической порчи продукта.

Проведение анализа

Выбор разведений для посева

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения в соответствии с таблицей 10.

Посев

Для определения общего количества термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает не менее 30 и не более 300 колоний. Из каждой пробы делают посев на две-три чашки из разведений, указанных в таблице 10 в соответствии с 5.6.1. 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 40-45° С питательной средой КМАФАнМ.

Таблица 10 – Объем или масса засеваемого продукта при определении общего количества термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева, $см^3$ или г		
Молоко и сливки сырье	0,1	0,01	0,001
Масло из коровьего молока, масляная паста, спреды	0,1	0,01	0,001
Плавленый сыр и плавленые сырные продукты	0,1	0,01	0,001
Молочный сахар	0,1	0,01	–

Культивирование

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

Обработка результатов

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке аналогично 6.5.1.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

Картина роста термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов молока-сырья представлена в приложении Г.

6.5.4 Определение общего количества микроорганизмов, обладающих протеолитической активностью (протеолитических микроорганизмов)

Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний протеолитических аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на плотной питательной среде (водный агар или КМАФАнМ) при (30±1) °С в течение 48 ч и дающих зоны просветления вокруг колоний в результате разложения белка под действием протеолитических ферментов, выделяемых микроорганизмами, и предназначен для выявления источника микробиологической порчи продукта.

Проведение анализа

Выбор разведений для посева

Для определения количества протеолитических микроорганизмов обычно проводят посев 0,1-0,001см^3(г), независимо от вида продукта.

Посев

Для определения количества протеолитических микроорганизмов вносят по 1 см^3 каждого из выбранных разведений на чашки Петри, добавляют по 1 см^3 стерильного обезжиренного молока, приготовленного по 4.6.2.14, и заливают водным агаром (4.6.2.13) или средой КМАФАнМ (4.6.2.1).

Культивирование

Чашки Петри с посевами выдерживают в термостате при 30 °С в течение 48 ч и после этого подсчитывают число выросших колоний протеолитических микроорганизмов.

Обработка результатов

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке аналогично 6.5.1. Подсчет ведут только тех колоний, вокруг которых образовались зоны просветления.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

Картина роста протеолитических микроорганизмов представлена в приложении Г.

6.5.5 Определение общего количества микроорганизмов, обладающих липолитической активностью (липолитических микроорганизмов)

Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний липолитических аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на плотной питательной среде КМАФАнМ при 20-23 °С в течение 5-6 сут и дающих зоны просветления вокруг колоний в результате разложения жира под действием липолитических ферментов, и предназначен для выявления источника микробиологической порчи продукта.

Проведение анализа

Выбор разведений для посева

Для определения количества липолитических микроорганизмов обычно проводят посев 0,1-0,001 см^3 (г), независимо от вида продукта.

Посев

На дно подогретой чашки Петри наливают стерильный расплавленный горячий жир и сразу сливают. На дне остается тонкий слой застывшего жира.

Для определения количества липолитических микроорганизмов проводят посев по 1 см^3 каждого из выбранных разведений на чашки Петри с последующей заливкой посевов расплавленной и охлажденной до 40-45 °С средой КМАФАнМ по 4.6.2.1 (рекомендации к применению для липолитических микроорганизмов).

Культивирование

Чашки Петри с посевным материалом выдерживают в течение 5-6 сут при температуре 20-23 °С. После этого подсчитывают число выросших колоний.

Обработка результатов

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке аналогично 6.5.1. Подсчет ведут только тех колоний, вокруг которых образовались зоны просветления.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

Картина роста липолитических микроорганизмов представлена в приложении Г.

6.5.6 Определение спор аэробных и факультативно анаэробных мезофильных или термофильных микроорганизмов

Сущность метода

Метод основан на посеве предварительно прогретого при температуре (88±2) °С в течение (12±2) мин посевного материала в плотную питательную среду с последующим культивированием посевов для выявления спор мезофильных микроорганизмов в течение 3 сут при (30±1) °С и для выявления спор термофильных микроорганизмов при (55±1) °С и подсчете всех видимых колоний, характерных для спорообразующих бактерий. Метод предназначен для оценки санитарно-гигиенических показателей сырья и выявления источника микробиологической порчи продукта.

Проведение анализа

Выбор разведений для посева

Для определения количества спор аэробных и факультативно анаэробных мезофильных или термофильных микроорганизмов обычно проводят посев 0,1-0,01 $см^3$ (г), независимо от вида продукта.

Посев

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

Из каждой пробы делают посев по 1 $см^3$ разведений на чашки Петри. В каждую чашку Петри с заранее промаркированной крышкой добавляют не позднее чем через 15 мин 10-15 $см^3$ питательной среды КМАФАнМ, охлажденной до (45±1) °С, тщательно перемешивают и оставляют до застывания.

Культивирование

После застывания сред чашки Петри переворачивают вверх дном и ставят в таком виде в термостат с температурой (30±1) °С для выявления спор мезофильных и (55±1) °С для выявления спор термофильных микроорганизмов на 3 сут.

Обработка результатов

Каждую чашку помещают вверх дном на темном фоне и проводят подсчет количества выросших колоний, пользуясь лупой с увеличением в 4-10 раз.

Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки чернилами. Учитывают колонии, характерные для спорообразующих микроорганизмов. Спорообразующие микроорганизмы образуют на поверхности среды сухие шероховатые или морщинистые колонии, с неровными краями. В ряде случаев рост спорообразующих микроорганизмов распространяется по всей поверхности агара. Спорообразующие микроорганизмы могут врастать в агар, образуя на поверхности слизистые вздутия.

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке аналогично 6.5.1.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое результатов, полученных по всем чашкам.

Картина роста споровых мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов представлена в приложении Г.

6.5.7 Определение бактерий группы кишечных палочек (БГКП)

6.5.7.1 Определение БГКП на среде Кесслер

Сущность метода

Метод основан на способности БГКП сбраживать в питательной среде лактозу при температуре (37±1) °С в течение 24 ч с образованием кислоты и газа и предназначен для оценки санитарно-гигиенических показателей сырья, производственного процесса, готового продукта и выявления источника микробиологической порчи продукта.

Проведение анализа

Посев в среду Кесслер

В среду Кесслер проводят посев продуктов в количествах, указанных в таблице 11.

Таблица 11 – Объем или масса засеваемого продукта при определении БГКП на среде Кесслер

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева, $см^3$ или г
Молоко и сливки сырые	От 0,1 до 0,00001
Пахта-сырье, сыворотка-сырье	0,1; 0,01; 0,001
Молоко, сливки, пахта, сыворотка, отобранные после пастеризации	10
Молоко, сливки, пахта, сыворотка пастеризованные	1; 0,1; 0,01
Закваска на чистых культурах	10
Закваска кефирная	3
Ферментированные молочные продукты из молока, сливок, пахты, сыворотки	1; 0,1; 0,01
Молоко сухое, сливки сухие, ЗЦМ, сухие продукты из пахты, сыворотки	1; 0,1
Творог, творожная масса, творожные продукты, продукты на их основе	0,1; 0,01; 0,001
Сметана и продукты на ее основе	0,1; 0,01; 0,001
Масло из коровьего молока, масляная паста, молочный жир, спреды и смеси топленые, стерилизованное масло (в потребительской и транспортной таре)	1; 0,1; 0,01
Сыр после прессования	От 0,001 до 0,00001
Сыр зрелый (или в конце созревания), сырные продукты, включая плавленые (в потребительской и транспортной таре)	От 0,1 до 0,001
Альбуминные и сырные пасты, сыр домашний (в потребительской и транспортной таре)	От 0,1 до 0,00001
Сгущенные продукты переработки молока	1,0; 0,1; 0,01

По 1 $см^3$ соответствующих разведений продукта засевают в пробирки с 5 $см^3$ среды Кесслер.

Посев 10 $см^3$ пастеризованного молока, отобранного после пастеризатора, и 10 $см^3$ закваски проводится в колбочки с 40-50 $см^3$ среды Кесслер.

Культивирование

Пробирки с посевами помещают в термостат при (37±1) °С на 18-24 ч. При исследовании продуктов, хранящихся при минусовой температуре, пробирки с посевом выдерживают в термостате при (37±1) °С в течение 48 ч.

Обработка результатов

Просматривают пробирки или колбы с посевами и определяют наличие бактерий группы кишечных палочек по газообразованию. При отсутствии газообразования в наименьшем из засеваемых объемов дают заключение об отсутствии БГКП. При наличии газообразования в наименьшем из засеваемых объемов считается, что БГКП обнаружены в нем.

Картина роста бактерий группы кишечных палочек на жидкой среде Кесслер представлена в приложении Г.

6.5.7.2 Определение БГКП на плотной среде Кесслер

Сущность метода

Метод основан на способности БГКП сбраживать в питательной среде лактозу при температуре (37±1) °С в течение 24 ч с образованием кислоты и газа, которое фиксируется разрывами столбика среды. Метод применяется для внутрипроизводственного контроля и предназначен для оценки санитарно-гигиенических показателей сырья, производственного процесса, готового продукта и выявления источника микробиологической порчи продукта.

Проведение анализа

В пробирку с расплавленной и охлажденной до 40-50 °С плотной средой Кесслер вносят 1 $см^3$ разведения продукта; а при взятии смыва – весь смывной раствор вместе с тампоном. Затем путем встряхивания пробирки хорошо размешивают среду с внесенным посевным материалом, дают ей застыть.

Культивирование

Посевы помещают в термостат с температурой (37±1) °С на 18-24 ч.

Обработка результатов

При наличии небольшого количества бактерий группы кишечных палочек в плотной среде Кесслер появляются трещины, при большом количестве этих бактерий в среде образуются пузырьки газа и агар разрывается.

Картина роста бактерий группы кишечных палочек на плотной среде Кесслер представлена в приложении Г.

6.5.7.3 Определение количества БГКП на среде АЖФК

Сущность метода

Метод основан на способности БГКП образовывать типичные колонии на плотной среде при температуре (37±1) °С в течение 24 ч и предназначен для оценки санитарно-гигиенических показателей готового продукта, в частности сыра, и выявления источника микробиологической порчи.

Проведение посева

Перед выполнением поверхностного посева среду 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 покры-

вала дно чашки. Чашки оставляют полуоткрытыми на 1 ч для подсушивания. Потом закрывают, маркируют и используют для анализа.

Разведения пастеризованного молока, сыра готовят в соответствии с таблицей 12. Каждое из выбранных разведений засевают по 0,1 $см^3$ поверхностным способом. После посева чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат с температурой 37 °С на 16-24 ч, но не более 24 ч. Подсчитывают розовато-фиолетовые колонии диаметром больше 0,5 см с более светлым по сравнению с центром ореолом.

Посев на АЖФК можно проводить глубинным способом. Каждое разведение должно быть засеяно на 1 $см^3$ в отдельную чашку Петри и залито расплавленным и охлажденным до 45 °С агаром желчным фиолетово-красным.

Сразу после заливки агара содержимое чашки следует тщательно перемешать путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала. После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат при температуре (37±1) °С на 16-24 ч.

Таблица 12 – Объем или масса засеваемого продукта при определении БГКП на среде АЖФК

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева, $см^3$ или г	
	Поверхностный метод посева	Глубинный метод посева
Молоко после пастеризации из ванны или сыроизготовителя (смесь молока)	**0**	0-0,1
Сыр после прессования	0,001	0,0001
Сыр зрелый (или в конце созревания)	0,1-0,01	0,01-0,001

При определении БГКП в других молочных продуктах на среде АЖФК для проведения посева рекомендуется выбирать разведения, начиная с того, в котором БГКП должны отсутствовать, и два предыдущих.

Обработка результатов

При поверхностном посеве число колоний, выросших на каждой чашке Петри, для подсчета БГКП в 1 г или 1 $см^3$ образца, умножают на 10 и на соответствующее разведение.

При глубинном посеве число колоний, выросших на каждой чашке, пересчитывают на 1 г или 1 $см^3$ продукта с учетом разведения.

Картина роста бактерий группы кишечных палочек на среде АЖФК представлена в приложении Г.

6.5.7.4 Индикация БГКП на среде КОДА

Сущность метода

Метод основан на способности БГКП сбраживать в питательной среде лактозу при температуре (37±1) °С в течение 24 ч с образованием кислоты, что приводит к изменению цвета индикатора с зеленого на желтый при развитии цитратотрицательных БГКП. Метод предназначен для оценки санитарно-гигиенических условий производства и выявления источника микробиологической порчи продукта.

Проведение анализа

Смывную жидкость с тампоном или тампон, которым отбирали смыв, помещают в пробирки с 5 $см^3$ среды КОДА.

Культивирование

Пробирки с посевами помещают в термостат при (37±1) °С на 18-24 ч.

Обработка результатов

Просматривают пробирки с посевами и определяют наличие бактерий группы кишечных палочек по изменению окраски. При отсутствии изменения окраски дают заключение об отсутствии бактерий группы кишечных палочек в смыве.

Картина роста бактерий группы кишечных палочек на среде КОДА представлена в приложении Г.

6.5.7.5 Метод дифференциации энтеробактерий на среде Эндо

Сущность метода

Метод основан на способности ферментирующих лактозу энтеробактерий (БГКП) образовывать на среде 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 по виду образуемых на среде колоний.

Проведение анализа

На среду Эндо делают посевы с накопительных сред (Кесслер, Кода, ГПС, ЛПС) с признаками роста БГКП.

Перед выполнением посева среду по 4.6.2.6 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 по 5.6.2, закрывают, маркируют и используют для анализа.

Из пробирок и/или колбочек с накопительными средами с признаками роста БГКП, проводят посев петлей на среду Эндо. Исследуемый 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). Техника посева описана в 5.6.2.2.

Культивирование

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

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);

- образование полупрозрачных бесцветных или бледно-розовых колоний свидетельствует о принадлежности микроорганизмов, давших рост на накопительных питательных средах, к лактозоотрицательным энтеробактериям.

При появлении на среде полупрозрачных бесцветных или бледно-розовых колоний необходимо проводить контроль на предмет наличия патогенных энтеробактерий (сальмонеллы, шигеллы). Контроль проводится в лабораториях, лицензированных на право работы с патогенными микроорганизмами.

Чашки с посевами упаковываются в стерильную бумагу и/или контейнеры и передаются в лаборатории, лицензированные на право работы с патогенными микроорганизмами, для дальнейшего контроля.

Картина роста тест-культуры E.coli на среде Эндо представлена в приложении Г.

6.5.7.6 Определение БГКП с использованием микробитестов для определения редуцирующих бактерий

Сущность метода

Метод предназначен для контроля БГКП, коррелирующих с содержанием редуцирующих тетразолий хлористый бактерий, в неферментированных молочных продуктах (масле) и смывах с оборудования и основан на изменении цвета индикатора 2,3,5-трифенилтетразолиум хлорида (ТТХ) при развитии редуцирующих бактерий, в том числе БГКП.

Проведение анализа

Из светонепроницаемого пакета, содержащего полиэтиленовые пакеты с микробитестами, вынимают один пакет с микробитестом и с одной стороны разрезают его ножницами. Микробитест вместе с полиэтиленовым пакетом перегибают вдоль по середине, вынимают из пакета, беря за перфорированный конец. Микробитест смачивают в исследуемом разведении путем однократного погружения, которое длится 5 с. Излишек влаги удаляют путем прикосновения конца микробитеста к стенке пробирки или колбы с разведением. При намачивании микробитест впитывает 0,2 $см^3$ разведения продукта или смыва. Затем микробитест вновь помещают в полиэтиленовый пакет, перфорированный конец удаляют. После помещения микробитеста в пакет для удаления воздуха из пакета его следует тщательно прогладить рукой, чтобы полиэтиленовая пленка с обеих сторон плотно прилегла к смоченному микробитесту. Разрезанную сторону пакета зажимают между двумя пластинками из негорючего материала, запаивают на пламени горелки и помещают в пакет из светонепроницаемого материала.

Культивирование

Пакет из светонепроницаемого материала с микробитестом помещают в термостат и выдерживают при температуре 37 °С в течение (43±2) ч. Микробитест в термостате должен находиться в строго горизонтальном положении.

Обработка результатов

После культивирования проводят подсчет колониеобразующих единиц (красных точек) на обеих сторонах микробитеста.

Количество редуцирующих бактерий X_2 в 1 $см^3$ (г) исследуемого объекта подсчитывают по формуле

$$X_2 = 5 \cdot a \cdot 10^в, \qquad (2)$$

где а – количество колониеобразующих единиц (красных точек) на микробитесте;

в – разведение продукта.

Примечания

Если подсчет невозможно провести сразу по извлечении микробитеста из термостата, микробитест хранят в холодильнике при температуре (5±1) °С не более 24 ч.

Микробитесты для определения редуцирующих бактерий хранят только в светонепроницаемых пакетах, а при работе предохраняют от действия солнечного света. Микробитесты для определения редуцирующих бактерий должны иметь белый или слегка кремовый цвет. Розовый цвет микробитеста указывает на его засвеченность, и для проведения испытаний он не пригоден.

Картина роста бактерий группы кишечных палочек на микробитесте представлена в приложении Г.

6.5.8 Метод определения дрожжей и плесневых грибов

6.5.8.1 Определение количества дрожжей и плесневых грибов на плотных питательных средах

Сущность метода

Метод основан на высеве продукта или гомогената продукта и (или) их разведений в питательные среды (среда Сабуро, среда агаровая для определения дрожжей и плесеней и др.), определении принадлежности выделенных микроорганизмов к плесневым грибам и дрожжам по характерному росту на питательных средах и по морфологии клеток. Метод предназначен для оценки санитарно-гигиенических показателей сырья, производственного процесса, готового продукта и выявления источника микробиологической порчи продукта.

Проведение анализа

Выбор разведений для посева

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного микробного обсеменения.

Для определения количества дрожжей и плесневых грибов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает от 15 до 150 колоний дрожжей и (или) от 5 до 50 колоний плесневых грибов.

Посев

Из каждой пробы делают посев по 1 $см^3$ продукта или его соответствующих разведений на 2-3 чашки Петри. В каждую чашку с заранее промаркированной крышкой добавляют не позднее чем через 15 мин (14±1) $см^3$ питательной среды, охлажденной до (45±1) °С, содержимое чашки Петри немедленно тщательно перемешивают и оставляют на горизонтальной поверхности до застывания питательной среды.

Культивирование

После застывания сред чашки Петри переворачивают вверх дном и ставят в таком виде в термостат с температурой (24±1) °С на 5 сут.

Через 3 сут термостатирования проводят подсчет типичных колоний, а через 5 сут окончательный подсчет, наблюдая за ростом дрожжей и плесневых грибов визуально, а при необходимости проводят микроскопирование выросших колоний.

Обработка результатов

Каждую чашку помещают вверх дном на темном фоне и проводят подсчет количества выросших колоний, пользуясь лупой с увеличением в 4-10 раз.

Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки.

Колонии дрожжей на агаровых средах образуют выпуклые, блестящие серовато-белые колонии с гладкой поверхностью и ровным краем. В среде агаровой для определения дрожжей и плесневых грибов дрожжи могут образовывать глубинные колонии белого цвета звездообразной формы с четким краем.

Плесневые грибы имеют различную окраску и образуют на питательных средах пушистый мицеллий.

При необходимости проводят микроскопические исследования. Препараты готовят способом раздавленной капли и/или способом фиксирования и окрашивания по 6.4.

Результаты микроскопирования оценивают, пользуясь характеристикой дрожжей и плесневых грибов, указанной в таблице 13.

Таблица 13 – Характеристика дрожжей и плесневых грибов

Группа микроорганизмов	Характеристика
Дрожжи	Одноклеточные микроорганизмы, клетки круглой, овальной или продолговатой формы, длиной от 2,5 до 30 мкм и шириной от 2,5 до 10 мкм, часто почкующиеся
Плесневые грибы	Состоят из нитей-гифов, без перегородок или септированных на клетки. Гифы образуют боковые выросты и разветвления, от вегетативных гифов поднимаются гифы, несущие плодовые тела

Если при испытании продукта на питательных средах обнаружен рост дрожжей и плесневых грибов и их присутствие подтверждено микроскопированием, то дают заключение о присутствии этих микроорганизмов в продукте.

Результаты обрабатывают и пересчитывают отдельно для дрожжей и плесневых грибов.

Количество дрожжей и плесневых грибов X_3 в 1 г или в 1 см^3 продукта вычисляют по формуле

$$X_3 = \frac{\sum C}{n_1 + n_2 \cdot 0{,}1} \cdot 10^n, \qquad (3)$$

где $\sum C$ – сумма всех подсчитанных колоний на чашках Петри в двух последовательных десятикратных разведениях при условии, что на каждой чашке число колоний отвечает требованиям, указанным выше;

n_1 – количество чашек Петри, подсчитанное для меньшего разведения, т.е. для более концентрированного разведения продукта;

n_2 – количество чашек Петри, подсчитанное для большего разведения;

n – степень разведения продукта (для меньшего разведения).

Картина роста дрожжей и плесневых грибов на плотных питательных средах представлена в приложении Г.

6.5.8.2 Определение дрожжей и плесневых грибов в атмосфере производственных помещений при производственном контроле с использованием микробитестов

Сущность метода

Метод основан на способности дрожжей и плесеневых грибов образовывать колонии на поверхности микробитестов при температуре (25±1) °С в течение (72±6) ч.

Проведение анализа

Из светонепроницаемого пакета, содержащего полиэтиленовые пакеты с микробитестами, вынимают один пакет с микробитестом и с одной стороны разрезают его ножницами.

Микробитест вынимают из полиэтиленового пакета профламбированным пинцетом, затем его смачивают в стерильной воде и помещают в стерильную чашку Петри.

Чашки Петри со смоченными микробитестами размещают в производственных помещениях, открывают и выдерживают открытыми в течение 5 мин, затем закрывают и помещают в термостат.

Примечание - Микробитесты для определения дрожжей и плесневых грибов хранят только в светонепроницаемых пакетах, а при работе предохраняют от действия солнечного света. Микробитесты должны иметь светло-голубой цвет с зеленоватым оттенком.

Культивирование

Для предотвращения возможного высыхания микробитестов чашки с микробитестами перед термостатированием рекомендуется поместить в полиэтилленовый пакет. Пакеты с чашками помещают в термостат в горизонтальном положении крышками вверх.

Чашки с микробитестами выдерживают в термостате при температуре (25±1) °С в течение (72±6) ч.

Обработка результатов

После термостатирования проводят подсчет колоний дрожжей и плесневых грибов на верхней стороне микробитеста.

Дрожжи растут на микробитестах в виде точек розового или кремового цвета, а плесневые грибы – колониями разной окраски, по внешнему виду аналогично колониям плесневых грибов на агаровой среде для определения дрожжей и плесеней. При появлении на микробитестах колоний, нехарактерных по внешнему виду для колоний дрожжей и плесневых грибов, проводят микроскопирование для выявления и исключения споровых аэробов.

Картина роста дрожжей и плесневых грибов на микробитестах представлена в приложении Г.

6.5.9 Определение общего количества спор мезофильных анаэробных бактерий

Сущность метода

Метод основан на способности спор мезофильных анаэробных бактерий, сохранившихся после тепловой обработки исследуемого материала или его разведений при температуре (75±1) °С в течение 30 мин, прорастать, размножаться и давать видимые признаки роста в питательных средах. Метод предназначен для оценки сыропригодности молока - сырья и выявления источника микробиологической порчи продукта.

Подготовка образцов к анализу

Подготовка образцов жидких молочных продуктов

От пробы жидких молочных продуктов (молоко-сырье, восстановленное молоко и другие, аналогичные по консистенции продукты) отбирают для анализа по 15 $см^3$ и переносят пипеткой в стерильные пробирки, которые закрывают стерильными ватными пробками. При этом необходимо следить, чтобы капельки продукта не попадали на стенки пробирок.

Подготовленные пробирки с исследуемыми образцами вместе с контрольной пробиркой, в которой находится 10 $см^3$ продукта и термометр, помещают в водяную баню. Уровень воды в водяной бане должен быть выше уровня продукта на

10-15 мм. Пробирки выдерживают при температуре (75±1) °С в течение (30±3) мин, затем быстро охлаждают до комнатной температуры, погружая их в холодную воду.

В зависимости от обсемененности исследуемого жидкого молочного продукта спорами мезофильных анаэробных бактерий из прогретых проб готовят десятикратные разведения.

Перед проведением посева допускается прогрев как исходных образцов продукта, так и их разведений.

Подготовка проб сыра и аналогичных по консистенции молочных продуктов

Подготовленные пробирки с разведениями проб сыра вместе с контрольной пробиркой, в которой находятся термометр и 10 $см^3$ раствора хлористого натрия по 4.3.3 или воды, помещают в водяную баню и выдерживают при температуре (75±1) °С в течение (30±3) мин.

Проведение анализа

Для определения количества спор мезофильных анаэробных бактерий проводят посев 1 $см^3$ исследуемого образца (для молока – нулевое, первое и второе, для сыра – первое и второе разведения) в пробирку с (10±2) $см^3$ питательной среды СДА, приготовленной по 4.6.2.9, выдержанной перед анализом в кипящей водяной бане в течение 30 мин и охлажденной до температуры (40±1) °С.

Каждое из выбранных разведений исследуемого продукта засевают в две пробирки с питательной средой, внося посевной материал на дно пробирки, не допуская взбалтывания среды и не выдувая посевной материал.

Сверху посевы заливают слоем водного агара по 4.6.2.13, предварительно расплавленного до температуры (45±1) °С. Высота слоя водного агара должна быть не менее (20±5) мм.

При использовании для посева пробирок со средой, разлитой высоким столбиком, допускается не заливать посевы защитным слоем водного агара.

Пробирки с посевом помещают в термостат при температуре (37±1) °С на 72 ч.

Обработка результатов

Наличие спор мезофильных анаэробных бактерий в засеянных объемах исследуемого продукта определяют по появлению разрывов агарового столбика (газообразованию), образуемых при росте этих бактерий газами, а также изменению окраски среды с красной на желтую.

В посевах без защитного слоя рост мезофильных анаэробных бактерий определяют по пенообразованию, образованию «карманов» в столбике среды и изменению цвета питательной среды с красного на желтый. В данном случае основным признаком роста является изменение окраски, т.к. процесс газообразования может быть не зафиксирован.

Наиболее вероятное число спор мезофильных анаэробных бактерий при анализе молока определяют по числу пробирок, в которых они дали рост (см. таблицу 14).

Наиболее вероятное число спор мезофильных анаэробных бактерий при анализе сыра определяют по числу пробирок, в которых они дали рост с посевом 0,1 и 0,01 $см^3$ (см. таблицу 14).

Таблица 14 – НВЧ спор мезофильных анаэробных бактерий при контроле молока и сыра

Количество пробирок с положительными результатами при посевах			Наиболее вероятное число спор в 1 $см^3$, шт.	Количество пробирок с положительными результатами при посевах			Наиболее вероятное число спор в 1 $см^3$, шт.
1 $см^3$	0,1 $см^3$	0,01 $см^3$		1 $см^3$	0,1 $см^3$	0,01 $см^3$	
0	0	0	0,0	1	1	2	–
0	0	1	0,5	1	2	0	2,0
0	0	2	–	1	2	1	3,0
0	1	0	0,5	1	2	2	–
0	1	1	0,9	2	0	0	2,5
0	1	2	–	2	0	1	5,0
0	2	0	0,9	2	0	2	–
0	2	1	–	2	1	0	6,0
0	2	2	–	2	1	1	13,0
1	0	0	0,6	2	1	2	20,0
1	0	1	1,2	2	2	0	25,0
1	0	2	–	2	2	1	70,0
1	1	0	1,3	2	2	2	110,0
1	1	1	2,0	–	–	–	и более

Результаты, в которых количество пробирок с видимыми признаками роста мезофильных анаэробных бактерий при посевах 1; 0,1 и 0,01 $см^3$ молока или сыра соответственно равно 002, 012, 021, 022, 102, 112, 122, 202, не могут быть использованы для расчета, так как в 95 % случаев они вызваны несовершенной техникой приготовления разведений или присутствием антибактериальных веществ. В данных случаях исследования повторяют.

Картина роста споровых анаэробных бактерий на среде СДА представлена в приложении Г.

6.5.10 Определение спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий в молоке и сырах

Сущность метода

Метод основан на способности спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий, сохранившихся после тепловой обработки исследуемого материала или его разведений при температуре (75±1) °С в течение 30 мин, прорастать, размножаться и давать видимые признаки роста в питательных средах. Метод предназначен для оценки сыропригодности молока-сырья и выявления источника микробиологической порчи продукта.

Подготовка образцов к анализу

Подготовка образцов проводится по 6.5.9.

Проведение анализа

Для определения количества спор мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий в молоке и сырах проводят посев 1 $см^3$ исследуемого образца (для молока – нулевое, первое и второе, для сыра – первое и второе разведения) в пробирку с (10±2) $см^3$ питательной среды ЛАССА, приготовленной по 4.6.2.10, выдержанной перед анализом в кипящей водяной бане в течение 30 мин и охлажденной до температуры (40±1) °С.

Каждое из выбранных разведений исследуемых молока или сыра засевают в две пробирки с питательной средой, внося посевной материал на дно пробирки, не допуская взбалтывания среды и не выдувая посевной материал.

Сверху посевы заливают слоем предварительно расплавленного до температуры (45±1) °С водного агара, приготовленного по 4.6.2.13. Высота слоя водного агара должна быть не менее (20±5) мм.

При использовании для посева пробирок со средой, разлитой высоким столбиком, допускается не заливать посевы защитным слоем водного агара.

Пробирки с посевом помещают в термостат при температуре (37±1) °С на 72 ч.

Обработка результатов

Рост мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий в посевах на среду ЛАССА определяют по образованию разрывов столбика агара и изменению цвета питательной среды с красного на соломенно-желтый. Образование в среде желтых пятен или точек также указывает на наличие лактатсбраживающих анаэробных бактерий.

В посевах без защитного слоя рост мезофильных анаэробных лактатсбраживающих бактерий в посевах на среду ЛАССА определяют по пенообразованию, образованию «карманов» в столбике среды и изменению цвета питательной среды с красного на соломенно-желтый. В данном случае основным признаком роста является изменение окраски, т.к. процесс газообразования может быть не зафиксирован.

Наиболее вероятное число спор лактатсбраживающих анаэробных бактерий рассчитывают в соответствии с 6.5.9.

6.5.11 Методы выявления технически вредных термоустойчивых микроорганизмов (термофильных молочнокислых палочек и дрожжей)

При появлении ряда характерных пороков вкуса и консистенции молочных продуктов, связанных с чрезмерным развитием термостойких молочнокислых палочек и дрожжей, проводят усиленный контроль по их выявлению.

Критическими контрольными точками являются оборудование и пастеризованное молоко или сливки. Метод предназначен для оценки санитарно-гигиенического состояния сырья, производственного процесса, готового продукта и выявления источника микробиологической порчи продукта.

6.5.11.1 Выявление термоустойчивых микроорганизмов (молочнокислых палочек и дрожжей) на технологическом оборудовании

Сущность метода

Метод основан на способности термофильных молочнокислых палочек и дрожжей развиваться в молоке при температуре (42±2) °С с образованием сгустка (или без него в случае развития дрожжей) в течение 16-24 ч.

Проведение анализа

Стерильным тампоном, смоченным стерильным раствором хлористого натрия или стерильной водой, протирают исследуемый участок оборудования. Тампон опускают в пробирку со стерильным молоком.

Культивирование

Посевы выдерживают в течение 16-24 ч при температуре (42±2) °С (для выявления палочек) или при (24±1) °С (для выявления дрожжей).

Обработка результатов

После окончания культивирования просматривают пробирки с посевами и готовят микроскопические препараты.

Образование сгустка молока и наличие в микропрепарате палочек свидетельствуют о наличии термофильных молочнокислых палочек.

Наличие дрожжей определяют по микропрепарату.

6.5.11.2 Выявление термоустойчивых микроорганизмов (молочнокислых палочек) в пастеризованном молоке или сливках

Сущность метода

Метод основан на способности термостойких молочнокислых палочек развиваться в молоке при температуре (42±2) °С с образованием сгустка.

Проведение анализа

Готовят разведения исследуемого образца пастеризованного молока или сливок в стерильном растворе хлористого натрия или стерильной воды. Полученные разведения засевают в стерильное обезжиренное молоко по 4.6.2.14 (до 6 разведения).

Культивирование

Посевы выдерживают при температуре (42±2) °С в течение 72 ч.

Обработка результатов

Полученные сгустки микроскопируют и устанавливают наличие в них палочек.

6.6 Методы определения заквасочных микроорганизмов

6.6.1 Методы определения молочнокислых микроорганизмов

6.6.1.1 Метод определения общего количества молочнокислых микроорганизмов на среде КМАФАнМ

Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний молочнокислых микроорганизмов, вырастающих на плотной питательной среде КМАФАнМ при (30±1) °С в течение 72 ч.

Проведение анализа

Выбор разведений для посева

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного содержания молочнокислых микроорганизмов в соответствии с таблицей 15.

Таблица 15 – Объем или масса засеваемого продукта при определении молочнокислых микроорганизмов

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева, $см^3$ (г, ЕА)		
Сухой БК	0,00000001	0,000000001	0,0000000001
Производственная закваска	0,000001	0,0000001	0,00000001
Сыр после пресса и зрелый	0,00001	0,000001	0,0000001

Посев

Для определения общего количества молочнокислых микроорганизмов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает не менее 30 и не более 300 колоний. Из каждой пробы делают посев на две-три чашки из разведений, указанных в таблице 15 в соответствии с 5.6.1. 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 40-45 °С питательной средой для определения общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

Культивирование

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

Обработка результатов

Каждую чашку помещают вверх дном на темном фоне и проводят подсчет количества выросших колоний, пользуясь лупой с увеличением в 4-10 раз.

Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки чернилами.

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке аналогично 6.5.1.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

6.6.1.2 Метод определения общего количества термофильных молочнокислых микроорганизмов

Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний молочнокислых микроорганизмов, вырастающих на плотной питательной среде КМАФАнМ при (45±1) °С в течение 72 ч.

Проведение анализа

Анализ проводится аналогично 6.6.1.1, за исключением температуры культивирования, которая составляет (45±1) °С.

6.6.1.3 Метод определения общего количества молочнокислых микроорганизмов на стерильном молоке

Сущность метода

Метод основан на способности мезофильных молочнокислых бактерий развиваться при температуре (30±1) °С, а термофильных при (45±1) °С в обезжиренном молоке, выделяя кислоту. В результате чего молоко сворачивается, образуя сгусток в течение 72 ч.

Проведение анализа

Выбор разведений для посева, количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного содержания этих микроорганизмов в продукте.

Посев

Из каждой пробы делают ряд последовательных разведений (до 10). Из последних трех-четырех разведений вносят по 1 $см^3$ в 2 параллельные пробирки со стерильным обезжиренным молоком (4.6.2.14).

Культивирование

Пробирки с посевами помещают в термостат и выдерживают при температуре (30±1) °С для учета мезофильных молочнокислых бактерий или при температуре (45±1) °С для учета термофильных молочнокислых бактерий. Посевы выдерживают 72 ч.

Обработка результатов

В результате развития молочнокислых микроорганизмов в молоке образуется сгусток. Процесс образования сгустка фиксируется визуально.

Для проведения анализа состава молочнокислых микроорганизмов готовят микропрепараты. По микроскопическому препарату отмечают три последних разведения, содержащие определяемую группу микроорганизмов (палочки или кокки).

При подсчете количества бактерий пользуются методом НВЧ по 5.6.4.

Картина роста мезофильных и термофильных молочнокислых микроорганизмов представлена в приложении Г.

6.6.1.4 Определение общего количества ароматообразующих микроорганизмов

Сущность метода

Метод основан на способности цитратсбраживающих ароматообразующих микроорганизмов при развитии их на плотных питательных средах с цитратом кальция в течение 48-72 ч при температуре (30±1) °С образовывать зоны просветления вокруг колоний.

Проведение анализа

Выбор разведений для посева

Количество засеваемого продукта устанавливают с учетом наиболее вероятного содержания ароматообразующих микроорганизмов в соответствии с таблицей 16.

Таблица 16 – Объем или масса засеваемого продукта при определении общего количества ароматообразующих микроорганизмов

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева, $см^3$ (г, ЕА)		
Сухой БК	0,00000001	0,000000001	0,0000000001
Производственная закваска	0,000001	0,0000001	0,00000001
Сыр после пресса и зрелый	0,00001	0,000001	0,0000001

Посев

Для определения общего количества ароматообразующих мезофильных факультативно-анаэробных микроорганизмов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает не менее 20 и не более 200 колоний. Из каждой пробы делают посев на две-три чашки из разведений, указанных в таблице 16 в соответствии с 5.6.1. 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 40-45 °С питательной средой, приготовленной по 4.6.2.15. Осадок нерастворимого цитрата кальция в среде перед заливкой чашек необходимо тщательно перемешать до его равномерного распределения в среде.

Культивирование

После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат с температурой (30±1) °С на 48-72 ч.

Обработка результатов

Каждую чашку помещают вверх дном на темном фоне и проводят подсчет количества колоний, образовавших зоны просветления, пользуясь лупой с увеличением в 4-10 раз.

Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки чернилами.

Количество колоний, образовавших зоны просветления, подсчитывают на каждой чашке аналогично 6.5.1.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

Картина роста цитратсбраживающих ароматообразующих микроорганизмов представлена в приложении Г.

6.6.1.5 Определение молочнокислых микроорганизмов можно проводить на средах, предусмотренных в ГОСТ 10444.11. Данные среды могут быть использованы в качестве арбитражных.

6.6.2 Определение количества бифидобактерий

6.6.2.1 Определение количества бифидобактерий в плотных питательных средах

Сущность метода

Метод основан на способности бифидобактерий размножаться в анаэробных условиях на питательных средах при температуре (37±1) °С с образованием типичных колоний.

Проведение анализа

Перед проведением анализа среду по 4.6.2.11, разлитую высоким столбиком, нагревают в кипящей водяной бане до полного расплавления агара в среде и выдерживают в кипящей водяной бане в течение (25±5) мин для снижения в ней растворенного кислорода с целью усиления анаэробных свойств.

При определении бифидобактерий в смешанных с молочнокислыми бактериями культурах перед расплавлением в среду вносят стерильный раствор неомицина (4.5.5.1) или диклоксациллина (4.5.5.2). После расплавления среды пробирки охлаждают в водяной бане до температуры (45±2) °С.

Готовят разведения продукта с 1 по 7 (при посеве бифидосодержащего БК – с 1 по 9). Для выявления максимально возможного количества бифидобактерий, при необходимости, можно засевать вплоть до 12-го разведения.

Затем из трех-четырех последних разведений берут пипеткой по 1 $см^3$ и вносят в пробирки со средой. Пипетка с отобранным разведением опускается на дно пробирки, а затем медленно поднимается вращательным движением, таким образом, чтобы тщательно перемешать разведение со средой, не допустить попадание воздуха и ограничить пристеночный рост.

Проводят два параллельных определения.

Выращивание

Посевы выдерживают в термостате при температуре (37±1) °С в течение 2-3 сут, в случае определения бифидобактерий в смешанных с молочнокислыми бактериями культурах – 3-5 сут.

Обработка результатов

По окончании инкубирования учитывают последние пробирки, в которых выросли типичные для бифидобактерий колонии – в виде крупных «дисков» или «гречишных зерен». Отмечают разведение и подсчитывают количество выросших колоний.

Подтверждение принадлежности образовавшихся типичных колоний к бифидобактериям проводят методом микроскопирования.

Из типичных колоний последнего разведения готовят мазки, окрашенные метиленовым голубым по 4.4.2.2. При приготовлении микропрепарата на чистое предметное стекло наносят петлей небольшую каплю стерильной воды или физраствора и исследуемый материал, взятый с колонии. Материал тщательно размешивают и распределяют на площади около 1 $см^2$. Препарат высушивают при комнатной температуре, фиксируют в пламени горелки и красят метиленовым голубым. Бифидобактерии в препаратах имеют вид тонких, мелкозернистых, слегка изогнутых палочек с утолщениями на концах или без них; располагаются группами, в виде римских пятерок (V), скоплениями в виде китайских иероглифов, и могут образовывать короткие цепочки.

Вычисление содержания живых бифидобактерий X_4 в 1,0 $см^3$ (г) продукта проводят по формуле

$$X_4 = a \cdot 10^n, \qquad (4)$$

где X_4 – количество живых бифидобактерий в 1,0 $см^3$ (г) продукта;

a – среднее количество колоний в учитываемом разведении продукта, засеянном в 2 параллельных ряда;

10 – коэффициент децимального разведения;

n – показатель разведения продукта, в котором отмечен рост бифидобактерий.

Для определения истинного количества бифидобактерий в среде с неомицином результат следует удвоить.

Картина роста бифидобактерий на плотных питательных средах представлена в приложении Г.

6.6.2.2 Определение количества бифидобактерий в полужидких питательных средах

Сущность метода

Метод основан на способности бифидобактерий давать рост в питательных средах, разлитых высоким столбиком в пробирках, с образованием колоний при температуре (37±1) °С в течение 24-72 ч.

Проведение анализа

Перед проведением анализа среду для учета клеток бифидобактерий (4.6.2.12) следует разогреть в кипящей водяной бане в течение (20±5) мин.

При определении бифидобактерий в смешанных с молочнокислыми бактериями культурах перед расплавлением в среду вносят стерильный раствор неомицина (4.5.5). После расплавления пробирки охлаждают в водяной бане до температуры (45±2) °С.

Готовят разведения продукта с 1 по 7 (при посеве бифидосодержащего БК – с 1 по 9).

Затем из трех-четырех последних разведений берут пипеткой по 1 $см^3$ и вносят в пробирки со средой. Проводят два параллельных определения, при этом пробирки располагают в два параллельных ряда.

Пипетка с отобранным разведением опускается до дна пробирки, а затем медленно поднимается вращательным движением, чтобы тщательно перемешать разведение со средой, не допустить попадания воздуха и ограничить пристеночный рост.

Культивирование

Посевы выдерживают в термостате при температуре (37±1) °С в течение (72±1) ч. Допускается предварительный учет через (48±1) ч с последующим окончательным учетом через (72±1) ч.

Обработка результатов

По окончании инкубирования учитывают последние пробирки, в которых выросли типичные для бифидобактерий колонии – в виде «гвоздиков», «вытянутых веретен», иногда в виде «полос», расположенных вдоль пробирки.

Подтверждение наличия бифидобактерий - методом микроскопирования.

Из типичных колоний последнего разведения и со дна пробирки последующего разведения (без видимого роста типичных колоний бифидобактерий) готовят препараты, окрашенные метиленовым голубым (по 4.4.2.2). При приготовлении микропрепарата на чистое предметное стекло наносят петлей небольшую каплю исследуемого материала и распределяют на площади около 1 $см^2$. Препарат высушивают при комнатной температуре, фиксируют в пламени горелки и красят метиленовым голубым. Бифидобактерии имеют вид тонких, мелкозернистых, слегка изогнутых палочек с утолщениями на концах или без них; располагаются группами, в виде римских пятерок (V), скоплений в виде китайских иероглифов, могут образовывать короткие цепочки.

Поскольку анализируемые продукты, обогащенные бифидобактериями, являются кисломолочными, в мазках, в зависимости от вида продукта, могут присутствовать микроорганизмы молочнокислых заквасок (молочнокислые лактококки и палочки).

Вычисление содержания живых бифидобактерий X_5 в 1,0 $см^3$ (г) продукта проводят по формуле

$$X_5 = a \cdot 10^n, \qquad (5)$$

где a – среднее количество колоний в последнем разведении продукта, засеянном в 2 параллельных ряда:

10 – коэффициент децимального разведения;

n – показатель последнего разведения продукта, в котором отмечен рост бифидобактерий.

При обнаружении бифидобактерий микроскопией мазков придонного материала из того разведения, в котором не отмечено видимого роста колоний, учитывают степень этого разведения.

Для определения истинного количества бифидобактерий в среде с неомицином результат следует удвоить.

Картина роста бифидобактерий в полужидких питательных средах представлена в приложении Г.

6.6.3 Определение пропионовокислых бактерий

Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний пропионовокислых бактерий, вырастающих в высоком столбике плотной питательной среды при (30±1) °С в течение 5-7 сут.

Проведение анализа

Подготовка к анализу

Перед проведением анализа среду по 4.6.2.17, разлитую при приготовлении высоким столбиком в пробирки П1-21-200ТС или П2-21-200ТС с диаметром (21±2) мм и высотой (200±2) мм, нагревают в кипящей водяной бане до полного расплавления

агара в среде и выдерживают в кипящей водяной бане в течение (25±5) мин для снижения в ней растворенного кислорода с целью усиления анаэробных свойств. После расплавления пробирки охлаждают в водяной бане до температуры (45±2) °С.

Посев

При исследовании продукта или БК, содержащего пропионовокислые бактерии, готовят разведения с 1 по 7, при посеве моновидовых БК пропионовокислых бактерий готовят разведения с 1 по 9.

Затем из трех-четырех последних разведений берут пипеткой по 1 $см^3$ и вносят в пробирки со средой. Пипетка с отобранным разведением опускается до дна пробирки, а затем медленно поднимается вращательным движением, таким образом, чтобы тщательно перемешать разведение со средой, не допустить попадание воздуха и ограничить пристеночный рост. Пробирки с посевами охлаждают до застывания агара.

Проводят два параллельных определения.

Культивирование

После застывания агара пробирки с посевами помещают в термостат с температурой (30±1) °С на 5-7 сут.

Обработка результатов

По окончании инкубирования учитывают последние пробирки, в которых выросли типичные для пропионовокислых бактерий колонии – в виде крупных «дисков» или «гречишных зерен» обычно светло-кремового цвета. Колонии могут быть белыми, серыми, розовыми, красными, желтыми или оранжевыми. Отмечают разведение и подсчитывают количество выросших колоний.

Подтверждение принадлежности образовавшихся типичных колоний к пропионовокислым бактериям проводят методом микроскопирования и пробой на каталазу.

Из типичных колоний последнего разведения готовят мазки, окрашенные метиленовым голубым по 4.4.2.2. При приготовлении микропрепарата на чистое предметное стекло наносят петлей небольшую каплю стерильной воды или физраствора и исследуемого материала, взятого с колонии. Материал тщательно перемешивают с водой или физраствором и распределяют на площади около 1 $см^2$. Препарат высушивают при комнатной температуре, фиксируют в пламени горелки и красят метиленовым голубым. Пропионовокислые бактерии в препаратах имеют вид дифтероидных или булавовидных палочек с одним округленным концом, другой конец может быть конусообразным или заостренным, окрашивающимся менее интенсивно. Клетки некоторых культур могут быть кокковидными, удлиненными, раздвоенными и даже разветвленными. Клетки обычно располагаются поодиночке, парами, в виде букв V и Y, короткими цепочками или группами в виде «китайских иероглифов».

Проверку каталазной активности колоний, взятых для микроскопирования, проводят по 6.3.1. Пропионовокислые бактерии являются каталазоположительными.

Вычисление содержания пропионовокислых бактерий X_6 в 1,0 $см^3$ (г) продукта проводят по формуле

$$X_6 = a \cdot 10^n, \qquad (6)$$

где X_6 – количество пропионовокислых бактерий в 1,0 $см^3$ (г) продукта;

a – среднее количество колоний в учитываемом разведении продукта, засеянном в 2 параллельных ряда;

10 – коэффициент десятичного разведения;

n – показатель разведения продукта, в котором отмечен рост пропионовокислых бактерий.

6.6.4 Методы определения дрожжей в кисломолочных напитках (кефир и др.)

Определение дрожжей в кисломолочных напитках проводят в соответствии с 6.5.8 или ГОСТ 10444.12.

6.7 Методы контроля эффективности термообработки молока и молочных продуктов

6.7.1 Проверка эффективности пастеризации

6.7.1.1 Эффективность пастеризации контролируют в соответствии с требованиями ГОСТ 3623 определением щелочной или кислой фосфатазы, или пероксидазы в зависимости от вида пастеризации (низкотемпературная или высокотемпературная) путем испытания проб молока или продуктов его переработки.

Эффективность низкотемпературной пастеризации контролируют по отсутствию активности щелочной фосфатазы, инактивация которой происходит при температуре не ниже 63 °С с выдержкой 30 мин. Определение щелочной фосфатазы применяют для контроля эффективности пастеризации молока в сыроделии.

Эффективность высокотемпературной пастеризации контролируют по отсутствию активности пероксидазы, которая инактивируется при температуре пастеризации не ниже 80 °С с выдержкой 20-30 с. Определение пероксидазы применяют для контроля эффективности пастеризации при получении продуктов, в технологии производства которых заложены температуры пастеризации более высокие, чем температура инактивации данного фермента.

Эффективность высокотемпературной пастеризации контролируют по отсутствию активности кислой фосфатазы, инактивация которой происходит при температуре не ниже 85 °С с выдержкой 30 мин или при более высоких температурах пастеризации с соответственно меньшим временем выдержки. Определение кислой фосфатазы применяют для контроля эффективности пастеризации молока и сливок в маслоделии.

6.7.1.2 Эффективность пастеризации молока и жидких сырьевых компонентов контролируют микробиологическим методом – путем испытания проб, отобранных после секции охлаждения, на наличие санитарно-показательных микроорганизмов (БГКП) по 6.5.7.1.

6.7.2 Метод определения промышленной стерильности

Сущность метода

Метод основан на способности микроорганизмов, выдержавших стерилизацию, размножаться и давать рост в стерилизованных молочных продуктах при температуре 37 °С в течение 3-5 сут и вызывать в них органолептические и физико-химические изменения.

После термостатной выдержки допускаются следующие изменения:

- титруемой кислотности не более, чем на 2 °Т;
- КМАФАнМ – не более 10 КОЕ/см^3 (г).

Проведение анализа стерилизованных молочных продуктов, в том числе масла сливочного стерилизованного и сыра плавленого специального назначения

Отобранные по 5.2 единицы потребительской тары со стерилизованным продуктом выдерживают в термостате при температуре (37±1) °С в течение 3-5 сут. По истечении срока термостатной выдержки упаковочные единицы с продуктом охлаждают до (20±5) °С и подвергают внешнему осмотру.

При наличии вздутия крышки или донышка упаковки, не опадающего при нажатии пальцами, упаковочную единицу с продуктом считают бракованной и отмечают в журнале.

Стерилизованные молочные продукты не подлежат оценке на промышленную стерильность, если:

- обнаружена негерметичность швов или укупорки тары;
- после термостатирования и охлаждения обнаружены дефектные упаковочные единицы.

Упаковочные единицы без внешних дефектов вскрывают, анализируют органолептически и по микробиологическим показателям безопасности.

Если при анализе стерилизованного продукта в герметично укупоренной таре продукт сохранил после термостатирования стандартный внешний вид, значение его кислотности соответствует значению, указанному в нормативном документе, а при микроскопировании продукта обнаружены единичные клетки (не более 10), и в посевах не обнаружены жизнеспособные микроорганизмы или обнаружены в допустимых пределах, то консервы считают промышленно-стерильными.

7 Организация контроля санитарно-гигиенического состояния производства

Санитарно-гигиеническое состояние производства должно обеспечивать выпуск продукции гарантированного качества за счет организации системы мер и осуществления контроля по их исполнению. Контроль за санитарно-гигиеническим состоянием производства предполагает:

- контроль санитарно-гигиенического состояния оборудования, трубопроводов, инвентаря, упаковочных материалов и т.д.;
- контроль санитарно-гигиенического состояния воздушной среды производственных помещений;
- контроль гигиенического состояния питьевой воды;
- контроль соблюдения гигиены работниками предприятия.

7.1 Контроль санитарно-гигиенического состояния оборудования, трубопроводов, инвентаря, упаковочных материалов и т.д.

Контроль санитарно-гигиенического состояния оборудования, трубопроводов, инвентаря, упаковочных материалов и т.д. проводится путем взятия смывов с их поверхности и последующем их анализе.

Подготовка к проведению анализа

Для отбора смывов можно использовать:

- стерильную воду;
- раствор хлористого натрия;
- жидкую среду Кесслер (выходной контроль);
- среду Кода.

Смывы отбирают:

- стерильными ватными тампонами, закрепленными на стеклянных, металлических или деревянных палочках, которые вставлены в пробирки с ватными или другими пробками;
- ватными или марлевыми тампонами, стерилизованными в бумажных пакетах, с использованием стерильных (профламбированных) пинцетов.

Непосредственно перед взятием смыва тампон увлажняют путем наклонения пробирки или опусканием тампона в жидкость.

В исследуемых смывах контролируют:

- КМАФАнМ – посевом 1 $см^3$ смывной жидкости;
- отсутствие/наличие БГКП во всем объеме смывной жидкости, включая тампон.

При необходимости определения КМАФАнМ и БГКП смывы готовят в растворе хлористого натрия или воды, которые разливают в пробирки по 5 $см^3$. Стерильный тампон смачивают в растворе хлористого натрия или воды, делают смыв и возвращают тампон в пробирку. Пробирку тщательно встряхивают.

Проведение анализа

Из полученного смыва отбирают 1 $см^3$ для посева на КМАФАнМ (4.6.2.1), а остальное переносят в среду Кесслер (4.6.2.2 А) или среду КОДА (4.6.2.3) для определения признаков роста БГКП. В смывах, приготовленных с использованием раствора хлористого натрия или воды, БГКП можно определять с использованием микробитестов для редуцирующих бактерий (6.4.10.4).

При определении только БГКП отбор смывов можно проводить непосредственно на среды Кесслер или КОДА, которые разливают в пробирки по 5 $см^3$.

Тампон смачивают:

- либо непосредственно средой;
- либо раствором хлористого натрия или воды.

После проведения смывов тампоны либо возвращают в пробирку со средой, либо помещают в раствор хлористого натрия или воды, а затем всю смывную жидкость с тампоном переносят в пробирки со средой для дальнейшего проведения анализа.

Техника отбора смывов с оборудования, трубопроводов и инвентаря

Контроль качества мойки и дезинфекции трубопроводов, оборудования и инвентаря осуществляется непосредственно перед началом их работы (оборудование, не используемое после мойки и дезинфекции более 6 ч, вторично дезинфицируется перед началом работы).

Смывы с крупного оборудования и инвентаря берут с поверхности площадью 100 $см^2$, используя стерильный трафарет площадью 100 $см^2$ или 50 $см^2$ (два раза). При отсутствии трафарета площадь смыва определяется визуально.

Смывы с мелкого оборудования и инвентаря берут со всей поверхности.

Смывы с оборудования, имеющего несколько поверхностей или сложную конфигурацию, делают с разных поверхностей в отдельности. Точками отбора смывов являются: дно, боковая поверхность, стенки около крана, рабочая поверхность крышки, мешалки и т.д.

В резервуарах большого объема, где взятие пробы с задних и верхних стенок резервуара из люка рукой невозможно, смывы делают при помощи специальных приспособлений (приспособления, дающие возможность удлинить ручку пробника), с соблюдением условий стерильности.

Смывы с кранов берут со всей поверхности крана в разобранном состоянии.

Микробиолог проводит контроль санитарно-гигиенического состояния оборудования и инвентаря без предупреждения в соответствии с порядком внутрипроизводственного контроля и качеством выпускаемой продукции.

Показатели санитарного состояния оборудования и инвентаря оцениваются в соответствии с таблицей 17. В случае несоответствия (превышения) показателей следует считать санитарную обработку **неэффективной**, что предполагает применение усиленных мер.

Таблица 17 – Микробиологические показатели санитарного состояния оборудования и инвентаря

Объект контроля	Исследуемая поверхность	Микробиологические показатели		
		БГКП	КМАФАнМ, КОЕ/$см^3$	Плесневые грибы, КОЕ/$см^3$
Оборудование и инвентарь:				
молочные цистерны, резервуары (крышка, стенка, угол, дно)	100 $см^2$	отсутствие	≤ 100	–

Объект контроля	Исследуемая поверхность	Микробиологические показатели		
		БГКП	КМАФАнМ, КОЕ/см^3	Плесневые грибы, КОЕ/см^3
резервуары (резина, мешалка, щуп, верхний кран, нижний кран, отверстие стеклянной трубки)	вся поверхность	отсутствие	≤ 100	–
фляги, ушаты	100 см^2	отсутствие	–	–
трубы	100 см^2	отсутствие	–	–
краны	вся поверхность	отсутствие	–	–
ванны для заквасок (крышка, стенка, угол, дно, трубы)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
ванны для заквасок (мешалка, кран)	вся поверхность	отсутствие	≤ 100	–
сырные ванны, сыроизготовители, маслоизготовители	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
ванны для производства творога (стенка, угол, дно, штуцер)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
мешочки для творога	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
ванны для производства альбуминной массы, паст, соусов (стенка, угол, дно, штуцер)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
пресс-охладитель (стенка барабана, вальца)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
ванны для самопрессования творога и др.	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
вакуум-аппарат (патрубок для входа молока, стенка, крышки, трубки калоризатора, патрубок на выходе сгущенного молочного продукта)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
вакуум-кристаллизатор (стенка, мешалка, патрубок на выходе готового продукта)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
автоматы для фасовки молочных продуктов, в том числе для творога, творожных изделий, масла (бункер, мешалки, дозатор, пуансон, два гнезда для фасованного продукта, бумага, транспортер)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
разливочно-закаточная машина (бачок, мерные стаканы для дозирования сгущенного продукта)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
разливочно-укупорочные автоматы РУА, ТБА, П/пак и т.д.	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–

Объект контроля	Исследуемая поверхность	Микробиологические показатели		
		БГКП	КМАФАнМ, КОЕ/см^3	Плесневые грибы, КОЕ/см^3
Тара и упаковка:				
потребительская тара	вся внутренняя поверхность 10 единиц	отсутствие	≤ 100	–
крышки для банок	вся поверхность	отсутствие	≤ 100	–
капсюли укупорочные для бутылок, банок	поверхность 10 единиц	отсутствие	≤ 100	–
транспортная тара (крышка, стенка, дно)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
упаковочные материалы (пергамент, кашированная фольга, пленка и др.)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	от 0 до 5
ящики для молочных продуктов (крышка, стенка, дно)	100 см^2	отсутствие	≤ 100	–
Деревянное оборудование (полки, стеллажи, мешалки и т.д.)	100 см^2	отсутствие	–	отсутствие
Руки работников*	вся поверхность обеих рук (кистей)	отсутствие	–	–
Спецодежда	100 см^2	отсутствие	–	–

Примечание - Знак «–» в таблице обозначает, что анализ не проводится.
Рекомендуемая периодичность контроля:
- наличие/отсутствие БГКП – 1 раз в декаду;
- КМАФАнМ – усиленный контроль;
- наличие/отсутствие плесневых грибов проводят при усиленном контроле;
- усиленный контроль показателей проводят при появлении тех или иных характерных органолептических пороков продуктов или при снижении их хранимоспособности.

* Посев смывной жидкости с рук проводят аналогично посевам смывов с оборудования.

Смывы с трубопроводов и шлангов делают со 100 см^2 внутренней поверхности трубы, разбирая собранный для работы трубопровод в намеченном для исследования месте.

Для правильного взятия смыва проводится предварительный расчет глубины введения тампона внутрь трубы по формуле

$$Г = 100/3,14 \cdot D, \quad (6)$$

где Г – глубина введения тампона внутрь трубы, см;
D – диаметр трубопровода, см.

Например, чтобы отобрать смыв с поверхности трубы диаметром 50 мм, вводят стерильный, смоченный тампон внутрь трубы на 6,5 см, а при диаметре 36 мм – на 9 см.

После ввода тампона в трубу на требуемую глубину его продвигают к выходу, делая вращательные движения.

Смывы с безразборного трубопровода, или трубопровода большой протяженности, имеющего свободный доступ только к входу и выходу, проводят путем отбора последней порции промывных вод.

Вакуум-аппараты. При контроле чистоты мойки вакуум-аппарата смывы берут с трубок калоризаторов и с внутренних стенок сепаратора.

Смывы со стенок сепараторов берут через отверстия люка, с трубок калоризатора – после открытия крышки. С внутренней части десяти трубок калоризатора смывы берут специальным, приготовленным для этой цели длинным пинцетом или металлическим стержнем; на пинцет или металлический стержень навертывают кусочек стерильной ваты, смоченной в растворе хлористого натрия из колбы с 30 $см^3$ раствора хлористого натрия. На стержне делают отметку на расстоянии 10 см от конца. Ватой протирают трубку калоризатора на глубине 10 см. Расчет количества микроорганизмов проводят на 100 $см^2$ внутренней поверхности трубы.

С внутренних стенок вакуум-аппарата смыв берут также металлическим стержнем со стерильной ватой на конце с поверхности, приблизительно равной 100 $м^2$.

Допускается определять качество мойки вакуум-аппарата путем исследования конденсата, собранного из крана выхода сгущенного продукта после пропаривания вакуум-аппарата.

Проводят посев 1 $см^3$ смыва или конденсата на среду КМАФАнМ для определения общего количества бактерий и 1 $см^3$ смыва или конденсата в 5 $см^3$ среды Кесслер для определения БГКП.

Емкости малого и среднего размера (фляги, бидоны, ушаты и т.д.). Контроль чистоты мойки можно проводить методом смывов с определенной поверхности (дно, стенка, крышка) по 7.1.

Цеховой инвентарь (мешалки, мутовки, лотки и т.д.). Для оценки эффективности мойки цехового инвентаря пробы отбирают со всей поверхности в тот момент, когда инвентарь подготовлен к работе непосредственно перед использованием.

Упаковка и упаковочные материалы (пергамент, кашированная фольга, пленка полистироловая, полимерные материалы для упаковки сыра, комбинированные материалы для упаковки молочных продуктов и др. упаковочные материалы).

Для определения чистоты упаковочных материалов разворачивают исследуемый рулон и с внутренней поверхности берут смывы стерильным ватным тампоном со 100 $см^2$. Смывы помещают в пробирки с 5 $см^3$ стерильного раствора хлористого натрия или воды.

Емкостная упаковочная тара (стеклянные, полистирольные банки, стаканчики, коробочки, бутылочки и т.д.).

Для контроля чистоты мойки емкостной упаковочной тары берут 20 $см^3$ стерильного раствора хлористого натрия или стерильной воды. Для анализа отбирают 10 упаковочных единиц (банок и т.д.). В первую банку вливают 20 $см^3$ стерильного раствора хлористого натрия или воды. Банку держат над горелкой под углом 45 °С, чтобы не попадала микрофлора из воздуха. Поворотом банки смачивается раствором вся ее внутренняя поверхность, и смывной раствор сливается в следующую банку. Таким образом, одной порцией стерильного раствора обрабатывают все 10 банок. Из последней банки раствор выливают обратно в колбу, в которой был стерильный раствор хлористого натрия или воды. 1 $см^3$ смывной жидкости засевает-

ся в чашку Петри для определения общего количества микроорганизмов, а оставшаяся смывная жидкость засевается в пробирку со средой Кесслер (5 $см^3$).

Деревянная тара (ящики, бочки, кадки и т.д.)

Для проверки качества мойки деревянной тары пробы отбирают в тот момент, когда мойка закончена и тара подготовлена к использованию. Пробу берут ватным или марлевым тампоном с поверхности площадью приблизительно 100 $см^2$ и помещают в 5 $см^3$ среды Кесслер. Анализируют отдельно смывы со стенок тары, дна, углов.

Текстильные изделия (спецодежда, фильтрующие материалы, серпянка, мешки и т.д.)

Контроль санитарной одежды проводят у работников на производственных участках, связанных с сырьем, полуфабрикатами, готовой продукцией на разных этапах выработки молочных продуктов.

Отбор проб проводят методом смыва с площади 100 $см^2$ с передних пол и рукавов халата. Пробы помещают в 5 $см^3$ среды Кесслер. Спецодежду признают удовлетворительного санитарного состояния при отсутствии БГКП.

Смывы также контролируют по наличию или отсутствию условно-патогенных и патогенных микроорганизмов в аккредитованной в установленном порядке лаборатории. Допустимые нормы содержания условно-патогенных и патогенных микроорганизмов и рекомендуемая периодичность контроля приведены в приложении Б.

7.2 Контроль санитарно-гигиенического состояния воздушной среды осуществляется по следующим микробиологическим показателям:

- КМАФАнМ;
- общее количество дрожжей и плесневых грибов.

Проведение анализа

Посев воздуха проводят путем прямого контакта воздушной среды с поверхностью твердой питательной среды, разлитой на чашки Петри, либо микробитестом, смоченным водой и помещенным в чашку Петри. В результате клетки микроорганизмов, находящиеся в воздухе, имеют возможность свободно оседать на поверхность среды.

Для определения КМАФАнМ используется среда КМАФАнМ, приготовленная по 4.6.2.1, для определения дрожжей и плесеней – среда Сабуро (4.6.2.8) или среда для определения дрожжей и плесеней (4.6.2.7), или микробитесты для определения дрожжей и плесеней.

Для проведения посева чашки Петри со средами или микробитестом размещают на стерильной бумаге, расстеленной на горизонтальной поверхности. Верхнюю крышку снимают и располагают рядом с чашкой вверх дном, защищая внутреннюю поверхность крышки от контакта с воздушной средой.

Чашки выдерживают в открытом состоянии в течение 5 мин для осуществления контакта с воздухом, затем закрывают крышками.

Культивирование

Посевы воздуха для определения КМАФАнМ выдерживают при 30 °С в течение 72 ч, для количественного определения дрожжей и плесеней – при 24 °С в течение 5 сут, как в случае использования питательных сред, так и микробитестов.

Обработка результатов

Подсчитывают количество колоний на чашках и проводят сравнение полученных результатов в соответствии с данными таблицы 18.

Таблица 18 – Микробиологические показатели при контроле санитарно-гигиенического состояния воздушной среды

Объект исследования	Допустимая норма содержания		
	КМАФАнМ, КОЕ	Плесени*, КОЕ	Дрожжи*, КОЕ
Воздух производственных помещений	до 70	до 5	до 5
Воздух непроизводственных помещений	до 100	до 15	до 10
* Для молочноконсервных заводов дрожжи и плесени в воздухе не допускаются.			

Периодичность контроля:

- зависит от назначения контролируемого помещения, его места в технологической цепи, как возможного источника обсеменения продукта и проводится 1 раз в месяц. Особое внимание следует уделять участкам фасовки продукции и камерам созревания сыров;

- усиленный контроль показателей проводят при появлении тех или иных характерных органолептических пороков продуктов (поверхностное плесневение) или при снижении их хранимоспособности;

- при стабильном качестве продукции контроль может проводиться только по показателю содержания дрожжей и плесневых грибов.

В случае если содержание нормируемой микрофлоры превышает допустимые нормы, то воздух помещения подлежит обработке с целью снижения уровня его обсемененности.

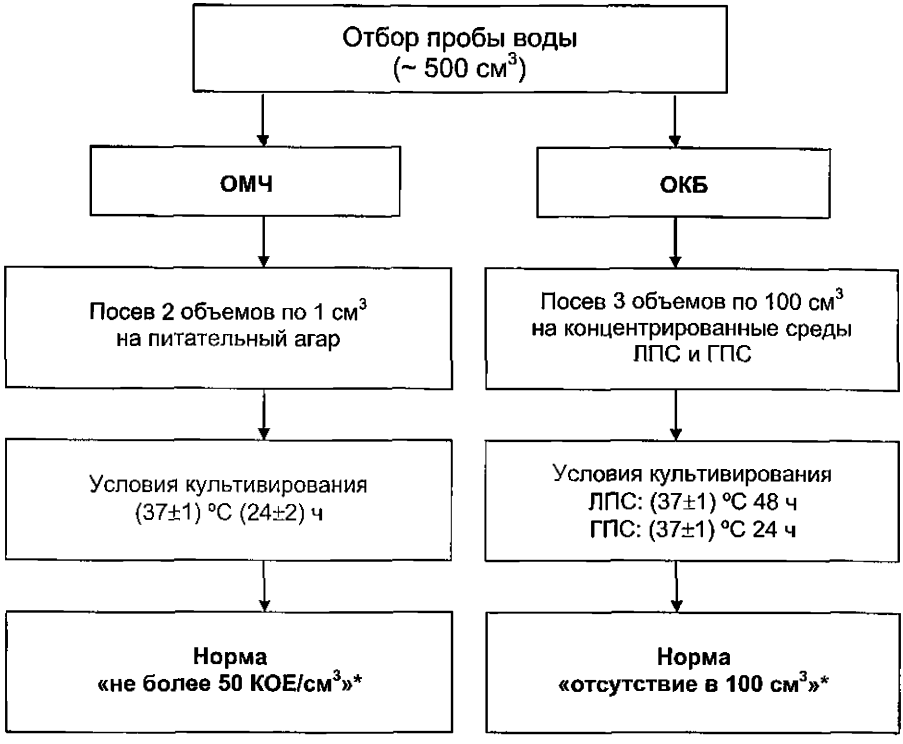
7.3 Контроль санитарно-гигиенического состояния питьевой воды

Контроль санитарно-гигиенического состояния питьевой воды проводят в соответствии с СанПиН 2.1.4.1074; ГОСТ Р 51232, ГОСТ 18963; МУК 4.2.1018 по следующим микробиологическим показателям:

- термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ);
- общие колиформные бактерии (ОКБ);
- КМАФАнМ (ОМЧ).

Упрощенная схема контроля качества воды в условиях производственных лабораторий представлена на рисунке 1.

Полная схема контроля качества воды в условиях производственных лабораторий представлена на рисунке 2.



- результаты исследований укладываются в установленные нормы – соответствие требованиям безопасности;
- результаты превышают установленные нормы – несоответствие требованиям безопасности и необходимость усиленной санобработки воды.

Рисунок 1 – Упрощенная схема контроля качества воды в условиях производственных лабораторий по программе производственного контроля

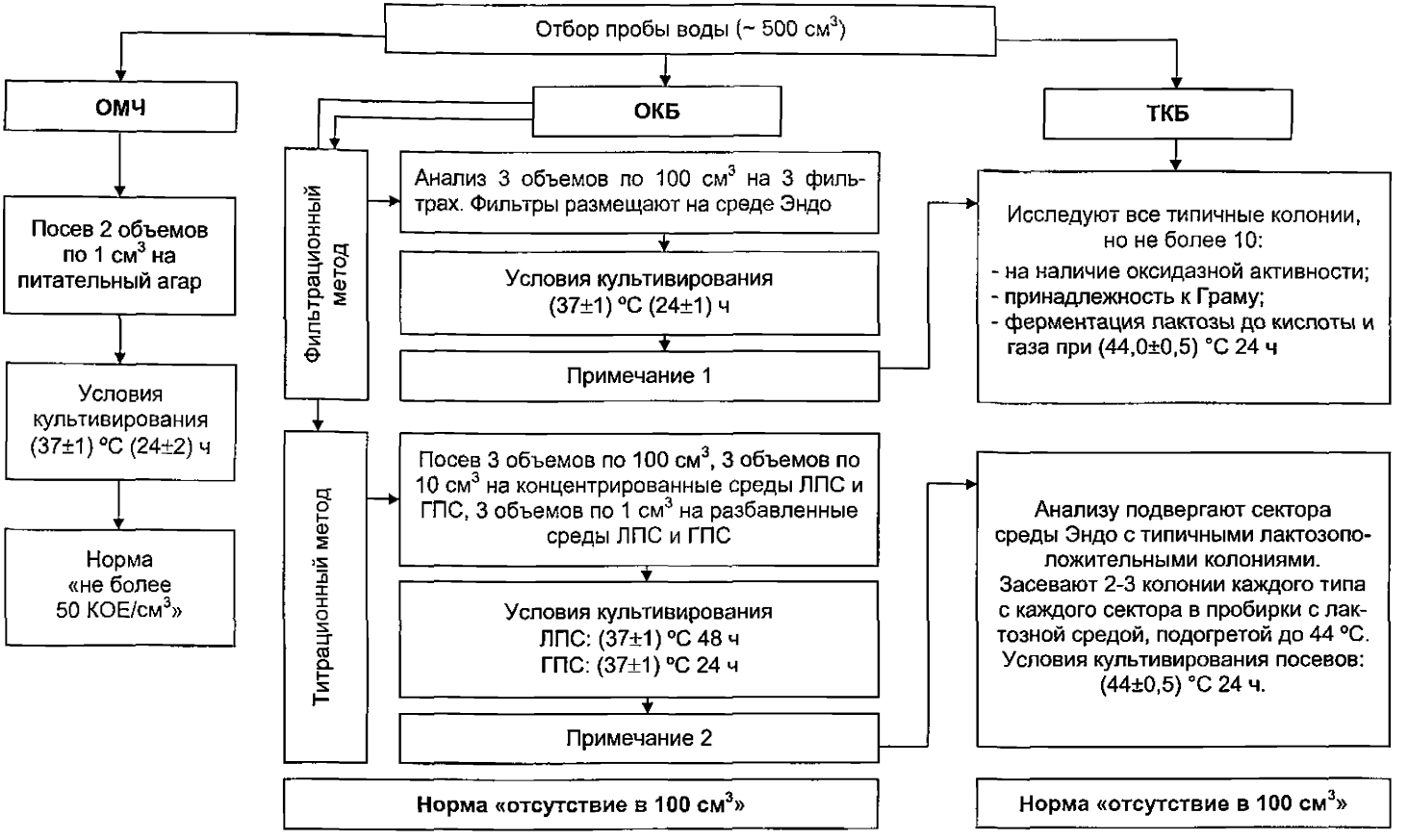


Рисунок 2 – Полная схема контроля качества воды в условиях производственных лабораторий

Примечание 1

Результаты посева фильтров на среде Эндо:

- на фильтрах нет роста колоний или рост пленчатых, губчатых, плесневых колоний – результат «отсутствие ОКБ и ТКБ в 100 $см^3$ воды». Анализ закончен через 24 ч;

- на фильтрах рост изолированных типичных лактозоположительных колоний – подсчитывают число колоний каждого типа отдельно, подтверждают их принадлежность к ОКБ и ТКБ (исследуют не менее 3-4 колоний каждого типа) по признакам:

  - оксидазный тест;
  - принадлежность к Граму;
  - ферментация лактозы на лактозной среде при (37±1) °С 48 ч для ОКБ и при (44±0,5) °С 24 ч для ТКБ.

Примечание 2

Результаты посева воды на среду накопления:

- отсутствие помутнения и образования кислоты и газа в засеянных объемах воды - результат «отсутствие ОКБ и ТКБ в 100 $см^3$ воды». Анализ закончен через 24 ч;

- из флаконов, где отмечено помутнение и образование кислоты и газа, а также помутнение и кислота при использовании ГПС или помутнение при использовании ЛПС, делают высев на среду Эндо. При отсутствии роста колоний или росте пленчатых, губчатых, плесневых колоний – результат «отсутствие ОКБ и ТКБ в 100 $см^3$ воды». Анализ закончен через 24 ч. Рост изолированных типичных лактозоположительных колоний – подсчитывают число колоний каждого типа отдельно, подтверждают их принадлежность к ОКБ и ТКБ по признакам:

  - оксидазный тест;
  - принадлежность к Граму;
  - ферментация лактозы на лактозной среде при (37±1) °С 48 ч для ОКБ и при (44±0,5) °С 24 ч для ТКБ.

7.3.1 Отбор проб для контроля воды

Для отбора проб воды используют специально предназначенную для этих целей одноразовую посуду или емкости многократного применения, изготовленные из материалов, не влияющих на жизнедеятельность микроорганизмов.

Емкости должны быть оснащены плотно закрывающимися пробками (силиконовыми, резиновыми или из других материалов) и защитным колпачком (из алюминиевой фольги, плотной бумаги). Многоразовая посуда, в т.ч. пробки, должна выдерживать стерилизацию сухим жаром или автоклавированием.

При отборе проб в одной и той же точке для различных целей первыми отбирают пробы для микробиологических исследований. Если отбирают воду после обеззараживания химическими реагентами, то для нейтрализации остаточного количества дезинфектанта в емкость, предназначенную для отбора проб, вносят до стерилизации натрий серноватисто-кислый в виде кристаллов из расчета 0,01 г на 500 $см^3$ воды.

Пробу отбирают в стерильные емкости. Емкость открывают непосредственно перед отбором, удаляя пробку вместе со стерильным колпачком. Во время отбора пробка и края емкости не должны чего-либо касаться. Ополаскивать посуду запрещается.

При исследовании воды из распределительных сетей отбор проб из крана проводят после предварительной его стерилизации обжиганием и последующего спуска воды не менее 10 мин при полностью открытом кране. При отборе проб напор воды может быть уменьшен. Пробу отбирают непосредственно из крана без резиновых шлангов, водораспределительных сеток и других насадок. Если через пробоотборный кран происходит постоянный излив воды, отбор проб проводят без предва-

рительного обжига, не изменяя напора воды и существующей конструкции (при наличии силиконовых или резиновых шлангов).

При заполнении емкостей должно оставаться пространство между пробкой и поверхностью воды, чтобы пробка не смачивалась при транспортировании.

После наполнения емкость закрывают стерильной пробкой и колпачком.

Отобранную пробу маркируют и сопровождают документом отбора проб воды с указанием места, даты, времени забора, фамилии специалиста, отбирающего пробу, и другой информации.

Пробы воды можно хранить при температуре 4-10 °С не более 6 ч. Если пробы нельзя охладить, их анализ следует провести в течение 2 ч после забора.

7.3.2 Проведение анализов

7.3.2.1 Определение общего числа микроорганизмов (ОМЧ)

Сущность метода

Метод основан на определении общего числа мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (ОМЧ), способных образовывать колонии на питательном агаре или агаре для определения КМАФАнМ при температуре 37 °С в течение 24 ч, видимых с увеличением в два раза.

Проведение анализа

Пробу воды тщательно перемешивают, вносят в чашки Петри по 1 $см^3$ и проводят посев в соответствии с 5.6.1. При этом из каждой пробы делают посев не менее двух объемов по 1 $см^3$.

Обработка результатов

Подсчитывают все выросшие на чашке колонии, наблюдаемые при увеличении в два раза. Количество колоний на обеих чашках суммируют и делят на два. Результат выражают числом колоний образующих единиц (КОЕ) в 1 $см^3$ исследуемой пробы воды.

Если подсчет отдельных колоний на чашках невозможен, то в протоколе отмечают сплошной рост.

Общее число микроорганизмов (ОМЧ) должно составлять не более 50 КОЕ/$см^3$. При получении неудовлетворительных результатов проводится усиленная обработка воды и повторный анализ.

7.3.2.2 Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий методом мембранной фильтрации (основной метод)

Сущность метода

Метод основан на концентрировании бактерий из определенного объема анализируемой воды на мембранном фильтре, выращивании их при (37±1) °С на дифференциальной питательной среде с лактозой и последующей идентификации колоний по культуральным и биохимическим свойствам.

Проведение анализа

Подготовка мембранных фильтров

Мембранные фильтры № 2 или № 3, а также планктонные фильтры № 6, проверенные на отсутствие трещин, отверстий и т.п., помещают по одному на поверхность дистиллированной воды, нагретой до 80 °С в стакане (в чашке для выпаривания, эмалированной кастрюле и др.) и медленно доводят до кипения на слабом огне, после чего воду заменяют и кипятят 10 мин. Смену воды и последующее кипячение повторяют 3-5 раз до полного удаления остатков растворителей из фильтров, после чего они готовы к работе. Подготовленные фильтры хранят сухими или в широко-

горлой банке с дистиллированной водой. Перед употреблением фильтры стерилизуют кипячением в дистиллированной воде.

Фильтрующие мембраны «Владипор» марки МФА-МА №№ 5, 6, 7, 8 и 10, визуально проверенные на отсутствие трещин, отверстий, пузырей и т.п., стерилизуют кипячением. При этом во избежание скручивания мембран необходимо соблюдать следующие правила. На дно стакана или другой емкости, в котором проводят кипячение, помещают «сторож для молока» или нержавеющую сетку для ограничения бурного кипения. Дистиллированную воду заливают в стакан или емкость в небольшом объеме, ограничивающем свободное вращение в ней фильтрующих мембран. Однако вода должна покрывать предназначенные для стерилизации фильтрующие мембраны. Дистиллированную воду доводят в сосуде до 80-90 °С, после чего, убавив нагрев, на поверхность воды по одной помещают фильтрующие мембраны. Воду с помещенными в нее мембранами медленно доводят до кипения и кипятят на слабом огне в течение 10-15 мин. Затем воду сливают и заменяют небольшим количеством (чтобы покрыть фильтрующие мембраны) стерильной дистиллированной воды. После чего фильтрующие мембраны готовы к употреблению. При необходимости проводят повторное кипячение фильтрующих мембран.

Подготовка фильтровального аппарата к анализу

Перед посевом воды фильтровальный аппарат стерилизуют фламбированием после обтирания ватным тампоном, смоченным спиртом. После охлаждения на нижнюю часть фильтровального аппарата (столик) кладут фламбированным пинцетом стерильный мембранный фильтр, прижимают его верхней частью прибора (стаканом, воронкой) и закрепляют устройством, предусмотренным конструкцией прибора.

Выполнение анализа

При исследовании питьевой воды анализируют 3 объема по 100 $см^3$.

При получении стабильных отрицательных результатов допустима фильтрация 300 $см^3$ через один фильтр.

При фильтрации воды неизвестного качества целесообразно увеличение количества фильтруемых объемов для получения изолированных колоний на фильтре (например, 10, 40, 100, 150 $см^3$ воды).

Отмеренный объем воды фильтруют через мембранные фильтры.

Фильтры помещают на среду Эндо. Чашки с фильтрами ставят в термостат дном вверх и инкубируют посевы при температуре (37±1) °С в течение (24±2) ч.

Если на фильтрах нет роста или выросли пленчатые, губчатые, плесневые, прозрачные, расплывчатые колонии, выдают отрицательный ответ: отсутствие ОКБ И ТКБ в 100 $см^3$ исследуемой воды.

Анализ заканчивают через 24 ч.

Если на фильтрах обнаружен рост изолированных типичных лактозоположительных колоний: темно-красных, красных с металлическим блеском или без него или других подобного типа колоний с отпечатком на обратной стороне фильтра, подсчитывают число колоний каждого типа отдельно и приступают к подтверждению их возможной принадлежности к ОКБ и ТКБ.

Для подтверждения наличия ОКБ исследуют:

- все колонии, если на фильтрах выросло менее 5 колоний;
- не менее 3-4 колоний каждого типа.

Для подтверждения наличия ТКБ исследуют все типичные колонии, но не более 10.

Каждую выбранную изолированную колонию исследуют на:

- наличие оксидазной активности;
- окраску по Граму по 6.4.1;
- ферментацию лактозы до кислоты и газа.

Постановка оксидазного теста проводится по 6.3.2.

При контроле качества воды оксидазный тест предназначается для дифференциации бактерий семейства Enterobacteriaceae от бактерий семейства Pseudomonadaceae и других водных сапрофитных бактерий.

При положительном результате колонию из дальнейшего исследования исключают.

Если при исследовании колоний, окрашенных в темно-красный цвет, получают недостаточно четкий результат, необходимо пересеять культуру со среды Эндо на питательный агар. После инкубации тест повторяют.

Определение ферментации лактозы

Оставшуюся часть оксидазоотрицательной грамотрицательной изолированной колонии засевают параллельно в две пробирки с лактозной средой (лактозопептонной или полужидкой средой с лактозой) по 4.6.2.4:

- для подтверждения наличия ОКБ посев инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 48 ч;
- для подтверждения наличия ТКБ посев осуществляют в среду, предварительно подогретую до температуры 43-44 °С, и инкубируют при температуре (44,0±0,5) °С в течение 24 ч.

Первичный учет образования кислоты и газа на подтверждающих полужидких средах возможен через 4-6 ч.

При обнаружении кислоты и газа дают положительный ответ.

При отсутствии кислоты и газа или при наличии только кислоты пробирки с посевами для окончательного учета ТКБ продолжают инкубировать до 24 ч.

Пробирки с посевами для подтверждения наличия ОКБ после просмотра через 24 ч и получения отрицательного результата продолжают инкубировать до 48 ч для окончательного учета.

Если колония, подлежащая исследованию, незначительных размеров, ее пересевают на скошенный питательный агар и после инкубации в течение 18-24 ч выполняют все необходимые подтверждающие тесты.

Грамотрицательные колонии учитываются как ОКБ при отрицательном оксидазном тесте и ферментации лактозы при температуре 37 °С с образованием кислоты и газа.

Грамотрицательные колонии учитываются как ТКБ при отрицательном оксидазном тесте и ферментации лактозы при температуре 44 °С с образованием кислоты и газа.

Если проведенные тесты дают положительный результат о принадлежности исследованных колоний к ОКБ (оксидазоотрицательные, грамотрицательные, ферментирующие лактозу с образованием кислоты и газа), то мы говорим о присутствии ОКБ в исследованном объеме.

Обработка результатов

При отсутствии общих и термотолерантных колиформных бактерий на всех фильтрах результат записывают «не обнаружено КОЕ ОКБ в 100 $см^3$» и «не обнаружено КОЕ ТКБ в 100 $см^3$».

После идентификации всех выросших подозрительных колоний число колониеобразующих единиц ОКБ и ТКБ подсчитывают на всех фильтрах и выражают числом КОЕ в 100 $см^3$ воды.

7.3.2.3 Определение общих и термотолерантных колиформных бактерий титрационным методом

Титрационный метод может быть использован:

- при отсутствии материалов и оборудования, необходимых для выполнения анализа методом мембранной фильтрации;
- при анализе воды с большим содержанием взвешенных веществ;
- в случае преобладания в воде посторонней микрофлоры, препятствующей получению на фильтрах изолированных колоний общих колиформных бактерий.

Сущность метода

Метод основан на накоплении бактерий после посева установленного объема воды в жидкую питательную среду с последующим пересевом на дифференциальную плотную питательную среду с лактозой и последующей идентификации колоний по культуральным и биохимическим тестам.

Проведение анализа

При исследовании питьевой воды качественным методом (текущий санэпидемнадзор, производственный контроль) засевают 3 объема по 100 $см^3$ исследуемой воды.

При исследованиях воды с целью количественного определения ОКБ и ТКБ при повторном анализе проводят посев: 3 объемов по 100 $см^3$, 3 объемов по 10 $см^3$ и 3 объемов по 1 $см^3$.

Каждый объем исследуемой воды засевают в лактозо-пептонную или глюкозо-пептонную среду, приготовленные по 4.6.2.4. Посев 100 $см^3$ и 10 $см^3$ воды проводят в 10 $см^3$ и 1 $см^3$ концентрированной среды, посев 1 $см^3$ пробы проводят в 10 $см^3$ среды обычной концентрации.

Посевы инкубируют при (37±1) °С в течение 24 ч при проведении анализа на среде ГПС и 48 ч при проведении анализа на среде ЛПС. Не ранее 24 ч инкубации проводят предварительную оценку посева. Из емкостей, где отмечено помутнение, изменение окраски (кислотообразование) и образование газа, а также помутнение и кислотообразование при использовании ГПС или помутнение при использовании ЛПС, проводят посев бактериологической петлей на сектора среды Эндо (4.6.2.6), разделенной на 3-4 сектора (5.6.2.2), для получения изолированных колоний. При получении сплошного роста необходимо рассеивать посевной материал на чашку со средой Эндо для выделения изолированных колоний.

Емкости без признаков роста на среде ЛПС оставляют в термостате и окончательно просматривают через 48 ч. Посевы без признаков роста считают отрицательными и дальнейшие исследования с ними не проводят. Из посевов, где отмечено помутнение и образование газа или только помутнение, делают высев на сектора среды Эндо.

Посевы на среде Эндо инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 18-20 ч.

При отсутствии роста колоний на секторах среды Эндо, а также при наличии пленчатых, губчатых, с неровными краями и поверхностью, плесневых и других не характерных для кишечных палочек колоний получают отрицательный результат.

При образовании помутнения, газа и изменения цвета в среде накопления и росте на среде Эндо колоний, типичных для лактозоположительных бактерий: темно-красных или красных, с металлическим блеском или без него, выпуклых с крас-

ным центром и отпечатком на питательной среде (изменение цвета среды под колонией), дают положительный ответ на присутствие общих колиформных бактерий в данном объеме пробы.

Наличие ОКБ требуется подтвердить:

- если в среде накопления отмечено только помутнение;
- если принадлежность к лактозоположительным колониям вызывает сомнение у исследователя.

В этих случаях:

- проверяют наличие отпечатка на среде Эндо после снятия петлей подозрительной колонии;
- выполняют оксидазный тест;
- подтверждают принадлежность к Граму по 6.4.1;
- подтверждают способность к газообразованию при посеве изолированных 1-2 колоний каждого типа с каждого сектора на среду с лактозой по 4.6.2.4 с последующей инкубацией посевов при температуре (37±1) °С в течение 24-48 ч.

При отсутствии изолированных колоний проводят рассев на среду Эндо общепринятыми методами.

Отрицательный ответ дают, если:

- в среде накопления нет признаков роста;
- на секторах среды Эндо нет роста;
- на секторах среды Эндо выросли не характерные для колиформных бактерий колонии (прозрачные с неровными краями, расплывчатые и т.п.);
- все колонии оказались оксидазоположительными;
- все колонии оказались грамположительными;
- если в подтверждающем тесте на среде с углеводом не отмечено газообразования.

Для определения термотолерантных колиформных бактерий работают с секторами среды Эндо, где выросли типичные лактозоположительные колонии. Делают посев 2-3 изолированных колоний каждого типа с каждого сектора в пробирки с любой из лактозных сред.

Среду перед посевом нагревают на водяной бане или в термостате до 44 °С. Немедленно после посева пробирки помещают в термостат и инкубируют при температуре (44±1) °С в течение 24 ч. Допускается просмотр посевов через 4-6 ч.

При образовании газа в среде накопления, росте на среде Эндо лактозоположительных бактерий и выявлении способности этих бактерий ферментировать лактозу до кислоты и газа в течение 24 ч при температуре 44 °С дают положительный результат на наличие в этом объеме пробы воды ТКБ. Во всех остальных случаях дают отрицательный ответ.

Допускается для ускорения выдачи ответа на присутствие ТКБ проводить посев 1 $см^3$ из объемов среды накопления, где отмечено помутнение и газообразование в пробирки с лактозо-пептонной средой с поплавком по 4.6.2.4 и предварительно прогретые до температуры 44 °С. Посевы выдерживают в термостате при температуре (44±1) °С в течение 24 ч. При обнаружении изменения окраски индикатора и образования газа дают положительный ответ.

Обработка результатов

При исследовании 3 объемов по 100 $см^3$ результаты оцениваются качественно и при обнаружении ОКБ и ТКБ хотя бы в одном из 3 объемов, делается запись в журнале: «обнаружены в 100 $см^3$».

При исследовании количественным методом определяют наиболее вероятное число (НВЧ) ОКБ и ТКБ по таблице 19.

Результат представляют без доверительного интервала.

При отрицательном результате на наличие ОКБ и ТКБ во всех исследованных объемах выдают заключение в протоколе «не обнаружены в 100 см^3».

Таблица 19 – Расчет наиболее вероятного числа бактерий в 100 см^3 питьевой воды

Число положительных результатов измерений			НВЧ в 100 см^3	Доверительный интервал (95 %)	
3 объемов по 100 см^3	3 объемов по 10 см^3	3 объемов по 1 см^3		нижний	верхний
0	0	1	0,3	0	1,4
0	0	2	*	–	–
0	0	3	*	–	–
0	1	0	0,3	0,1	1,4
0	1	1	*	–	–
0	1	2	*	–	–
0	1	3	*	–	–
0	2	0	0,6	0,1	2,8
0	2	1	*	–	–
0	2	2	*	–	–
0	2	3	*	–	–
0	3	0	*	–	–
0	3	1	*	–	–
0	3	2	*	–	–
0	3	3	*	–	–
1	0	0	0,4	0,1	0,7
1	0	0	0,7	0,2	3,4
1	0	2	*	–	–
1	0	3	*	–	–
1	1	0	0,7	0,2	3,4
1	1	1	1,1	0,2	5,2
1	1	2	*	–	–
1	1	3	*	–	–
1	2	0	1,1	0,2	5,3
1	2	1	*	–	–
1	2	2	*	–	–
1	2	3	*	–	–
1	3	0	*	–	–
1	3	1	*	–	–
1	3	2	*	–	–

Число положительных результатов измерений			НВЧ в 100 см^3	Доверительный интервал (95 %)	
3 объемов по 100 см^3	3 объемов по 10 см^3	3 объемов по 1 см^3		нижний	верхний
1	3	3	*	–	–
2	0	0	0,9	0,2	4,3
2	0	1	1,4	0,3	6,7
2	0	2	*	–	–
2	0	3	*	–	–
2	1	0	1,5	0,3	6,9
2	1	1	2	0,4	9,6
2	1	2	*	–	–
2	1	3	*	–	–
2	2	0	2	0,5	9,9
2	2	1	3	0,6	12,9
2	2	2	*	–	–
2	2	3	*	–	–
2	3	0	3	0,6	13,3
2	3	1	*	–	–
2	3	2	*	–	–
2	3	3	*	–	–
3	0	0	2	0,5	10,8
3	0	1	4	0,8	18,0
3	0	2	6	1,4	29,7
3	0	3	*	–	–
3	1	0	4	0,9	20,0
3	1	1	8	1,6	35,0
3	1	2	12	2,5	53,8
3	1	3	*	–	–
3	2	0	9	2,0	43,6
3	2	1	15	3,2	69,8
3	2	2	21	4,6	100,3
3	2	3	29	6,2	136,4
3	3	0	24	5,1	112,1
3	3	1	46	9,3	216,0
3	3	2	110	23,5	516,6
3	3	3	≥240	–	–

* - Вероятность ниже допустимого уровня. Количественный учет невозможен, результат оценивается качественно.

Микробиологические показатели безопасности питьевой воды при контроле в условиях производственной лаборатории представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Микробиологические показатели безопасности питьевой воды

Показатели	Единицы измерения	Нормативы
Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ)	Число бактерий в 100 $см^3$*	Отсутствие
Общие колиформные бактерии (ОКБ)	Число бактерий в 100 $см^3$*	Отсутствие
Общее микробное число (ОМЧ)	Число КОЕ/$см^3$	Не более 50
* При определении проводится трехкратное исследование по 100 $см^3$ воды.		

Периодичность контроля:

- зависит от вида водоснабжения (централизованное или собственное) и вида выпускаемой продукции (непосредственное использование воды в ходе технологического процесса или для технических целей) и проводится 4-12 раз в год,

- усиленный контроль показателей проводят при появлении тех или иных характерных органолептических пороков продуктов или при снижении их хранимоспособности.

Картина роста БГКП на средах ГПС и ЛПС приведена в приложении Г.

7.4 Контроль соблюдения гигиены работниками предприятия

7.4.1 Контроль соблюдения гигиены работниками предприятия проводят путем взятия смывов с поверхности рук.

Анализ чистоты рук проводится микробиологом предприятия без предварительного предупреждения не реже 1 раза в декаду у работников, непосредственно соприкасающихся с чистым оборудованием или продукцией.

Для взятия смыва с рук рабочих пользуются ватными тампонами. Перед анализом тампон смачивают стерильным раствором хлористого натрия или воды и обтирают смоченным тампоном обе руки и пальцы.

7.4.2 Контроль за хлорированием рук проводят путем проведения йодкрахмальной пробы.

Отдельные участки рук протирают ватным тампоном, смоченным йодкрахмальным раствором (смесь 1:1 6 % раствора йодистого калия и 4 % раствора растворимого крахмала).

Признаком того, что руки были обработаны дезинфицирующим раствором, содержащим ионы хлора, является появление сине-бурого окрашивания.

Рекомендуемая периодичность – 1 раз в неделю.

8 Проведение контроля загрязненности производства ферментированных молочных продуктов бактериофагами

При производстве ферментированных молочных продуктов необходимо проводить контроль загрязненности бактериофагами.

Показателем благополучия исследуемого объекта служит отсутствие в отобранных пробах бактериофагов, способных лизировать тест-культуры.

Обнаружение бактериофагов расценивают как показатель фагового неблагополучия объекта, что требует перевода этого объекта на усиленный контроль и проведение усиленной санитарной обработки. Для оценки реальной опасности объекта как источника загрязнения проводят количественное определение бактериофагов.

По периодичности и объему испытаний выделяют три категории фагового контроля.

Нормальный контроль осуществляют при отсутствии случаев нарушения молочнокислого процесса. При этом основными критическими контрольными точками являются: молоко после пастеризации, смесь для выработки сыра, закваска, воздух заквасочного помещения, смывы с оборудования, инвентаря и т.д.

Усиленный контроль осуществляют при возникновении нарушений в процессе приготовления производственной закваски, нарушения кислотообразования во время выработки сырной массы и высокого уровня pH в сырной массе, снижения качества готового продукта и т.д.

Усиленный контроль предполагает:

- увеличение числа контролируемых объектов;
- увеличение периодичности контроля, вплоть до ежедневного.

Контроль по упрощенной схеме осуществляется при стабильно высоком качестве готового продукта. При этом сокращается число контролируемых объектов и периодичность исследований.

Схемы основных методов фагового контроля и оценка степени фагового загрязнения по уровню фаголизиса представлены в приложении Е.

8.1 Подготовка к проведению анализа

8.1.1 Общие требования

Исследования, связанные с определением бактериофагов, проводят в условиях, исключающих возможность загрязнения окружающей среды.

Анализы проводят в боксе, в котором не ведут работы с бактериальными закваскими и препаратами.

При отсутствии бокса работы можно проводить в лабораторном помещении, соблюдая особую осторожность:

- посуду с питательными средами, посевами, растворами с разведениями, использованные пипетки перед мойкой необходимо стерилизовать в автоклаве при температуре (121±1) °С в течение (25±5) мин или кипятить (1,2±0,2) ч.
- по окончании работ рабочее место тщательно дезинфицируют спиртом или другим дезинфицирующим средством и подвергают помещение УФ-обработке течение (45±5) мин.

8.1.2 Тест-культура для определения бактериофага

Тест-культура – штаммы молочнокислых бактерий, чувствительные к широкому спектру фагов. Они выпускаются специализированными предприятиями в виде

моновидовых и одноштаммовых жидких или сухих заквасок или бактериальных концентратов.

Для этих целей используется специальный диагностический набор «Фаготест-ЛК». В набор входят три тест-культуры, чувствительные к различным фагам, что дает возможность выявления их максимального спектра, и сухая питательная среда для их роста.

Подготовка рабочей тест-культуры для определения бактериофага

Рабочую тест-культуру готовят из сухой тест-культуры путем внесения в нее (9,5±0,5) $см^3$ стерильной воды или физраствора с соблюдением правил асептики. Пробу тщательно перемешивают и используют в течение 2 ч.

8.1.3 Подготовка проб для определения наличия в них бактериофага

Подготовка проб включает освобождение пробы от нерастворимых соединений (белок, жир) и освобождение пробы от микроорганизмов.

Освобождение пробы от нерастворимых соединений

При исследовании молока, закваски или иного продукта пробу предварительно освобождают от белка.

Для этого пробу молока подкисляют 10 % молочной кислотой до появления хлопьев, подогревают до температуры (42±2) °С и выдерживают при комнатной температуре 10-15 мин для осаждения белка.

Пробу сыра (1,0±0,1) г предварительно растирают в ступке с (9,9±0,1) $см^3$ стерильной воды или физраствора, подогретых до (45±1) °С.

Пробы фильтруют через стерильный бумажный фильтр в стерильную колбу для отделения белка или центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10-15 мин. При этом центрифужные стаканы и центрифуга должны быть обработаны спиртом. Стаканы можно обрабатывать стерилизацией в автоклаве, завернутыми в плотную бумагу.

При исследовании закваски, сыворотки, рассола или иного аналогичного объекта проводят перемешивание продукта, затем фильтрование через стерильные ватно-марлевые или ватные фильтры.

Для анализа используют надосадочную жидкость или фильтрат.

Освобождение пробы от микроорганизмов

Выделение бактериофага фильтрованием

Надосадочную жидкость пропускают через стерильные бактериальные фильтры (фильтр Зейтца или другие мембранные фильтры с диаметром пор не более 0,2 мкм). Можно использовать фильтры, применяемые для анализа воды.

Допускается выделение фага из молока непосредственно фильтрованием через стерильные бактериальные фильтры.

Воду фильтруют непосредственно через стерильные бактериальные фильтры.

Выделение бактериофага с использованием хлороформа

10 $см^3$ исследуемого образца, предварительно освобожденного от белка, помещают в стерильную пробирку, добавляют (1,2±0,2) % хлороформа с помощью пипетки с резиновой грушей или шприца или другого приспособления, предотвращающего непосредственный контакт работающего с хлороформом. Пробирку закрывают ватной пробкой, смесь тщательно перемешивают и выдерживают в течение (12+2) мин. Работы с хлороформом необходимо проводить в вытяжном шкафу.

Стерильной пипеткой с грушей или шприцем, не захватывая нижний слой с хлороформом, отбирают верхнюю часть смеси и переносят в стерильную пробирку.

Выделение бактериофага путем температурного воздействия

Пробу прогревают в водяной бане при температуре (65±1) °С в течение (25±5) мин и далее фильтруют через стерильный бумажный или ватно-марлевый фильтр или центрифугируют для удаления белкового осадка.

Выделение бактериофага из производственной атмосферы

Выделение проводят путем прямого осаждения фаговых частиц на чашки Петри с питательной средой и тест-культурами или с помощью аппарата Кротова (или его аналогов).

8.1.4 Подготовка чашек Петри с газонами из тест-культур

В стерильную чашку Петри вносят (20±5) $см^3$ предварительно расплавленной и охлажденной до (46±1) °С питательной среды КМАФАнМ по 4.6.2.1.

После застывания питательной среды ее поверхность подсушивают в течение (12±2) мин в термостате при (37±2) °С и создают газон из тест-культуры, т.е. на поверхность среды наносят стерильной пипеткой 1-2 капли рабочей тест-культуры, приготовленной по 8.1.2, которую распределяют с помощью шпателя Дригальского или изогнутой стеклянной палочки равномерно по всей поверхности.

Допускается наносить тест-культуру на поверхность среды с помощью ватно-марлевого или марлевого тампона. Для этого стерильный тампон смачивают рабочей тест-культурой и протирают им поверхность подсушенной среды.

Подготовленные чашки Петри с тест-культурами должны быть использованы для проведения испытаний в течение 1 ч.

При необходимости более длительного хранения индикаторных чашек Петри их следует поместить в холодильник, но не более чем на 2 ч.

8.1.5 Подготовка индикаторных пробирок для обнаружения бактериофагов

Индикаторные пробирки представляют собой пробирки с жидкой питательной средой и внесенной тест-культурой. Поэтому индикаторные пробирки готовят непосредственно перед проведением исследований.

В случае необходимости допускается хранение подготовленных индикаторных пробирок (с внесенными тест-культурами) в холодильнике при температуре от 4 °С до 6 °С не более 1 ч.

Индикаторные пробирки готовят следующим образом. В пробирки с (10,0±0,1) $см^3$ гидролизованного молока вносят по (0,10±0,01) $см^3$ рабочих тест-культур по 8.1.2.

8.2 Методы индикации бактериофагов

8.2.1 Метод индикации бактериофагов с использованием индикаторных чашек Петри

Сущность метода

Метод основан на посеве исследуемой пробы на плотную питательную среду с индикаторными культурами, культивировании посевов при оптимальной для размножения тест-культур температуре и учете негативных колоний (участков отсутствия видимого роста тест-культур на сплошном бактериальном газоне).

А Метод «стекающей капли»

При проведении испытаний указанным методом на поверхность подготовленных по 8.1.4 индикаторных чашек Петри с помощью пипетки наносят каплю исходной пробы, подготовленной по 8.1.3, наклоняют чашку так, чтобы капля стекла к противоположному краю.

Чашку Петри помещают в термостат и выдерживают при режимах, приведенных в таблице 21.

Таблица 21 – Режимы культивирования посевов при индикации бактериофагов

Тест-культуры	Температура выдержки посева, °С	Продолжительность выдержки посева, ч
Лактококки	30±1	21±3
Лейконостоки	28±2	40±8
Мезофильные молочнокислые палочки	32±2	36±6
Термофильные молочнокислые палочки	42±2	24±4
Термофильный стрептококк	42±2	24±6

При наличии в пробе бактериофагов, способных лизировать тест-культуры, на месте стекания капли формируются, в зависимости от количества фаговых частиц в пробе, либо сплошная зона лизиса тест-культуры, либо отдельные негативные колонии (точечный лизис).

При использовании данного метода может быть проведено ориентировочное определение количества фаговых частиц в пробе.

Для ориентировочной оценки вероятного количества фагов в исследуемой пробе оценивают характер лизиса тест-культуры в «стекающей капле»:

- не обнаружено видимого лизиса и негативных колоний – бактериофаг, способный лизировать тест-культуру, либо отсутствует в исследуемой пробе, либо его количество менее 1 фаговой частицы в 1 $см^3$ пробы;
- в «стекающей капле» пробы содержится до 10 негативных колоний – титр бактериофагов в пробе составляет 10^3-10^4;
- в «стекающей капле» формируется зона сплошного лизиса – вероятный титр бактериофагов в пробе 10^6 и более.

Б Метод «капли»

Дно каждой из подготовленных чашек Петри по 8.1.4 с тест-культурами, с наружной стороны, делят на сектора или квадраты. В каждый сектор (квадрат) на поверхность газона тест-культуры с помощью пастеровской пипетки с оттянутым концом или бактериологической петли диаметром 2,0-2,5 мм (или стеклянной палочки с оттянутым концом или репликатором) наносят каплю исследуемой пробы.

При этом петлю (или стеклянные палочки) после каждого нанесения исследуемого материала прожигают, а пипетки меняют на новые.

Посевы выдерживают в термостате при оптимальных режимах (таблица 21) и отмечают те пробы, на месте нанесения которых образовалась негативная колония, свидетельствующая о наличии в пробе фага, лизирующего тест-культуру.

8.2.2 Методы индикации бактериофагов с использованием индикаторных пробирок

Сущность метода

Метод основан на посеве исследуемой пробы в жидкую питательную среду с индикаторными культурами, культивировании посевов при оптимальной для размножения тест-культуры температуре и выявлении задержки или отсутствия роста тест-культуры по отсутствию признаков роста (помутнение среды, образование сгустка, изменение кислотности и т.д.).

А Обнаружение бактериофагов с использованием в качестве питательной среды бульона из гидролизованного молока

При проведении исследований в пробирки с (10,0±1,0) $см^3$ гидролизованного молока вносят бактериологической петлей (диаметром 2 мм) рабочие или активизированные тест-культуры, или суспензию тест-культур.

В пробирки вносят по 1-2 капли подготовленной пробы по 8.1.3.

В контрольные пробирки с разными тест-культурами (которые служат для контроля за ростом тест-культур) вносят по 1-2 капли стерильной воды или физиологического раствора.

Пробирки термостатируют при оптимальной для роста тест-культур температуре (таблица 21), наблюдая за ростом культуры (помутнением среды) через 4, 6, 10 и 24 ч.

Учет результатов проводят только при наличии роста тест-культур в контрольных пробирках (помутнение среды).

Отсутствие или задержка роста тест-культур по сравнению с контролем свидетельствует о наличии в испытуемой пробе бактериофага, способного лизировать ту или иную тест-культуру.

Примечания

1 Воздействие бактериофага на тест-культуру в гидролизованном молоке может проявляться в первоначальном нормальном развитии тест-культуры в опытной пробирке (помутнение питательной среды в первые 3-5 ч) с последующим просветлением культуральной среды.

2 Контроль за развитием тест-культур может быть осуществлен как визуально, так и по оптической плотности, определяемой с помощью ФЭК или другой спектрофотометрической аппаратуры.

3 Для подтверждения присутствия бактериофага в исследуемой пробе из опытной пробирки делают высев и испытания на плотных питательных средах по одному из методов 8.2.1.

Б Обнаружение бактериофагов с использованием в качестве питательной среды стерильного молока

В колбы с (95,0±5,0) $см^3$ стерильного молока вносят по 0,1-0,2 $см^3$ тест-культур и тщательно перемешивают круговыми движениями. В колбы, шифрованные как опытные, добавляют по (10,0±1,0) $см^3$ пробы, подготовленной по 8.1.3. В колбы, шифрованные как контрольные, вносят по (10,0±1,0) $см^3$ стерильной воды.

Контрольные и опытные колбы помещают в термостат и выдерживают при оптимальной для жизнедеятельности тест-культур температуре (таблица 21), определяя титруемую кислотность молока через 0 (исходная), (6,0±0,5) ч, (12,0±1,0) ч и (22,0±2,0) ч, рассчитывая прирост титруемой кислотности (ΔТ) за указанные выше промежутки времени (т.е. за 6 ч – ΔT_6; за 12 ч – ΔT_{12}; и за 22 ч – ΔT_{22} по формуле

$$\Delta T_i = T_i - T_o, \qquad (7)$$

где ΔT_i – прирост титруемой кислотности за определенный промежуток времени (i), °Т;

T_o – исходная титруемая кислотность, °Т;

T_i – титруемая кислотность через i ч, °Т.

Достоверное торможение кислотообразования тест-культур в опытных колбах (или в одной из опытных колб) по сравнению с соответствующими контрольными свидетельствует о наличии в исследуемой пробе бактериофага к тест-культуре.

Торможение считается достоверным, если различия в приросте титруемой кислотности в контрольной и опытной колбах составляют через (6,0±0,5) ч – не менее 3 °Т, через (12,0±1,0) ч – не менее 5 °Т, через (22,0±2,0) ч – не менее 8 °Т.

Предварительно учет результатов проводят через (6,0±0,5) ч. При получении недостаточно четких результатов (близких к критическим) опытные и контрольные колбы выдерживают еще 6 ч, а при необходимости – до 24 ч.

Для подтверждения наличия бактериофага в опытных колбах проводят исследования одним из методов по 8.2.1 с использованием индикаторных чашек с теми же тест-культурами.

9 Организация контроля основного сырья на молокоперерабатывающих предприятиях

9.1 Контроль молока-сырья

Общие требования к молоку-сырью для молочных продуктов изложены в ГОСТ Р 52054.

Общие и специфические требования к молоку-сырью для сыроделия, включая не только коровье, но козье и овечье молоко, регламентированы ТУ 9811-153-04610209.

В таблице 22 представлены общие микробиологические показатели безопасности и качества молока-сырья, подлежащие контролю.

Таблица 22 – Общие микробиологические показатели безопасности и качества молока-сырья и порядок их контроля

Наименование показателя	Нормируемые значения		Рекомендуемая периодичность контроля	
	общие	для сыроделия	нормальный контроль	усиленный контроль*
Соматические клетки, в 1 $см^3$, не более	$5 \cdot 10^5$-$1 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^5$	не реже одного раза в 10 дней	в каждой партии
КМАФАнМ, КОЕ/ $см^3$, не более	$1 \cdot 10^5$-$4 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$	не реже одного раза в 10 дней**	***
Класс по редуктазной пробе	–	I, II	в каждой партии	в каждой партии
Ингибирующие вещества	Отсутствуют	Отсутствуют	не реже одного раза в 10 дней	в каждой партии

* Усиленный контроль показателей безопасности проводят в случае обнаружения существенного превышения показателей (соматические клетки, уровень бактериальной обсемененности) относительно допустимых норм или подтвержденное наличие ингибирующих веществ. Цель усиленного контроля - выявление причин, приводящих к нарушению норм безопасности, и их устранение.

** При проведении ежедневного контроля уровня бактериальной обсемененности по редуктазной пробе контроль КМАФАнМ проводят или в случае расхождения в оценке результатов, или в случае, если бактериальная обсемененность составляет менее $3 \cdot 10^5$ КОЕ/г, т.е. когда редуктазная проба не чувствительна.

*** Усиленный контроль бактериальной обсемененности проводят при появлении органолептических пороков готового продукта, связанных с обсеменением молока-сырья определенными группами микроорганизмов. Для выявления возможных причин микробиологической порчи продукта целесообразно проводить оценку состава микрофлоры, т.е. определять в молоке-сырье не только КМАФАнМ, но и количество психротрофных, термофильных микроорганизмов, а также наличие иных технически вредных микроорганизмов, анализируя состав господствующей микрофлоры во 2 и 3 разведениях при посеве молока-сырья на среду КМАФАнМ.

Схема усиленного контроля общей бактериальной обсемененности молока-сырья представлена в таблице 23.

Таблица 23 – Порядок усиленного контроля общей бактериальной обсемененности молока-сырья

Метод контроля	Порядок контроля	Средства контроля	Особые условия
Редуктазная проба	Каждая партия	Резазурин	–
		Микробитесты	
Посев на чашки	1 раз в месяц	Среда КМАФАнМ	Посев с 2 по 5 разведения в 3 ряда: 30 °С – мезофильные микроорганизмы; 7 °С – психротрофные микроорганизмы; 45 °С – термофильные микроорганизмы

В молоке-сырье, используемом для производства сыра, необходимо контролировать специфические критерии его сыропригодности.

Таблица 24 – Специфические критерии сыропригодности молока-сырья

Критерий сыропригодности	Нормируемые значения	Рекомендуемая периодичность контроля	
		при нормальном контроле	при усиленном контроле*
Содержание спор лактатсбраживающих маслянокислых микроорганизмов, н.в.ч./дм^3, не более:			
- сыры с низкой температурой второго нагревания	13000	не реже одного раза в 10 дней	в каждой партии
- сыры с высокой температурой второго нагревания	2500		
Класс по сычужно-бродильной или сычужной пробе, не ниже	I, II	не реже одного раза в 10 дней	в каждой партии

* Усиленный контроль показателей сыропригодности проводят в случае обнаружения существенного превышения показателей относительно допустимых норм или появлении специфических пороков сыра. Цель усиленного контроля - выявление причин, приводящих к снижению качества сыра.

Результаты контроля записываются в журнал.

9.2 Контроль обезжиренного молока-сырья

Обезжиренное молоко-сырье по микробиологическим показателям безопасности и качества должно соответствовать общим требованиям, предъявляемым к молоку-сырью.

Контроль обезжиренного молока-сырья проводят аналогично контролю общих показателей безопасности и качества по 9.1, таблица 22.

Результаты контроля записываются в журнал.

9.3 Контроль сливок-сырья

Общие требования к сливкам-сырью для производства молочных продуктов регламентированы ТУ 9811-152-04610209.

В таблице 25 представлены общие микробиологические критерии безопасности и качества сливок-сырья, подлежащие контролю в условиях производственной лаборатории.

Таблица 25 – Общие микробиологические показатели безопасности и качества сливок-сырья

Наименование показателя	Нормируемые значения	Рекомендуемая периодичность контроля	
		нормальный контроль	усиленный контроль*
КМАФАнМ, КОЕ/ $см^3$, не более	$5 \cdot 10^5$-$4 \cdot 10^6$	не реже одного раза в 10 дней	в каждой партии
Класс по редуктазной пробе	I, II	не реже одного раза в 10 дней	в каждой партии*
Ингибирующие вещества	Отсутствуют	не реже 3 раз в год	в каждой партии
* Усиленный контроль показателей безопасности следует проводить в случае обнаружения существенного превышения показателя уровня бактериальной обсемененности относительно допустимых норм или подтвержденного наличия ингибирующих веществ. Цель усиленного контроля - выявление причин, приводящих к нарушению норм безопасности.			

Результаты контроля записываются в журнал.

9.4 Контроль пахты-сырья

Общие требования к пахте-сырью для получения жидких, сгущенных и сухих продуктов на основе пахты заложены в ОСТ 10-287.

Таблица 26 – Общие микробиологические критерии безопасности и качества пахты-сырья

Наименование показателя	Нормируемые значения для пахты		Рекомендуемая периодичность контроля	
	сладкой	кислой	нормальный	усиленный*
КМАФАнМ, КОЕ/$см^3$	$3 \cdot 10^5$	не нормируется	не реже одного раза в 10 дней	в каждой партии
БГКП, отсутствуют в $см^3$	0,01	0,01	не реже одного раза в 10 дней	в каждой партии
* Усиленный контроль показателей безопасности следует проводить в случае обнаружения существенного превышения показателя уровня бактериальной обсемененности относительно допустимых норм. Цель усиленного контроля - выявление причин, приводящих к нарушению норм безопасности.				

Результаты контроля записываются в журнал.

9.5 Контроль сыворотки-сырья

Для обеспечения безопасности готовой продукции, изготовляемой из молочной сыворотки, сыворотку-сырье рекомендуется контролировать по следующим показателям.

Таблица 27 – Общие микробиологические критерии безопасности и качества сыворотки-сырья

Наименование показателя	Нормируемые значения для сыворотки		Рекомендуемая периодичность контроля	
	сыворотка-сырье для производства напитков	сыворотка-сырье для производства других продуктов	нормальный	усиленный*
БГКП, отсутствуют в $см^3$	0,01	0,001	не реже одного раза в 10 дней	в каждой партии
* Усиленный контроль показателей безопасности следует проводить в случае обнаружения существенного превышения показателя БГКП относительно допустимых норм. Цель усиленного контроля - выявление причин, приводящих к нарушению норм безопасности.				

Результаты контроля записываются в журнал.

10 Микробиологический контроль вспомогательного сырья и компонентов

При производстве молочных и молокосодержащих продуктов используются функционально необходимые ингредиенты (ферментные препараты, БК, солиплавители, структурообразователи, соль, сахар и т.д.); пищевые добавки (загустители, стабилизаторы, консерванты и т.д.) и разнообразные немолочные компоненты (немолочные жиры, немолочные белки, мясные продукты, фрукты, овощи, специи, зелень, орехи и др.).

Все виды и группы вспомогательного сырья и используемых компонентов должны соответствовать требованиям нормативных и/или технических документов на данные продукты, и/или спецификациям, являющимся необходимой частью договора-поставки.

Данное соответствие должно быть подтверждено документами, подтверждающими качество и безопасность продукции и применяемыми в законодательно установленном порядке.

Входной контроль вспомогательного сырья и компонентов, доза внесения которых в продукт незначительна (до (1,5±0,5) %) или их бактериальная обсемененность не может оказать существенного влияния на безопасность и качество готового продукта (соль, сахар, немолочные жиры и т.д.), можно проводить по документам, подтверждающим их соответствие нормам безопасности.

Входной контроль вспомогательного сырья и компонентов, доза внесения которых в продукт значительна (более 2,0 %) или их бактериальная обсемененность может оказать существенное влияние на безопасность и качество готового продукта (мясные продукты, фрукты, овощи и т.д.), рекомендуется проводить путем контроля основных показателей безопасности и качества.

Вышеуказанный порядок входного контроля вспомогательного сырья носит рекомендательный характер. Контроль вспомогательного сырья зависит от различных факторов, в частности, стабильности качества сырья, получаемого от постоянных поставщиков; появления ряда специфических пороков вкуса, консистенции или внешнего вида продукта, которые могут быть связаны с микробиологическими показателями вспомогательного сырья и т.д.

При возникновении подозрений в несоответствии качества и безопасности используемых сырья и компонентов или при нарушении режимов их хранения, проводят обязательный контроль показателей, заложенных в нормативные и технические документы, используя стандартные методы.

Результаты контроля записываются в журнал.

При несоответствии контролируемых показателей нормам, установленным в нормативных и технических документах, сырье и используемые компоненты подлежат возврату.

11 Контроль эффективности пастеризации

Проверку соблюдения параметров пастеризации молочного сырья (молока, сливок, пахты и сыворотки) проводят ежедневно по анализу термограмм каждого пастеризационного аппарата. При выявлении отклонения от заданного режима пастеризации выявляют его причины и сообщают об этом техническому руководству предприятия для принятия мер по ликвидации технических неполадок.

Параллельно проводят контроль эффективности пастеризации одним из предлагаемых методов по 6.7.1.

Если в результате анализа установлено, что эффективность пастеризации недостаточна, то пастеризационная установка должна быть остановлена до установления и устранения причин снижения эффективности пастеризации (наиболее опасной точкой является возвратный клапан и микротрещины).

После устранения причин недопастеризации и запуска пастеризационной установки эффективность пастеризации проверяют не менее трех раз до получения устойчивых положительных результатов.

Плановый контроль эффективности пастеризации проводится не реже одного раза в 10 дней, независимо от качества готового продукта.

При снижении качества готового продукта или при выявлении превышения допустимых норм его бактериальной обсемененности проводят внеплановый контроль эффективности пастеризации.

Результаты контроля записываются в журнал.

Пастеризаторы являются реальным источником термофильных стрептококков в пастеризованном молоке и причиной обсеменения ими всего производства и готового продукта.

12 Контроль качества закваски

Внесение в молоко после пастеризации заквасочных микроорганизмов является обязательным этапом производства всех без исключения кисломолочных (ферментированных) молочных продуктов.

Заквасочные микроорганизмы поступают на предприятие в виде БЗ или БК, отличающихся между собой уровнем содержания жизнеспособных клеток в единице активности (БЗ – не менее 10^9 КОЕ/ЕА, БК – не менее 10^{10} КОЕ/ЕА).

Видовой состав и количество жизнеспособных клеток в БЗ и БК регламентируются соответствующими техническими документами и гарантируются предприятием-изготовителем БЗ и БК.

При необходимости можно проводить идентификацию заквасочной микрофлоры по первичным признакам в соответствии с ГОСТ 10444.11.

Работы с заквасочными микроорганизмами проводят в специализированном заквасочном помещении.

В производстве используют следующие способы применения БЗ:

- предварительная активизация для последующего использования при приготовлении производственной закваски;
- приготовление производственной закваски.

В производстве используют следующие способы применения БК:

- прямая инокуляция БК в молоко или смесь для выработки продукта;
- предварительная активизация БК для последующего внесения в молоко или смесь для выработки продукта;
- предварительная активизация для последующего использования при приготовлении производственной закваски;
- приготовление производственной закваски.

Безопасность и качество активизированного препарата и производственной закваски контролируют ежедневно из каждой партии (емкости).

12.1 Контроль активизированного БК

Контроль активизированного БК осуществляют по следующим показателям:

- прирост титруемой кислотности за время активизации (2-3 ч) – в соответствии с технической документацией на используемый концентрат;
- микроскопический препарат – клетки бактерий в препарате должны располагаться равномерно, не содержать посторонней микрофлоры, в том числе дрожжей и плесневых грибов, и соответствовать виду закваски.

Результаты контроля записывают в журнал.

12.2 Контроль производственной закваски

Контроль производственной закваски, приготовленной на молоке или специальной питательной среде из БК беспересадочным способом, осуществляют по показателям, представленным в таблице 29.

Таблица 29 – Показатели производственной закваски

Наименование показателя	Контроль показателя закваски, приготовленной		Метод определения (ссылка)
	на молоке	на питательной среде	
Продолжительность сквашивания, ч	+	+*	ТУ на БК конкретного наименования
Титруемая кислотность, °Т	+	+	6.2.1
Активная кислотность, ед. pH	+	+	6.2.2
Газообразующую активность	+	–	6.2.3
Ароматобразующую активность	+	+	6.2.4
Микроскопический препарат	+	+	6.4
Органолептическая оценка: вкус, цвет, запах, характер сгустка	 + + + +	 – – + –	Определяется визуально и органолептически
БГКП**	+	+	4.6.2.2 (А)

* При культивировании на питательной среде происходит накопление биомассы клеток без образования сгустка.

** БГКП должны отсутствовать в 10 $см^3$ закваски и в 3$см^3$ кефирной закваски.

Конкретные значения контролируемых показателей должны соответствовать требованиям технических документов на используемый БК и питательную среду.

При возникновении необходимости количественной оценки содержания ароматобразующих микроорганизмов в закваске проводят анализ методом посева по 6.6.1.4.

Результаты контроля записываются в журнал.

Приложение А
(обязательное)

Схемы микробиологического контроля производства продуктов переработки молока

Критические контрольные точки устанавливают для каждого вида выпускаемой на предприятии продукции, конкретные параметры производства наносят на технологическую схему и указывают в карте метрологического обеспечения технологической инструкции.

Технологические схемы с основными критическими контрольными точками отражают в программе производственного контроля.

Критические контрольные точки, в которых проводится микробиологическое тестирование, также отражают на схеме с указанием критериев оценки.

Микробиологический контроль производства продуктов переработки молока включает:

- контроль санитарно-гигиенического состояния производства;
- контроль сырья;
- контроль производственного процесса;
- контроль готового продукта.

Контроль санитарно-гигиенического состояния производства проводят в соответствии с разделом 7.

Контроль критериев безопасности и качества основного и вспомогательного сырья проводят в соответствии с разделами 9 и 10.

Контроль эффективности пастеризации проводится в соответствии с разделом 11.

Контроль критериев безопасности и качества закваски проводится в соответствии с разделом 12.

Предлагаемый порядок контроля соответствует нормальному (стандартному) контролю.

При наличии на предприятии-изготовителе эффективно функционирующей системы менеджмента качества и обеспечении выпуска продукции стабильно высокого качества с отсутствием превышения нормативных показателей безопасности и качества в течение длительного времени (не менее 3 лет), допускается проводить контроль продукции по упрощенной схеме.

Упрощенная схема распространяется только на производство продуктов переработки молока в закрытых системах.

При контроле по упрощенной схеме, при неизменном количестве показателей в сравнении с нормальным (стандартным) контролем, может быть снижено количество точек, подлежащих контролю и/или периодичность их контроля в 2 раза.

Схемы микробиологического контроля производственных процессов и готовых продуктов

А.1 Жидкие пастеризованные продукты из молока, сливок, пахты и сыворотки

Схема основных критических контрольных точек при производстве жидких пастеризованных продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки:



Пастеризация. При производстве жидких пастеризованных продуктов из молока, сливок, пахты применяют высокотемпературную пастеризацию, конкретные параметры которой регламентированы действующими технологическими инструкциями на соответствующие продукты.

При производстве продуктов из сыворотки применяют пастеризацию при температуре (65±2) °С с выдержкой 30 мин или (72±2) °С с выдержкой 20 с.

Охлаждение. После пастеризации продукт необходимо максимально быстро охладить до температуры 4-6 °С для ограничения развития остаточной микрофлоры.

Фасование. Источником вторичного обсеменения продукта во время фасования является оборудование, воздух и упаковочные материалы.

Готовый продукт. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля жидких пастеризованных продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки представлены в таблице А.1.

Таблица А.1 - Микробиологические показатели жидких пастеризованных продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Молоко питьевое в потребительской таре, пастеризованное		
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	$1 \cdot 10^5$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Молоко питьевое в потребительской таре, стерилизованное, ультрапастеризованное (с асептическим розливом)		
Требования промышленной стерильности:		
прирост титруемой кислотности, °Т, не более	2	каждая партия
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	10	

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Молоко питьевое в потребительской таре, ультрапастеризованное (без асептического розлива)		
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	100	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	10,0	не реже 1 раза в 5 дней
Молоко питьевое в потребительской таре, топленое		
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	$2{,}5 \cdot 10^3$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	1,0	не реже 1 раза в 5 дней
Молоко питьевое в потребительской таре, ароматизированное		
В соответствии с требованиями, установленными для молока питьевого при различных процессах термической обработки		
Молоко питьевое в потребительской таре, обогащенное витаминами, макро (микро) элементами, лактулозой, пребиотиками		
В соответствии с требованиями, установленными для молока питьевого при различных процессах термической обработки		
Молоко питьевое во флягах и цистернах		
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	$2 \cdot 10^5$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Сливки и продукты на их основе в потребительской таре, пастеризованные		
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	$1 \cdot 10^5$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Сливки и продукты на их основе в потребительской таре, стерилизованные		
Требования промышленной стерильности:		
прирост титруемой кислотности, °Т, не более	2	каждая партия
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	10	
Сливки и продукты на их основе в потребительской таре, обогащенные		
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	$1 \cdot 10^5$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Сливки и продукты на их основе в потребительской таре, взбитые		
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	$1 \cdot 10^5$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Сливки и продукты на их основе во флягах, цистернах		
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	$2 \cdot 10^5$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,01	не реже 1 раза в 5 дней

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Напитки, коктейли, кисели молочные и сливочные, из пахты и сыворотки, желе, соусы, кремы, пудинги, муссы, пасты, суфле молочные, сливочные, из пахты и сыворотки, пастеризованные		
КМАФАнМ, КОЕ/см^3, не более	$1 \cdot 10^5$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Продукты из пахты		
КМАФАнМ, КОЕ/ см^3, не более	$1 \cdot 10^5$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Продукты из сыворотки		
КМАФАнМ, КОЕ/ см^3, не более	$1 \cdot 10^5$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,01	не реже 1 раза в 5 дней

Хранение. Жидкие пастеризованные продукты из молока, сливок, пахты и сыворотки должны храниться при температуре (4±2) °С.

А.2 Жидкие ферментированные (кисломолочные и сквашенные) продукты из молока, сливок, пахты и сыворотки

Схема основных критических контрольных точек при производстве жидких ферментированных (кисломолочных и сквашенных) продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки:

сырье
↓
пастеризация
↓
закваска
↓
сквашивание
↓
термизация
(для сквашенных продуктов)
↓
фасование
↓
готовый продукт
↓
хранение

При производстве жидких ферментированных (кисломолочных и сквашенных) продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки усиленной критической контрольной точкой, в сравнении с производством жидких пастеризованных продуктов, является процесс сквашивания.

Внесение в молоко после пастеризации заквасочных микроорганизмамов является обязательным этапом производства всех без исключения ферментированных (кисломолочных и сквашенных) молочных продуктов.

Состав заквасочной микрофлоры, дозы и способы внесения, а так же режимы культивирования определяются соответствующими техническими документами на конкретный вид продукта.

Таблица А.2 – Минимально необходимое содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов на разных этапах технологического процесса производства ферментированных молочных продуктов

Этап технологического процесса		Содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов, не менее
Сухая БЗ		10^9 КОЕ /ЕА или г
Сухой БК		10^{10} КОЕ /ЕА или г
Активизированный БК		10^7-10^8 КОЕ/см^3
Производственная закваска		10^9 КОЕ /см^3
В смеси для выработки ферментированных молочных продуктов (кисломолочные напитки, сметана, творог и т.д.)		10^6-10^7 КОЕ/см^3
Готовый продукт	молочнокислые микроорганизмы	10^7-10^8 КОЕ/см^3
	пробиотические микроорганизмы	10^6-10^8 КОЕ/см^3
К концу срока годности готового продукта	молочнокислые микроорганизмы	10^7 КОЕ/см^3
	пробиотические микроорганизмы	10^6 КОЕ/см^3

Для нормального протекания микробиологических и биохимических процессов при выработке большинства ферментированных молочных продуктов количество жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов в исходной смеси должно быть не менее 10^6 КОЕ/см^3.

Количество жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов в готовом продукте должно превышать их количество, нормируемое на конец срока годности, так как в процессе хранения продукта происходит снижение жизнеспособных клеток за счет их вымирания. Скорость вымирания зависит от вида заквасочной микрофлоры, температуры хранения продукта, значений pH и сроков годности. Особенно интенсивно снижается количество бифидобактерий в пробиотических продуктах.

Термизация сквашенных продуктов проводится при (64±4) °С с выдержкой до 30 сек с целью пролонгации сроков годности продуктов. В результате процесса термизации снижается уровень вегетативных микроорганизмов, в том числе заквасочных. Конечное количество заквасочной микрофлоры в термизированных молочных продуктах не нормируется.

Готовый продукт. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля жидких ферментированных (кисломолочных и сквашенных) продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки представлены в таблице А.3.

Таблица А.3 – Микробиологические показатели жидких ферментированных (кисломолочных и сквашенных) продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности не более 72 ч, без компонентов и с компонентами		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см^3, не менее	$1 \cdot 10^7$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности более 72 ч, без компонентов		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см^3, не менее	$1 \cdot 10^7$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см^3, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см^3, не более	50*	не реже 2 раз в месяц
Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности более 72 ч, с компонентами		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см^3, не менее	$1 \cdot 10^7$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см^3, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см^3, не более	50**	не реже 2 раз в месяц
Продукты кисломолочные жидкие, со сроками годности более 72 ч, обогащенные бифидобактериями и другими пробиотическими микроорганизмами		
Бифидобактерии и/или другие пробиотические микрорганизмы, КОЕ/см^3, не менее	$1 \cdot 10^6$ в сумме	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см^3, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см^3, не более	50**	не реже 2 раз в месяц
Термизированные сквашенные молочные и молочные составные продукты, в т.ч. без компонентов и с компонентами		
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3	1,0	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см^3, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см^3, не более	50	не реже 2 раз в месяц

Микробиологические показатели		Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Ферментированные жидкие продукты из пахты со сроками годности не более 72 ч			
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см^3, не менее		$1 \cdot 10^7$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3		0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Ферментированные жидкие продукты из пахты со сроками годности более 72 ч			
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см^3, не менее		$1 \cdot 10^7$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3		0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см^3, не более		50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см^3, не более		50**	не реже 2 раз в месяц
Ферментированные жидкие продукты из пахты, обогащенные бифидобактериями и другими пробиотическими микроорганизмами со сроками годности более 72 ч			
Заквасочные микроорганизмы, КОЕ/см^3, не менее	молочнокислые микроорганизмы	$1 \cdot 10^7$	не реже 1 раза в 5 дней
	пробиотические микроорганизмы	$1 \cdot 10^6$	
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3		0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см^3, не более		50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см^3, не более		50**	не реже 2 раз в месяц
Ферментированные жидкие продукты из сыворотки со сроками годности не более 72 ч			
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см^3, не менее		$1 \cdot 10^7$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3		0,01	не реже 1 раза в 5 дней
Ферментированные жидкие продукты из сыворотки со сроками годности более 72 ч			
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/см^3, не менее		$1 \cdot 10^7$	не реже 1 раза в 5 дней
БГКП, не допускаются в объеме продукта, см^3		0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/см^3, не более		50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/см^3, не более		50**	не реже 2 раз в месяц
Ферментированные жидкие продукты из сыворотки, обогащенные бифидобактериями и другими пробиотическими микроорганизмами со сроками годности более 72 ч			
Заквасочные микроорганизмы, КОЕ/см^3, не менее	молочнокислые микроорганизмы	$1 \cdot 10^7$	не реже 1 раза в 5 дней
	пробиотические микроорганизмы	в сумме $1 \cdot 10^6$	

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
БГКП, не допускаются в объеме продукта, $см^3$	0,1	не реже 1 раза в 5 дней
Плесневые грибы, КОЕ/$см^3$, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/$см^3$, не более	50**	не реже 2 раз в месяц

* Наличие дрожжей на конец срока годности, не менее:
- для айрана и кефира - $1 \cdot 10^4$ КОЕ/ $см^3$;
- для кумыса - $1 \cdot 10^5$ КОЕ/$см^3$.

** Кроме напитков, изготавливаемых с использованием заквасок, содержащих дрожжи.

Примечания

1 При превышении норм содержания БГКП переходят на их усиленный контроль в каждой партии.

2 При необходимости возможно повышение периодичности контроля кисломолочных продуктов, вырабатываемых в открытых системах за счет снижения частоты контроля микроорганизмов закваски, БГКП - в термизованных продуктах, КМАФАнМ – в продуктах асептического розлива.

Хранение. Жидкие ферментированные (кисломолочные и сквашенные) продукты из молока, сливок, пахты и сыворотки должны храниться при температуре (4±2) °С.

А.3 Сгущенные продукты из молока, сливок, пахты и сыворотки

Схема основных критических контрольных точек при производстве сгущенных продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки:



При производстве сгущенных продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки усиленной критической контрольной точкой, в сравнении с производством жидких пастеризованных продуктов является, процесс сгущения.

Процесс сгущения проводят при режимах, обеспечивающих минимальную продолжительность операции сгущения. При увеличении длительности сгущения и ведении процесса на нижних температурных пределах возможно развитие термофильных микроорганизмов.

Готовый продукт. В условиях производственной лаборатории контролю подлежит каждая партия готового продукта. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля сгущенных продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки представлены в таблице А.4.

Таблица А.4 – Микробиологические показатели сгущенных продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Молоко сгущенное, концентрированное, сливки сгущенные, стерилизованные		
Требования промышленной стерильности:		
прирост титруемой кислотности, °Т, не более	2	каждая партия
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	10	
Молоко, сливки сгущенные с сахаром в потребительской таре		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$2 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	каждая партия
Молоко, сливки сгущенные с сахаром в транспортной таре		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$4 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	каждая партия
Какао, кофе натуральный со сгущенным молоком или сливки с сахаром		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$3{,}5 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	каждая партия
Сгущенные продукты из пахты		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	каждая партия
Сгущенная сыворотка		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	каждая партия
Сгущенная деминерализованная сыворотка		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускается в массе продукта, г	1,0	каждая партия

Хранение. Сгущенные продукты должны храниться при температурном диапазоне от 0 до 10 °С и относительной влажности воздуха не более 85 %.

Допускается изменение условий хранения сгущенных продуктов при совершенствовании технологического процесса.

А.4 Сухие продукты из молока, сливок, пахты и сыворотки

Схема основных критических контрольных точек при производстве сухих продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки:



При производстве сухих продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки усиленной критической контрольной точкой, в сравнении с производством сгущенных продуктов, является процесс сушки.

В процессе сушки происходит уменьшение количества вегетативных форм и увеличение доли споровых аэробных и анаэробных микроорганизмов. При последующих операциях может происходить вторичное обсеменение продукта с оборудования.

Готовый продукт. В условиях производственной лаборатории контролю подлежит каждая партия готового продукта. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля сухих продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки представлены в таблицах А.5 и А.6.

Таблица А.5 – Микробиологические показатели сухих продуктов из молока, сливок, пахты и сыворотки, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Молоко коровье сухое цельное		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Молоко сухое обезжиренное для непосредственного употребления		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Молоко сухое обезжиренное для промышленной переработки		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Напитки сухие молочные		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Сливки сухие и сливки сухие с сахаром		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$7 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Сухие продукты из пахты		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Сыворотка молочная сухая		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Сыворотка деминерализованная сухая		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Смеси сухие для мороженого		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Продукты кисломолочные сухие		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Обезжиренное молоко, заменитель цельного молока, сухие		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц

Таблица А.6 – Микробиологические показатели молочного сахара, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Сахар молочный фармакопейный		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^3$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	10	каждая партия
Дрожжи, КОЕ/г, не более	не допускаются	каждая партия
Сахар молочный рафинированный		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^3$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	10	каждая партия
Дрожжи, КОЕ/г, не более	10	каждая партия
Сахар молочный рафинированный мелкокристаллический		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1,0	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	каждая партия
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	каждая партия
Сахар молочный пищевой и пищевой мелкокристаллический		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	каждая партия
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	каждая партия

Хранение. Сухие продукты из молока, сливок, пахты должны храниться при температуре от 0 до 10 °С и относительной влажности воздуха не более 85 %. Сухие продукты из сыворотки должны храниться при температуре (18±2) °С и относительной влажности воздуха не более 80 %.

Допускается изменение условий хранения сухих продуктов при совершенствовании технологического процесса.

А.5 Творог и творожные изделия

Схема основных критических контрольных точек при производстве творога и творожных изделий:



Пастеризация. При производстве творога используется пастеризация при температуре (78±2) °С в течение 28-30 с.

Закваска и сквашивание. Состав заквасочной микрофлоры, дозы и способы внесения, а так же режимы сквашивания определяются соответствующими техническими документами на конкретный вид продукта.

Отделение сыворотки. После окончания процесса самопрессования творог и творожные изделия необходимо быстро охладить до температуры (10±2) °С с целью предотвращения чрезмерного развития кислотообразующей заквасочной микрофлоры и снижения кислотности.

Готовый продукт. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля творога, продуктов на его основе и альбуминной массы представлены в таблицах А.7 и А.8.

Таблица А.7 – Микробиологические показатели творога и продуктов на его основе, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Творог, творожная масса, творожные продукты, продукты на их основе, в т.ч. со сроками годности не более 72 ч, без компонентов		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/г, не менее	$1 \cdot 10^6$	не реже 1 раза в 3 дня
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,001	не реже 1 раза в 3 дня

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Творог, творожная масса, творожные продукты, продукты на их основе, в т.ч. со сроками годности не более 72 ч, с компонентами		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/г, не менее	$1 \cdot 10^6$	не реже 1 раза в 3 дня
БГКП, не допускается в массе продукта, г	0,001	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Творог, творожная масса, творожные продукты, продукты на их основе, в т.ч. со сроками годности более 72 ч, без компонентов		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Творог, творожная масса, творожные продукты, продукты на их основе, в т.ч. со сроками годности более 72 ч, с компонентами и замороженные		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Творожные продукты термически обработанные, в т.ч. с компонентами		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0, 1	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50 в сумме	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более		не реже 2 раз в месяц

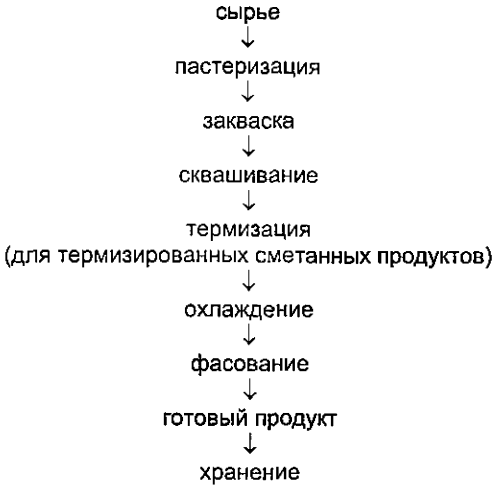
Таблица А.8 – Микробиологические показатели альбуминной массы, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$2 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	каждая партия
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	каждая партия

Хранение. Творог и творожные изделия должны храниться при температуре (4±2) °С.

А.6 Сметана и продукты на ее основе

Схема основных критических контрольных точек при производстве сметаны и продуктов на ее основе:



Пастеризация. При производстве сметаны используется высокотемпературная пастеризация сливок-сырья при температуре 85-95 °С с выдержкой 10-15 мин.

Закваска и сквашивание. Состав заквасочной микрофлоры, дозы и способы внесения, а также режимы культивирования определяются соответствующими техническими документами на конкретный вид сметаны.

Для обеспечения необходимой интенсивности развития микрофлоры в сливках после пастеризации и времени сквашивания 10-12 ч при температуре 26-30 °С, доза внесения производственной закваски при выработке сметаны должна составлять не менее 5 %.

После окончания процесса сквашивания сметану необходимо быстро охладить до температуры (6±2) °С, с целью предотвращения чрезмерного развития кислотообразующей заквасочной микрофлоры и ограничения возможности развития посторонней микрофлоры.

Готовый продукт. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля сметаны и продуктов на ее основе представлены в таблице А.9.

Таблица А.9 – Микробиологические показатели сметаны и продуктов на ее основе, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Сметана		
Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/г, не менее	$1 \cdot 10^7$	не реже 1 раза в 3 дня
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,001	не реже 1 раза в 3 дня

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100*	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100*	не реже 2 раз в месяц
Термизированные сметанные продукты		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	не реже 1 раза в 3 дня
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100*	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100*	не реже 2 раз в месяц
* Для продуктов со сроком годности более 72 ч		

Хранение. Сметана должна храниться при температуре (4±2) °С.

А.7 Сыры и сырные продукты

Схема основных критических контрольных точек при производстве сыра и сырных продуктов:

молоко-сырье
↓
сборное молоко
↓
пастеризация
↓
созревание молока
↓
закваска
↓
функционально необходимые добавки
(ферменты, хлорид кальция, пищевая поваренная соль)
↓
образование сгустка, разрезка, постановка зерна
↓
формование, прессование
↓
посолка
↓
созревание, упаковывание
↓
готовый продукт, хранение

Молоко-сырье – основная критическая контрольная точка при производстве сыра и сырных продуктов.

Кроме общих критериев безопасности и качества, приведенных в таблице 22, для сыроделия важны специфические критерии сыропригодности молока-сырья (таблица 24).

Сборное молоко (находящееся в хранении с момента получения до пастеризации). Качество молока во многом определяется условиями его хранения и первичной обработки и зависит от очистки, температуры и времени хранения. Хранение сырого молока при температуре ниже (6±1) °С снижает его сыропригодные свойства по микробиологическим, физическим и химическим показателям.

В процессе хранения молока при низких положительных температурах происходит развитие и размножение психротрофных микроорганизмов, продуцирующих термостойкие протеазы и липазы, которые, попадая в сыр, приводят к порокам: горечь, прогорклость, посторонний запах и вкус.

Количество психротрофных микроорганизмов в молоке до пастеризации не должно превышать 10^5-10^6 КОЕ/см^3. Молоко с повышенным содержанием психротрофных микроорганизмов следует направлять на производство сыров без созревания либо на производство иных молочных продуктов.

Пастеризация молока. В сыроделии для сохранения сыропригодных свойств молока используется низкотемпературная пастеризация (72±2) °С (20±5) с. При высоком уровне микробного обсеменения молока-сырья (более $5 \cdot 10^5$ КОЕ/см^3) рекомендуется проведение пастеризации при температуре (74±2) °С с той же выдержкой.

Большая часть остаточной микрофлоры в пастеризованном молоке является обязательной микрофлорой, обеспечивающей процессы созревания сыров совместно с заквасочными микроорганизмами.

Созревание молока. Созревание молока – эффективный способ улучшения его сыропригодности микробиологическими средствами.

Кислотность исходного молока, направляемого на созревание, не должна превышать 18 °Т. В пастеризованное молоко перед созреванием вносится 0,05-0,3 % закваски для повышения кислотности на 0,5-2,0 °Т. Предельная кислотность молока после созревания – не более 20 °Т. Для защиты от бактериофагов при созревании молока применяется иная закваска, чем для выработки сыра. Важным показателем созревшего молока - количество молочнокислых бактерий – 10^6-10^7 КОЕ/см^3.

Закваска. Состав, доза и способ применения БК зависят от вида вырабатываемого сыра или сырного продукта, качества используемого молока-сырья и конкретных особенностей технологического процесса.

Контроль содержания заквасочных микроорганизмов на разных этапах производственного процесса следует проводить при нарушении молочнокислого процесса во время выработки (замедление скорости нарастания титруемой кислотности или падения значений pH), при повышенных значениях pH сыра после прессования или появлении пороков готового продукта, связанных с заквасочной микрофлорой.

Таблица А.10 – Минимально необходимое содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов на разных этапах технологического процесса производства сыров и сырных продуктов

Этапы	Содержание жизнеспособных клеток заквасочных микроорганизмов, не менее
Сухая БЗ	10^9 КОЕ /ЕА или г
Сухой БК	10^{10} КОЕ /ЕА или г
Активизированный БК	10^7-10^8 КОЕ/см^3
Производственная закваска	10^9 КОЕ /см^3
В смеси для выработки	10^6-10^7 КОЕ/см^3
К концу выработки (сыр п/п)	10^8 КОЕ/см^3
Максимальный уровень в процессе созревания сыра	10^9 КОЕ/см^3

Микробиологические процессы во время выработки (образование сгустка, разрезка, постановка зерна, формование, прессование)

Во время выработки сыра необходимо строго следить за интенсивностью и направленностью микробиологических процессов по скорости нарастания кислотности сыворотки, а так же контролировать значение pH, содержание влаги и количество БГКП в сыре после прессования.

Значения прироста титруемой кислотности, pH сыра и содержание влаги должно полностью соответствовать значениям данных показателей в технологической инструкции на вырабатываемый продукт. Данные показатели контролируются в процессе каждой выработки.

Содержание заквасочных микроорганизмов в сыре после прессования должно быть не менее 10^7-10^8 КОЕ/г.

При нормальном уровне молочнокислого процесса во время выработки и созревания сыра, высоком качестве сыра и отсутствии специфических пороков вкуса и рисунка, связанных с чрезмерным развитием БГКП, рекомендуемая периодичность контроля содержания БГКП в сыре после пресса – не реже одного раза в 10 дней.

При нарушении уровня молочнокислого процесса во время выработки, высоких значения pH сыра после прессования, появлении пороков вкуса (посторонний, нечистый, затхлый) и особенно в случае раннего вспучивания сыров (до 20 дней после выработки), рекомендуется проводить контроль БГКП в сыре после прессования в каждой партии.

Содержание БГКП в сыре после прессования не должно превышать $3 \cdot 10^5$ КОЕ/г (среда АЖФК) или признаки роста на среде Кесслер должны отсутствовать в 0,00001 г.

Процесс посолки сыра и сырных продуктов. Соль – один из основных факторов, определяющих возможность или невозможность развития как заквасочных, так и посторонних микроорганизмов, и, следовательно, микробиологическую безопасность продукта.

Соль не может быть использована для подавления посторонней микрофлоры в сырах, так как эти микроорганизмы обычно более устойчивы к соли, чем микрофлора закваски.

Для обеспечения микробиологической безопасности сыров рекомендуется исключить полную посолку в зерне. Исключение составляет посолка сыра Чеддер, при производстве которого сбраживание лактозы завершается в процессе выработки.

Посолка в рассоле. При повышении температуры рассола до 16-18 °С резко увеличивается вероятность микробиологической порчи и развития таких пороков сыра, как горький, кислый, нечистый вкус, самокольный и щелевидный рисунок. Снижение температуры до 5-6 °С приводит к ингибированию молочнокислого процесса, что замедляет созревание.

Таблица А.11 – Состав и допустимый уровень содержания значимых микроорганизмов в рассоле

Микрофлора	Уровень микроорганизмов в рассоле, не влияющий на микробиологическую безопасность и качество сыров, КОЕ/ $см^3$, не более	Рекомендуемая периодичность контроля
КМАФАнМ	10^4 -10^5	1 раз в месяц
Солеустойчивые микроорганизмы	$5 \cdot 10^4$	1 раз в месяц*
Плесневые грибы	10^3	1 раз в месяц
* При превышении нормативных показателей содержания стафилококков в готовом продукте для выявления причины обсеменения необходимо проводить усиленный контроль рассола на солеустойчивые микроорганизмы с последующей идентификацией стафилококков.		

Для обеззараживания рассола его пастеризуют при температуре 95-100 °С с последующей нейтрализацией. Возможно применение ультрафильтрации.

Процесс созревания сыра и сырных продуктов. Регулируя температурные и влажностные режимы процесса созревания сыров в рамках норм, заложенных в технологических инструкциях, можно предотвратить снижение качества и хранимоспособности продукта.

Система циркуляции воздуха в камерах созревания – важный элемент, влияющий на качество сыра за счет возможного обсеменения поверхности сырной головки спорами плесневых грибов, являющихся причиной поверхностного плесневения.

Возможно снижение уровня обсемененности воздуха путем использования приема озонирования с использованием озонаторов определенного типа.

Упаковочные материалы, используемые в сыроделии, должны:

- иметь разрешение на применение для упаковки сыров;
- обеспечивать необходимый газообмен;
- иметь микробиологически чистую поверхность.

Готовый продукт. В условиях производственной лаборатории контролю подлежит каждая партия готового продукта в стадии кондиционной зрелости на предмет отсутствия признаков роста БГКП в 0,001 г. Контроль проводится на жидкой среде Кесслер.

Сыр и сырные продукты, особенно формуемые насыпью, могут быть реальным источником стафилококковых энтеротоксинов. Поэтому их контроль на содержание солеустойчивых микроорганизмов, в том числе стафилококков, является обязательным.

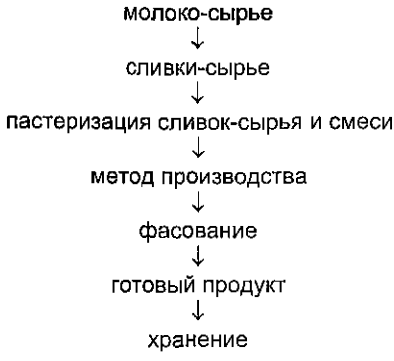
Допустимые нормы содержания и рекомендуемая периодичность контроля патогенных и условно патогенных микроорганизмов в сыре и сырных продуктах представлены в приложении Б.

Хранение

Сыр и сырные продукты необходимо хранить в интервале температур от минус 4 °С до плюс 6 °С и влажности воздуха 85-90 %.

А.8 Сливочное масло и масляные пасты из коровьего молока

Схема основных критических контрольных точек при производстве сливочного масла и пасты масляной:



Молоко-сырье. Молоко-сырье, используемое для получения масла и паст масляных, должно соответствовать общим требованиям безопасности и качества молока-сырья. Для маслоделия не существует специфических критериев безопасности и качества для молока-сырья.

При появлении пороков масла – горький, прогорклый, гнилостный или сырный вкус – рекомендуется проводить усиленный контроль молока-сырья на содержание психротрофных микроорганизмов.

Сливки-сырье. Для сливок-сырья наиболее значимыми следует считать критерии: время и температура их хранения до пастеризации (резервирование). Сливки-сырье целесообразно пастеризовать без резервирования, а в случае необходимости сливки с кислотностью не более 19 °Т допускается хранить при температуре (4±1) °С не более 24 ч.

Пастеризация. В маслоделии принято использовать высокотемпературную пастеризацию как сливок-сырья, так и смеси для производства сливочного масла и пасты масляной.

Оптимальной для обеспечения микробиологической чистоты продукта является температура пастеризации 95-98 °С без выдержки. Пастеризованные сливки допускается хранить при температуре (4±1) °С не более 72 ч.

Метод производства сливочного масла и пасты масляной. При выборе метода производства необходимо учитывать микробиологические показатели сырья и санитарно-гигиенические условия производства. Наиболее безопасным, с точки зрения возможности вторичного обсеменения, следует считать получение масла и масляной пасты методом преобразования высокожирных сливок. Данный метод производства обеспечивает большую дисперсность плазмы, что снижает вероятность развития микрофлоры в процессе хранения.

Фасование. Фасование сливочного масла порциями из монолита увеличивает вторичное обсеменение продукта в среднем на порядок. В целях повышения гарантии микробиологической безопасности целесообразно фасовать сливочное масло потребительскими порциями сразу после его изготовления.

Готовый продукт. В условиях производственной лаборатории контролю подлежит каждая партия готового продукта. Микробиологические показатели, допусти-

мые нормы и рекомендуемая периодичность контроля сливочного масла и пасты масляной представлены в таблице А.12.

Таблица А.12 – Микробиологические показатели сливочного масла и пасты масляной, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Масло сливочное сладко-сливочное без компонентов		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	в сумме 100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более		
Масло сливочное сладко-сливочное с компонентами		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Масло сливочное кислосливочное*		
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	в сумме 100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более		
Масло сливочное марочное, в т.ч. Вологодское		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	не реже 2 раз в месяц
Паста масляная без компонентов		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$2 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Паста масляная с компонентами		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$2 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,001	каждая партия

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
* Мезофильная аэробная и факультативно-анаэробная микрофлора в кисло-сливочном масле и пастах масляных кисло-сливочных представлена микрофлорой закваски.		

Содержание молочнокислых микроорганизмов в кисло-сливочном масле и пасте масляной кисло-сливочной должно быть не менее 10^6 КОЕ/г, в том числе не менее 70 % цитратсбраживающих ароматобразующих микроорганизмов. Контроль молочнокислых микроорганизмов в кисло-сливочном масле и пасте масляной кисло-сливочной в случае появления порока «не выраженный кисломолочный вкус» рекомендуется проводить в каждой партии до выявления причин и их устранения.

Хранение. Сливочное масло и пасты масляные должны храниться в температурном диапазоне от минус 25 °С до плюс 5 °С.

А.9 Спреды

Схема основных критических контрольных точек при производстве спредов:

сырье
↓
пастеризация смеси
(жировой и водорастворимой фазы)
↓
метод производства
↓
фасование
↓
готовый продукт
↓
хранение

Сухое обезжиренное молоко-сырье. При производстве спредов сухое обезжиренное молоко является значимым источником споровой микрофлоры. Споровые аэробы могут стать причиной таких пороков вкуса, как гнилостный и горький.

Растительные жиры. Особенность растительных жиров – низкое содержание или практически полное отсутствие в их составе свободной воды (менее 2 %), поэтому с точки зрения микробиологической безопасности внесение в смесь растительных жиров не может оказать негативного влияния на обсемененность спредов.

Пастеризация. При производстве спредов применяют высокотемпературную пастеризацию смеси жировой и водорастворимой фаз.

Метод производства. При выборе метода производства необходимо учитывать микробиологические показатели сырья и санитарно-гигиенические условия производства. Наиболее безопасным с точки зрения микробиологии следует считать метод преобразования, а наиболее проблемным – метод прямого смешения.

Фасование. Подходы к выбору способа фасования спредов, с позиций обеспечения микробиологической безопасности, аналогичны фасованию сливочного масла.

Готовый продукт. В условиях производственной лаборатории контролю подлежит каждая партия готового продукта. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля спредов представлены в таблице А.13.

Таблица А.13 – Микробиологические показатели спредов, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Сливочно-растительные и растительно-сливочные, массовой долей жира от 60 % и более		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	
Сливочно-растительные и растительно-сливочные, массовой долей жира менее 60 %		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^5$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,01	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	200	не реже 2 раз в месяц
Дрожжи, КОЕ/г, не более		

Хранение. Сливочно-растительные и растительно-сливочные спреды должны храниться в температурном диапазоне от минус 25 °С до плюс 5 °С.

А.10 Молочный жир, топленое масло и смеси топленые

Схема основных критических контрольных точек при производстве молочного жира, топленого масла и смесей топленых, влияющих на микробиологическую безопасность и качество готового продукта:

сырье
↓
плавление сырья
↓
вытапливание жировой фазы
↓
орошение водой
↓
фасование
↓
готовый продукт
↓
хранение

Сырье. В качестве основного сырья для молочного жира и топленого масла используется сливочное масло без вкусовых компонентов всех видов; для смесей топленых – спреды без вкусовых компонентов всех видов, по микробиологическим показателям соответствующие требованиям нормативных и технических документов.

Плавление сырья, вытапливание жировой фазы, орошение водой.

Все вышеперечисленные процессы производства не являются опасными с точки зрения возможности вторичного обсеменения. Данные процессы снижают бактериальную обсемененность сырья, так как предполагают использование высоких температур (плавление сырья – 50-60 °С, вытапливание жировой фазы – 90-110 °С в течение 2-4 ч, орошение водой – не менее 85 °С).

Фасование. Подходы при выборе способа фасования, с позиций обеспечения микробиологической безопасности, аналогичны маслу сливочному.

Готовый продукт. В условиях производственной лаборатории контролю подлежит каждая партия готового продукта. Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля молочного жира, топленого масла, смесей топленых представлены в таблице А.14.

Таблица А.14 – Микробиологические показатели молочного жира, топленого масла, смесей топленых, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^3$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	200	не реже 2 раз в месяц

Хранение. Молочный жир, топленое масло, смеси топленые должны храниться в температурном диапазоне от минус 25°С до плюс 5°С.

А.11 Плавленый сыр и плавленые сырные продукты

Схема основных критических контрольных точек при производстве плавленого сыра и плавленых сырных продуктов, влияющих на микробиологическую безопасность и качество готового продукта:



Сырье. В качестве основного сырья для производства плавленого сыра и плавленых сырных продуктов используют:

- сыр и сырные продукты;
- нежирный сыр;
- творог;
- сливки-сырье и сливочное масло;
- сгущенную пахту и/или сгущенную сыворотку;
- сухое цельное и/или сухое обезжиренное молоко;
- полуфабрикаты белковые из обезжиренного молока, пахты, сыворотки.

Сыр и сырные продукты, нежирный сыр, творог, полуфабрикаты белковые из обезжиренного молока, пахты, сыворотки, в т.ч. замороженные с последующей дефростацией, по микробиологическим показателям должны соответствовать требованиям нормативных и технических документов.

Составление смеси для плавления из основного и вспомогательного сырья необходимо проводить, контролируя температуру и время выдержки смеси до начала плавления. Продолжительность хранения смеси с момента составления до начала плавления в нерегулируемых температурных режимах не должна превышать 2 ч.

Плавление смеси . Режимы плавления обеспечивают высокотемпературную пастеризацию сырной массы (85-95 °С в течение 4-20 мин). Остаточная микрофлора сырной массы представлена споровыми аэробными и анаэробными микроорганизмами и остаточным количеством спор дрожжей и плесневых грибов. Применение УВТ-режимов плавления (140 °С) обеспечивают стерилизацию сырной массы и уничтожение всех форм микроорганизмов, включая споровые.

Вегетативные формы микрофлоры плавленого сыра и плавленых сырных продуктов являются результатом вторичного обсеменения продукта после плавления сырной массы.

Фасование сырной массы проводят из бункера расфасовочного автомата при температуре 55-85 °С. Вторичное обсеменение возможно за счет оборудования (термофильный стрептококк, термофильные палочки, БГКП), воздуха (споры дрожжей и плесневых грибов), персонала (возможный источник обсеменения патогенной микрофлорой) и упаковочных материалов (БГКП, споры дрожжей и плесневых грибов).

Копчение (для копченых плавленых сыров). Выдержка сыров перед копчением не должна превышать 8 ч.

Горячее копчение (температура 45-60 °С, продолжительность 3-4 ч) не является точкой риска, способной оказать существенное влияние на безопасность и качество плавленого сыра и плавленых сырных продуктов.

Холодное и промежуточное копчение (температура 25-33 °С, продолжительность 12-24 ч) создает условия для возможной реактивации клеток, получивших термошок при плавлении или развития микрофлоры вторичного обсеменения.

Охлаждение расфасованного плавленого сыра или плавленого сырного продукта проводится незамедлительно до температуры не выше 8 °С.

Готовый продукт. В условиях производственной лаборатории контролю подлежит каждая партия готового продукта.

Микробиологические показатели, допустимые нормы и рекомендуемая периодичность контроля плавленого сыра и плавленых сырных продуктов представлены в таблице А.15.

Таблица А.15 – Микробиологические показатели плавленого сыра и плавленых сырных продуктов, подлежащие контролю в готовом продукте в условиях производственной лаборатории

Микробиологические показатели	Норма	Рекомендуемая периодичность контроля
Сыры плавленые без компонентов		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$5 \cdot 10^3$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	50	каждая партия
Дрожжи, КОЕ/г, не более	50	каждая партия
Сыры плавленые с компонентами		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	каждая партия
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	каждая партия
Плавленые сырные продукты		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	каждая партия
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	каждая партия
Сырные соусы, пасты		
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	$1 \cdot 10^4$	каждая партия
БГКП, не допускаются в массе продукта, г	0,1	каждая партия
Плесневые грибы, КОЕ/г, не более	100	каждая партия
Дрожжи, КОЕ/г, не более	100	каждая партия

Плавленые сыры и плавленые сырные продукты, фасуемые в герметичную упаковку под вакуумом и подлежащие длительному хранению, должны проходить усиленный контроль на содержание общего количества спор анаэробных микроорганизмов. При этом их исходное количество в сыре или сырных продуктах, используемых в качестве основного сырья, не должно превышать 110 спор/г.

Хранение. Плавленый сыр и плавленые сырные продукты должны храниться в температурном диапазоне от 0 °С до плюс 4 °С и относительной влажности воздуха 85 %.

Приложение Б
(обязательное)

Нормы безопасности и рекомендуемая периодичность контроля условно-патогенных и патогенных микроорганизмов в молоке, продуктах его переработки и при оценке санитарно-гигиенического состояния производства

Таблица Б.1 – Нормы безопасности и периодичность контроля Staphyloccocus aureus при производстве молочных продуктов

Наименование продукта	Норма безопасности (объем или масса продукта, в которой не допускаются)	Рекомендуемая периодичность контроля
Молоко питьевое пастеризованное в потребительской таре	1 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Молоко питьевое ультрапастеризованное (без асептического розлива) в потребительской таре	10 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Молоко питьевое пастеризованное во флягах и цистернах	0,1 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Сливки пастеризованные и обогащенные в потребительской таре	1 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Сливки взбитые	0,1 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Сливки пастеризованные во флягах и цистернах	0,1 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Напитки, коктейли, кисели молочные и сливочные, из пахты и сыворотки, желе, соусы, кремы, пудинги, муссы, пасты, суфле молочные, сливочные, из пахты и сыворотки, пастеризованные	1 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Все жидкие кисломолочные продукты	1 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Сметана и продукты на ее основе	1 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Закваска	10 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Термизированные сквашенные молочные и молочные составные продукты	1 $см^3$	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Творог, творожная масса, творожные продукты, продукты на их основе	0,1 г	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Творожные продукты термически обработанные, в т.ч. с компонентами	1 г	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Альбуминная масса из молочной сыворотки и продукты на ее основе, кроме вырабатываемых сквашиванием	0,1 г	1 раз в квартал

Наименование продукта	Норма безопасности (объем или масса продукта, в которой не допускаются)	Рекомендуемая периодичность контроля
Сухие молочные и молочные составные продукты: молоко, сливки, напитки, сыворотка, пахта, смеси для мороженого, продукты кисломолочные, ЗЦМ	1 г	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Концентрат сывороточный белковый, молочный сахар, концентрат альбуминоказеиновый, белок молочный, казеины, концентрат лактулозы	1 г	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Сыры и сырные продукты	0,001 г	каждая партия
Масло сливочное, в т.ч. сухое, кроме Вологодского	0,1 г	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Масло сливочное с компонентами	0,1 г	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Паста масляная	0,1 г	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Спред и смесь топленая	0,1 г	1 раз в квартал и/или при усиленном контроле*
Смывы с оборудования: ванны, емкости, вспомогательные материалы, инвентарь и т.п.	1 $см^3$ смывной жидкости	4-12 раз в год
Смывы с рук	1 $см^3$ смывной жидкости	при усиленном контроле

* Усиленный контроль проводят:
- в случае возникновения нештатных ситуаций на предприятии;
- при неоднократном превышении нормы содержания санитарно-показательных микроорганизмов (БГКП – более одного порядка, КМАФАнМ – более, чем в 3 раза);
- при неоднократном превышении нормы соматических клеток в молоке-сырье.

Контроль Staphyloccocus aureus проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 30347.

Работы с условно-патогенными и патогенными микроорганизмами проводятся в лабораториях, лицензированных на соответствующий вид деятельности и аккредитованных в установленном порядке.

Порядок и периодичность контроля условно-патогенных и патогенных микроорганизмов определяется программой производственного контроля предприятия-изготовителя, исходя из внутренней ситуации.

Таблица Б.2 – Нормы безопасности и периодичность контроля патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл при производстве молочных продуктов

Наименование продукта	Норма безопасности (*объем или масса* продукта, в которой не допускаются)	*Рекомендуемая* периодичность контроля
Закваска	100 $см^3$	1 раз в квартал
Молоко питьевое ультрапастеризованное (без асептического розлива) в потребительской таре	100 $см^3$	1 раз в квартал
Молоко сырое, питьевое и все продукты переработки молока	25 г ($см^3$)	1 раз в квартал
Смывы с оборудования: ванны, емкости, вспомогательные материалы, инвентарь и т.п.	не допускаются в смывной жидкости	1 раз в квартал
Примечание – При производстве сметаны, творога, кисломолочных напитков, вырабатываемых в открытых системах, рекомендуется проводить контроль 1 раз в месяц.		

Контроль патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 30519.

Таблица Б.3 – Нормы безопасности и периодичность контроля патогенных микроорганизмов Listeria monocytogenes при производстве молочных продуктов

Наименование продукта	Норма безопасности (объем или масса продукта, в которой не допускаются)	Рекомендуемая периодичность контроля
Молоко, сливки, пахта, сыворотка пастеризованные	в 25 г ($см^3$)	1 раз в квартал
Молоко питьевое ультрапастеризованное в потребительской таре (без асептического розлива)		
Напитки, коктейли, кисели молочные и сливочные, из пахты и сыворотки, желе, соусы, кремы, пудинги, муссы, пасты, суфле молочные, сливочные, из пахты и сыворотки, пастеризованные		
Термизированные сквашенные молочные и молочные составные продукты		
Смеси для мороженого сухие		
Сыры и сырные продукты		
Масло сливочное, в т.ч. сухое		
Паста масляная		
Спред и смесь топленая		

Контроль патогенных микроорганизмов Listeria monocytogenes проводят в соответствии с требованиями ГОСТ Р 51921.

Приложение В

Качественные методы микробиологического контроля, используемые для оценки молока и молочных продуктов

Редуктазная проба по ГОСТ 9225-84

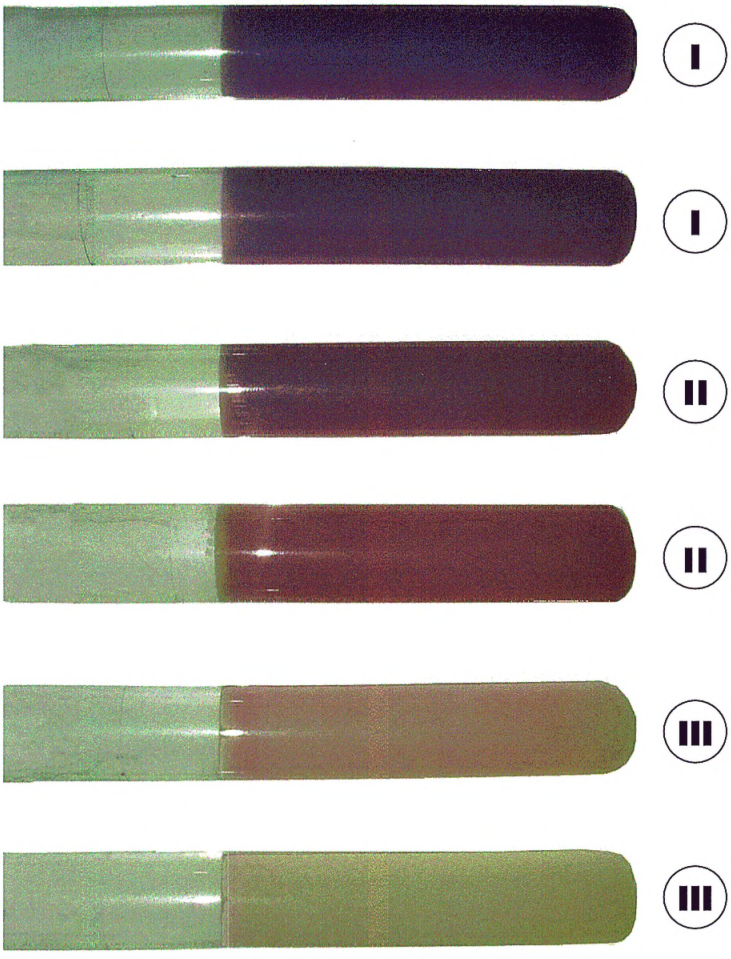


Рисунок 3 – **Окрашивание пробы в зависимости от класса**

Определение класса молока
по редуктазной пробе с резазурином по ГОСТ 9225-84

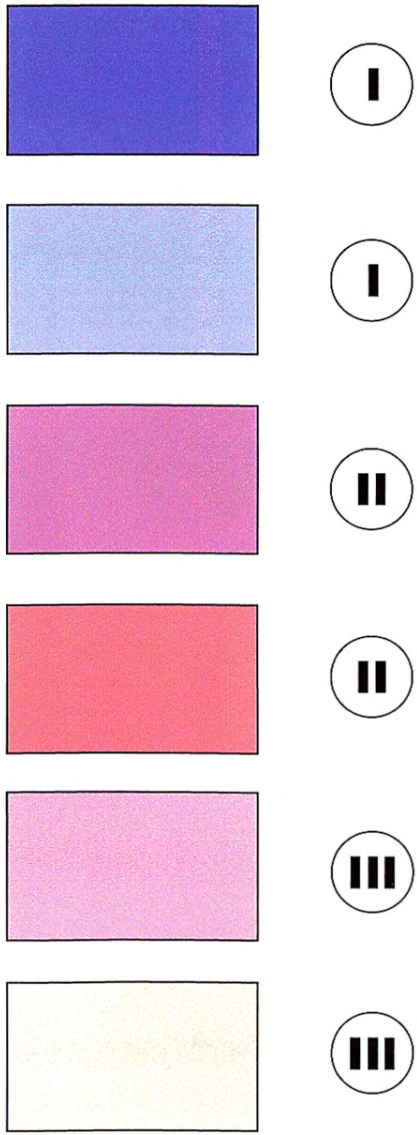


Рисунок 4 - **Цветовая шкала для определения класса молока по редуктазной пробе с резазурином**

При определении ингибирующих веществ в молоке:

- при наличии ингибирующих веществ содержимое пробирок будет иметь окраску, характерную для молока первого класса по цветовой шкале для определения класса молока по редуктазной пробе;
- при отсутствии ингибирующих веществ содержимое пробирок будет иметь розовый или белый цвет.

Микробитесты для определения дегидрогеназной активности

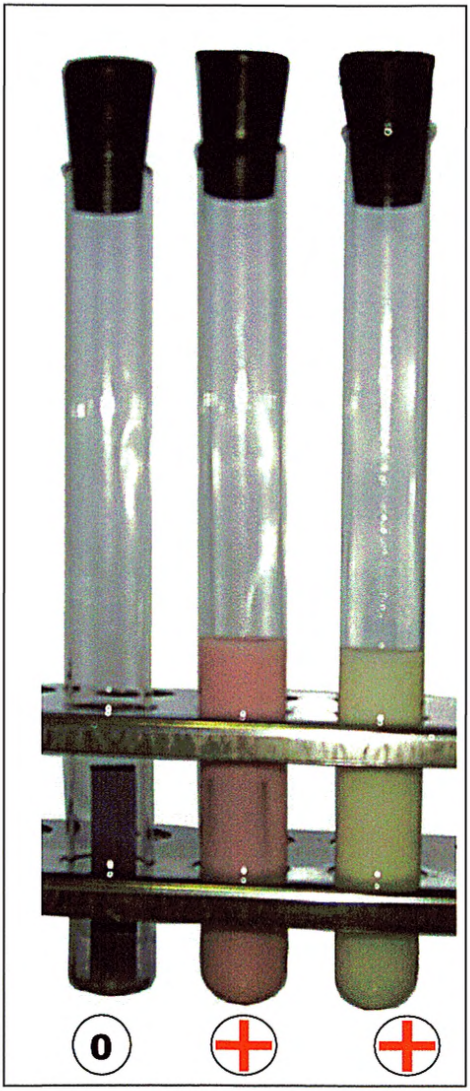


Рисунок 5 – **Изменение окраски в зависимости от уровня содержания микроорганизмов в молоке**

0 – Вид подготовленной пробирки с микробитестом

\+ – Образцы с разным уровнем содержания микроорганизмов*

* Розовое окрашивание соответствует II классу молока по редуктазной пробе; бело-розовое – III классу молока по редуктазной пробе.

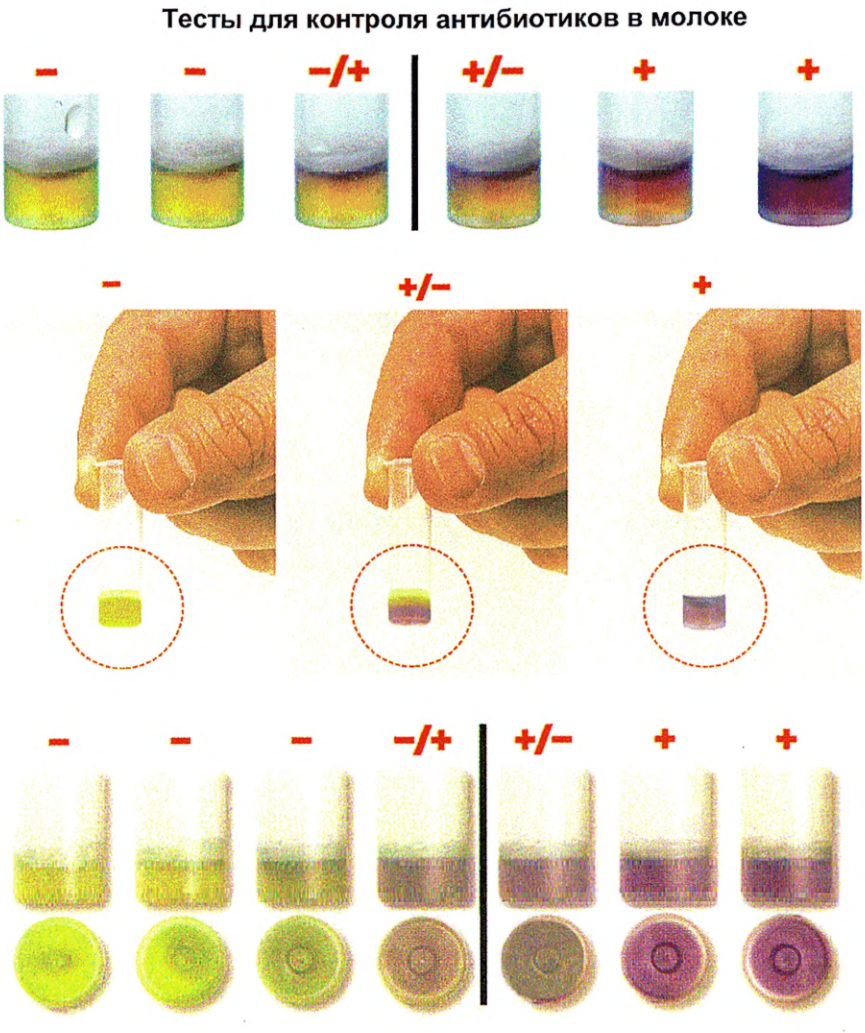


Рисунок 6 – **Цветовые шкалы для тестовых наборов при контроле антибиотиков в молоке**

Обработка результатов:

– Рост тест-культуры.
Ингибирующие вещества в пробе **отсутствуют**

+ Подавление роста тест-культуры.
Наличие ингибирующих веществ в пробе

+/– Ограниченный рост тест-культуры.
Вероятно наличие следовых количеств ингибирующих веществ в пробе

Стадии окрашивания микропрепаратов по Граму

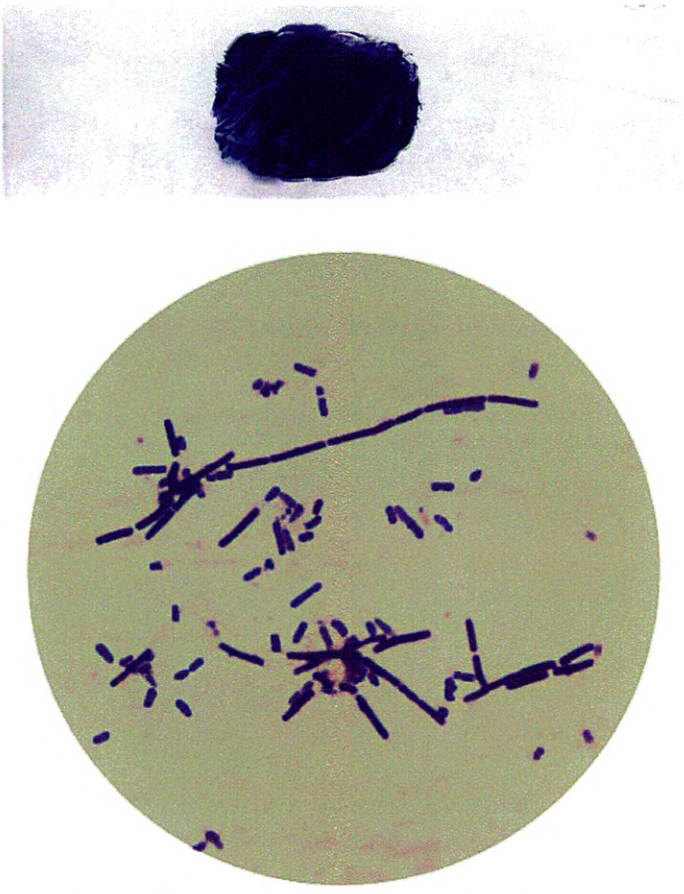


Рисунок 7 – **Первая стадия окрашивания по Граму**

Тест-культура грамотрицательных микроорганизмов – Escherichia coli;
тест-культура грамположительных микроорганизмов – Lactobacillus acidophilus.

Клетки грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов после обработки кристаллическим фиолетовым имеют одинаковое окрашивание.

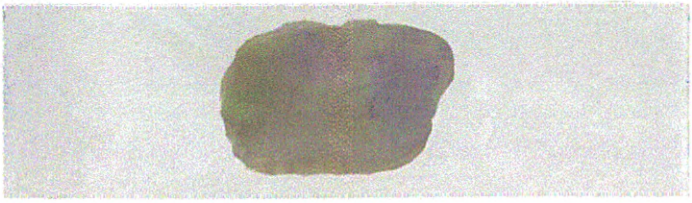


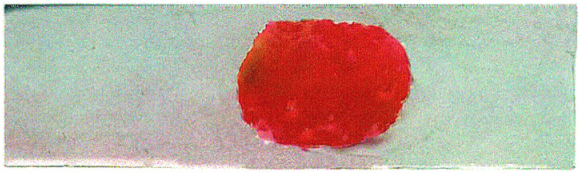


Рисунок 8 – **Вторая стадия окрашивания по Граму**

Тест-культура грамотрицательных микроорганизмов – Escherichia coli;
тест-культура грамположительных микроорганизмов – Lactobacillus acidophilus.

Клетки грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов после обработки кристаллическим фиолетовым, раствором Люголя и спиртом:

- грамположительные микроорганизмы окрашены в бледно-фиолетовый цвет;
- грамотрицательные микроорганизмы – потеряли окраску и не видны в препарате.



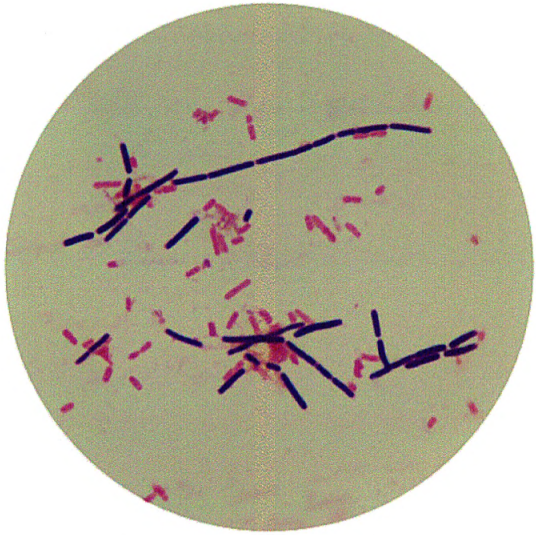


Рисунок 9 – **Третья стадия окрашивания по Граму**

Тест-культура грамотрицательных микроорганизмов – Escherichia coli;
тест-культура грамположительных микроорганизмов – Lactobacillus acidophilus.

Клетки грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов после обработки кристаллическим фиолетовым, раствором Люголя и спиртом, с последующим окрашиванием фуксином:

- грамположительные микроорганизмы окрашены в фиолетовый цвет;
- грамотрицательные микроорганизмы приобрели красно-розовую окраску.

Приложение Г

Признаки роста микроорганизмов, подлежащих контролю в молоке и молочных продуктах на рекомендуемых питательных средах

Среда КМАФАнМ

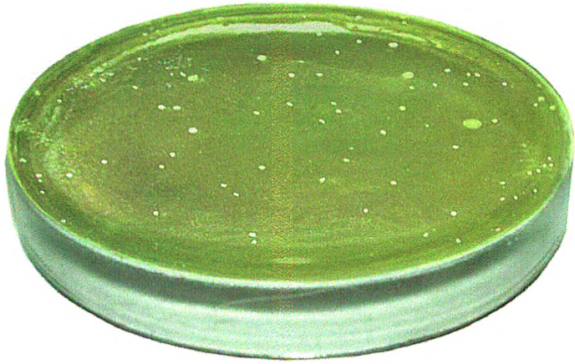


Рисунок 10 – **Мезофильные микроорганизмы**

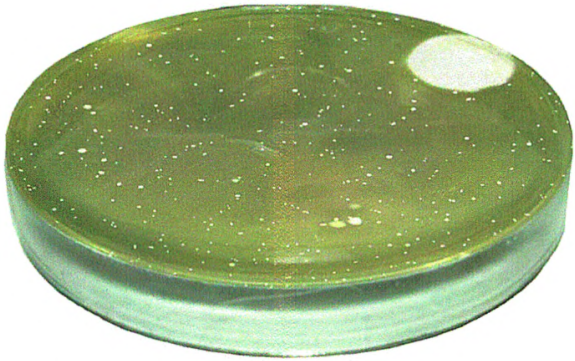


Рисунок 11 – **Психротрофные микроорганизмы**



Рисунок 12 – **Термофильные микроорганизмы**

Среда КМАФАнМ

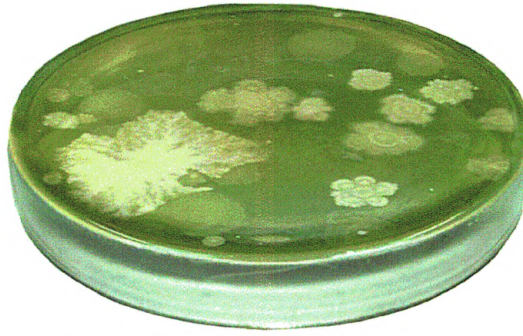


Рисунок 13 – **Споровые аэробные микроорганизмы**

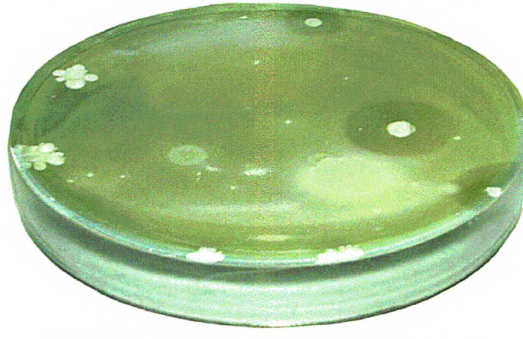


Рисунок 14 – **Протеолитические микроорганизмы**

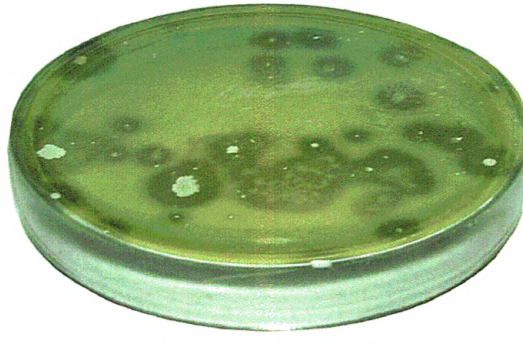


Рисунок 15 – **Липолитические микроорганизмы**

Среда КМАФАнМ



Рисунок 16 – **Заквасочные мезофильные микроорганизмы**



Рисунок 17 – **Заквасочные термофильные микроорганизмы**



Рисунок 18 – **Заквасочные ароматообразующие микроорганизмы**

Среда Кесслер

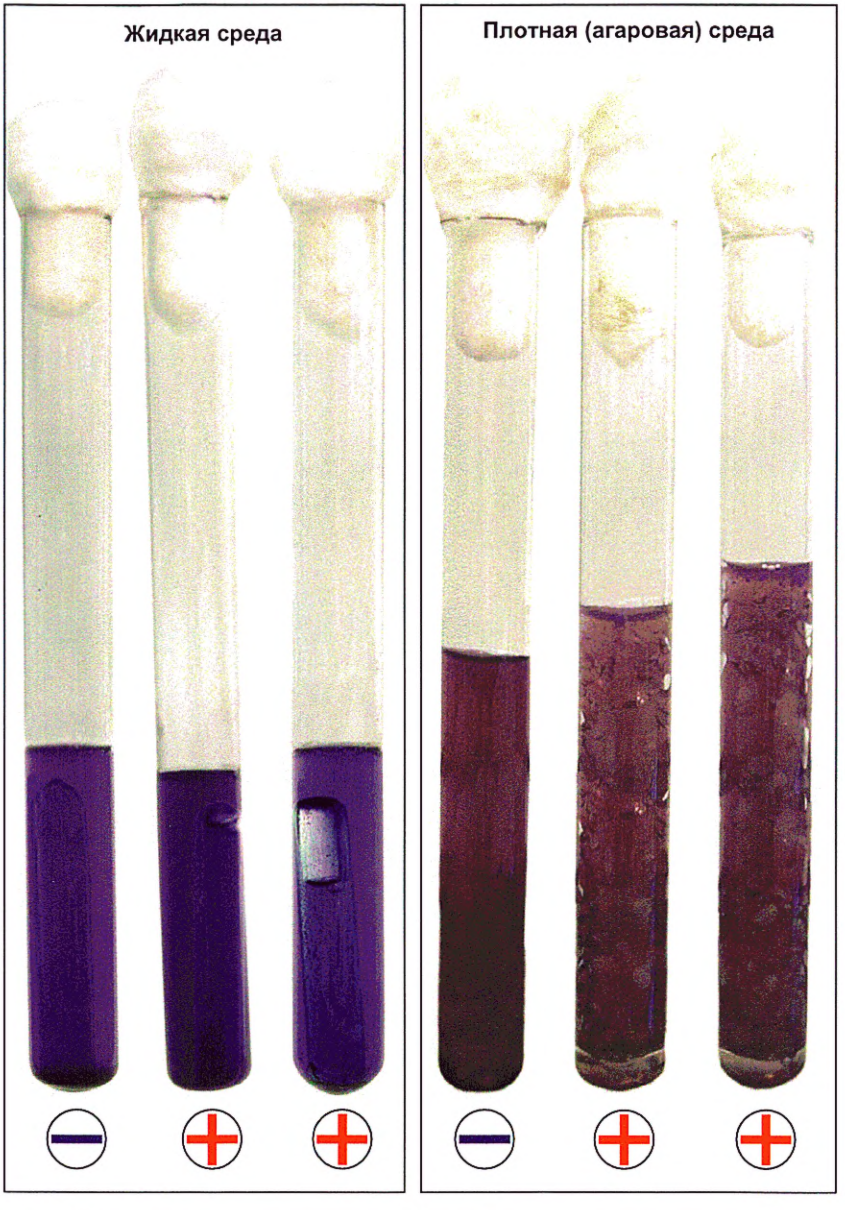


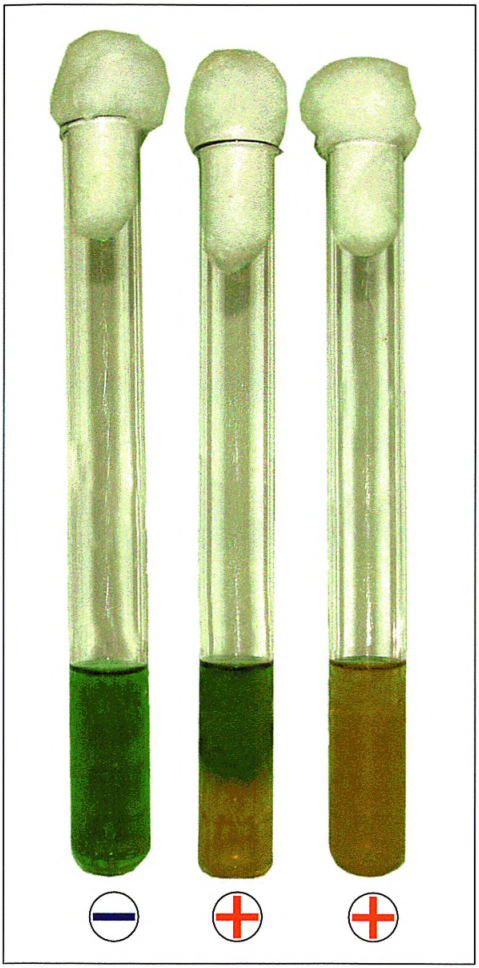
Рисунок 19 – **Признаки роста БГКП на среде Кесслер**

Среды ГПС (глюкозопептонная) и ЛПС (лактозопептонная)



Рисунок 20 – **Признаки роста БГКП на средах ГПС и ЛПС**

Среда Кода



Среда
без признаков роста

Среда
с признаками роста

Рисунок 21 – **Признаки роста БГКП на среде КОДА**

Среда АЖФК (агар желчный фиолетово-красный)

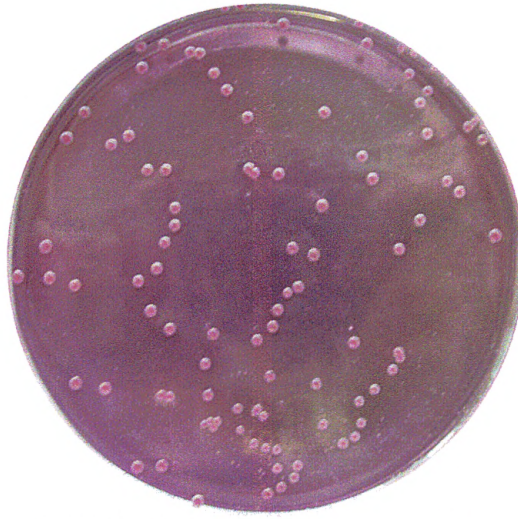


Рисунок 22 – **Рост E. coli при поверхностном посеве**

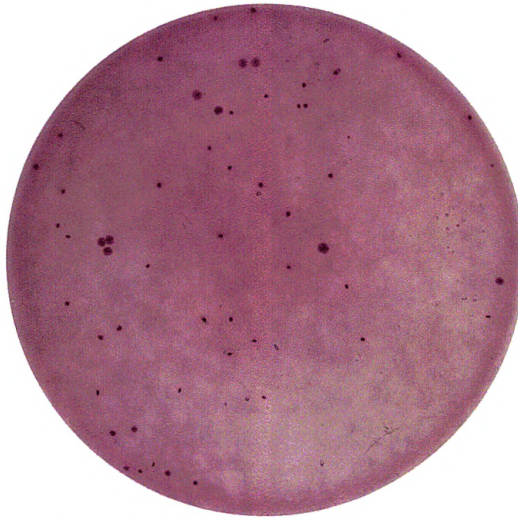


Рисунок 23 – **Рост E. coli при глубинном посеве**

Среда Эндо



Рисунок 24 – **Вид колоний E. coli в проходящем свете.**
Отличительная черта – красный отпечаток вокруг колоний

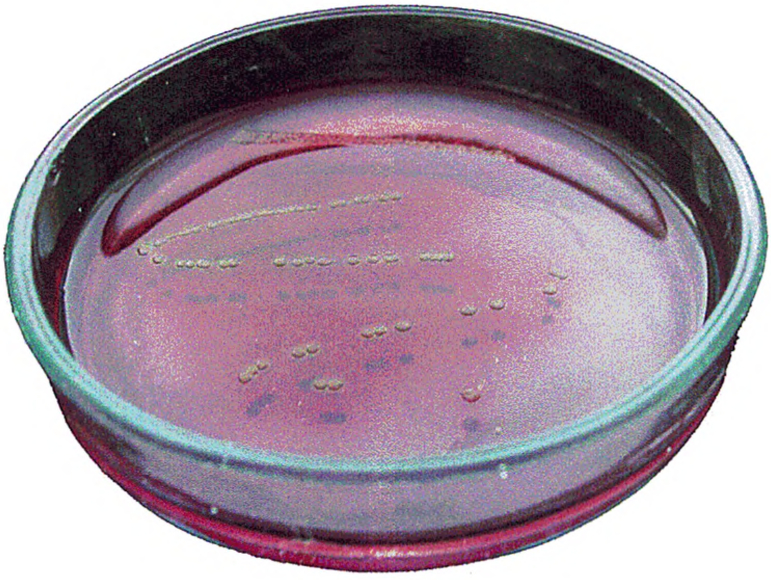


Рисунок 25 – **Вид колоний E. coli в отраженном свете.**
Отличительная черта – металлический блеск колоний

Среда МСА (молочно-солевой агар)

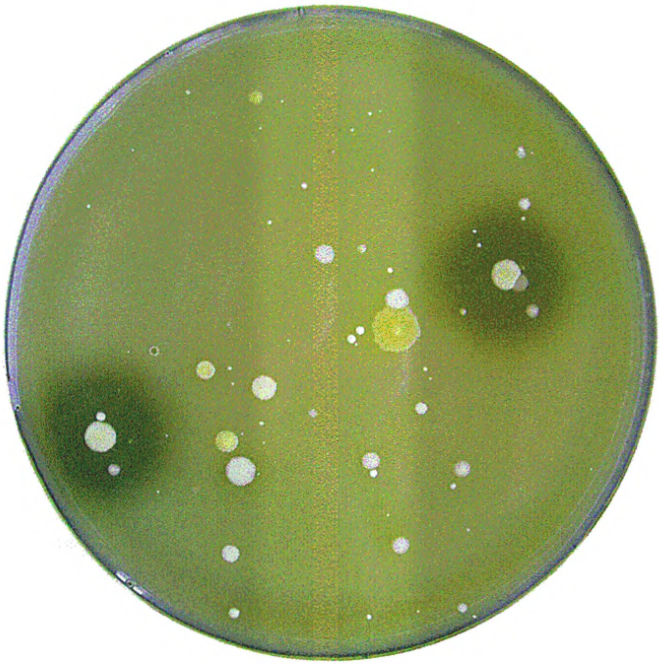


Рисунок 26 – **Вид колоний солеустойчивых микроорганизмов в проходящем свете**



Рисунок 27 – **Вид колоний солеустойчивых микроорганизмов в отраженном свете.**
Реакция на каталазу - разложение H_2O_2 с выделением газа

Среда АДП (агаровая для определения дрожжей и плесеней)

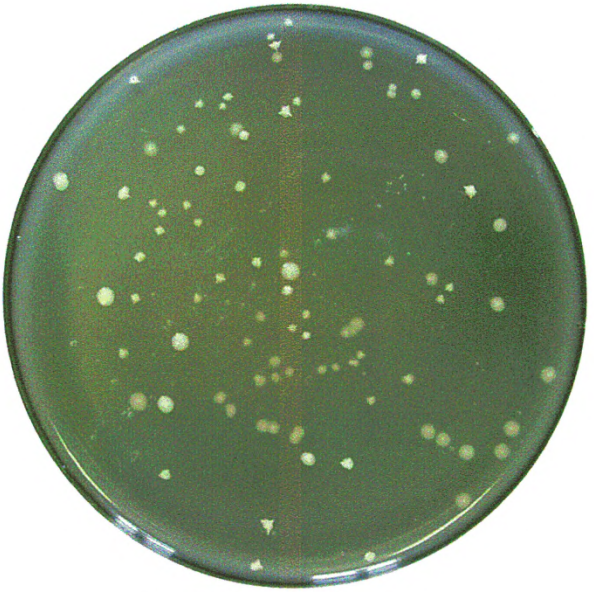


Рисунок 28 – **Рост дрожжей**

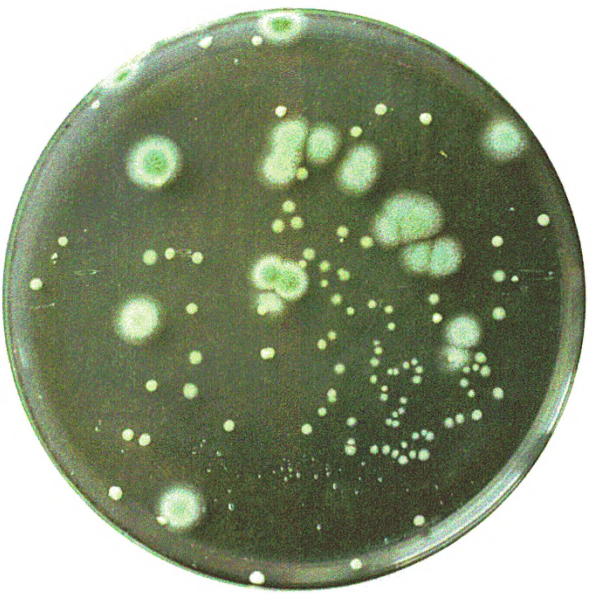


Рисунок 29 – **Рост плесневых грибов**

Среда Сабуро

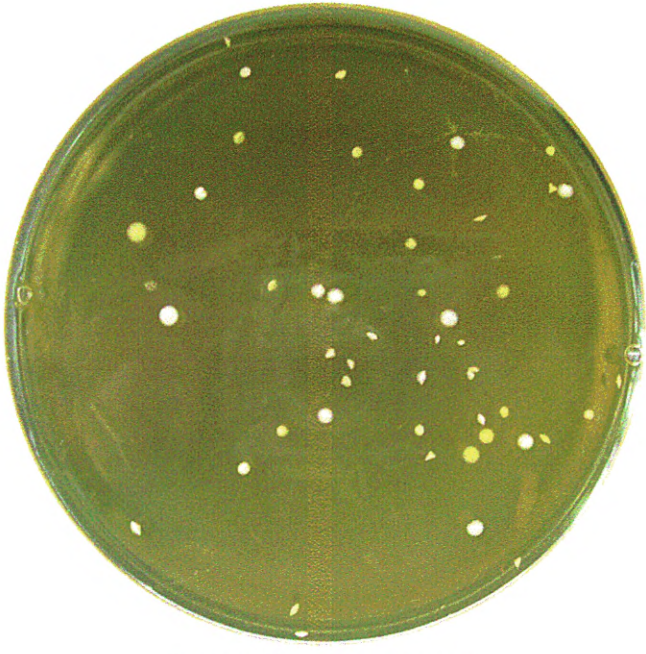


Рисунок 30 – **Рост дрожжей**

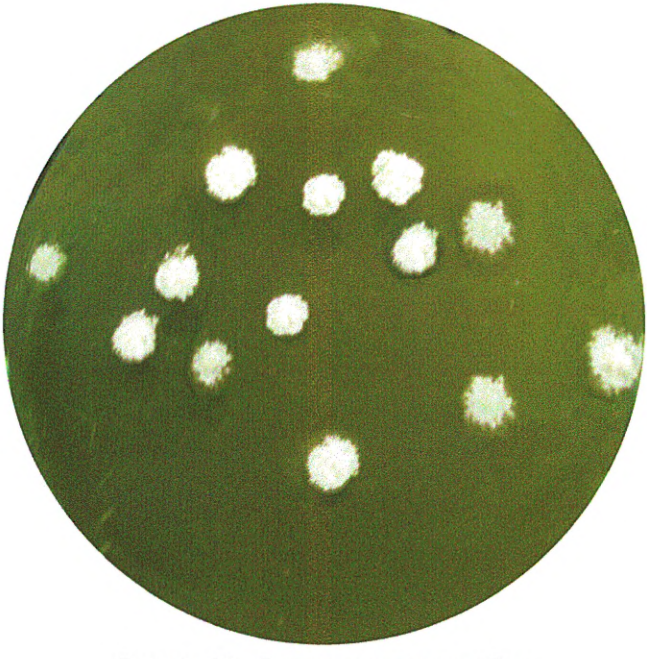


Рисунок 31 – **Рост плесневых грибов**

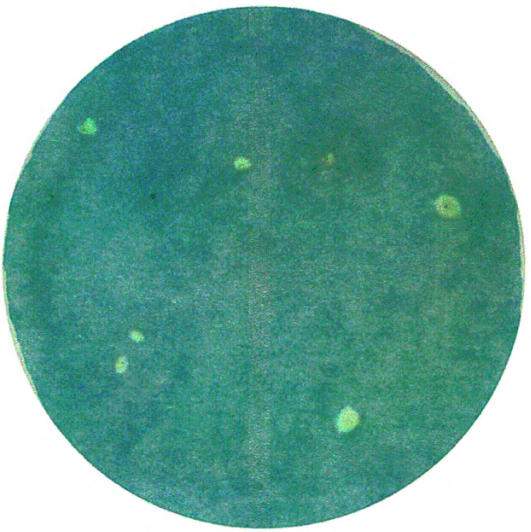


Рисунок 32 – **Рост дрожжей**

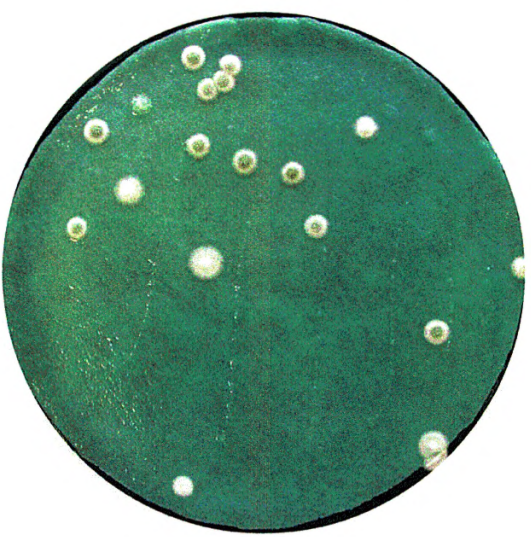
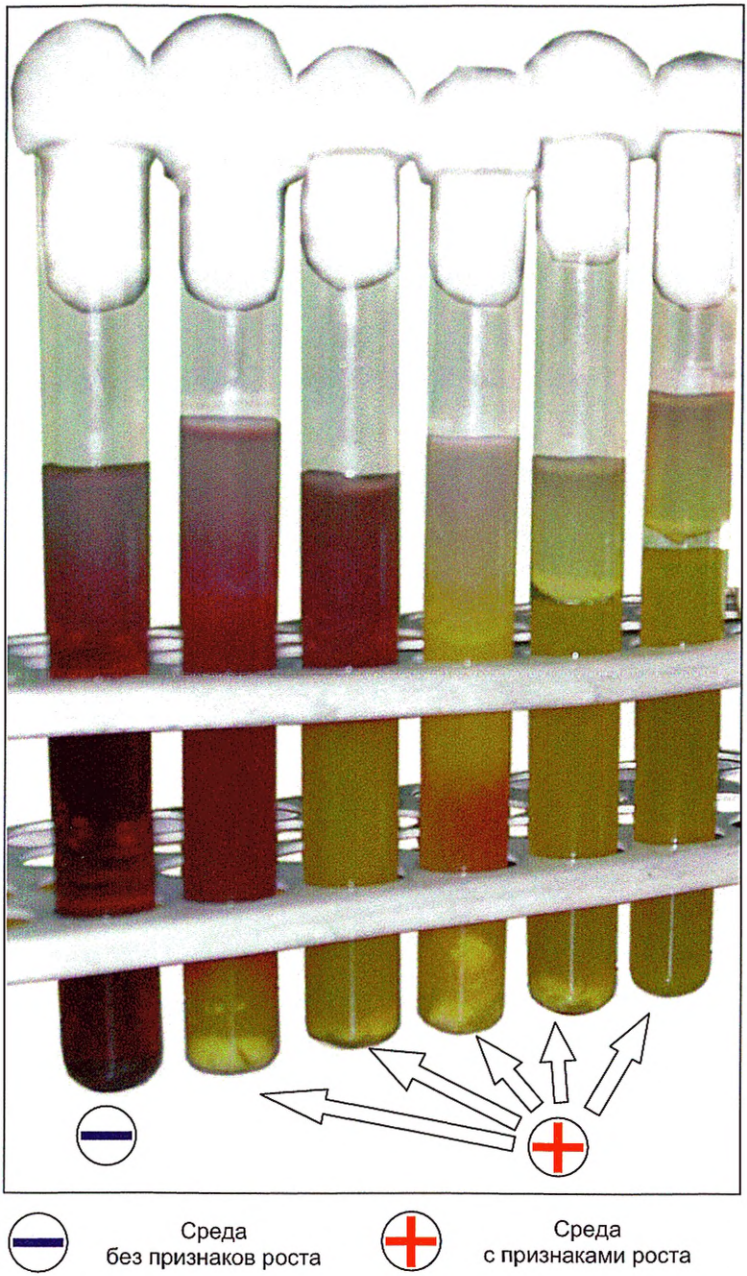


Рисунок 33 – **Рост плесневых грибов**

Среда ЛАССА

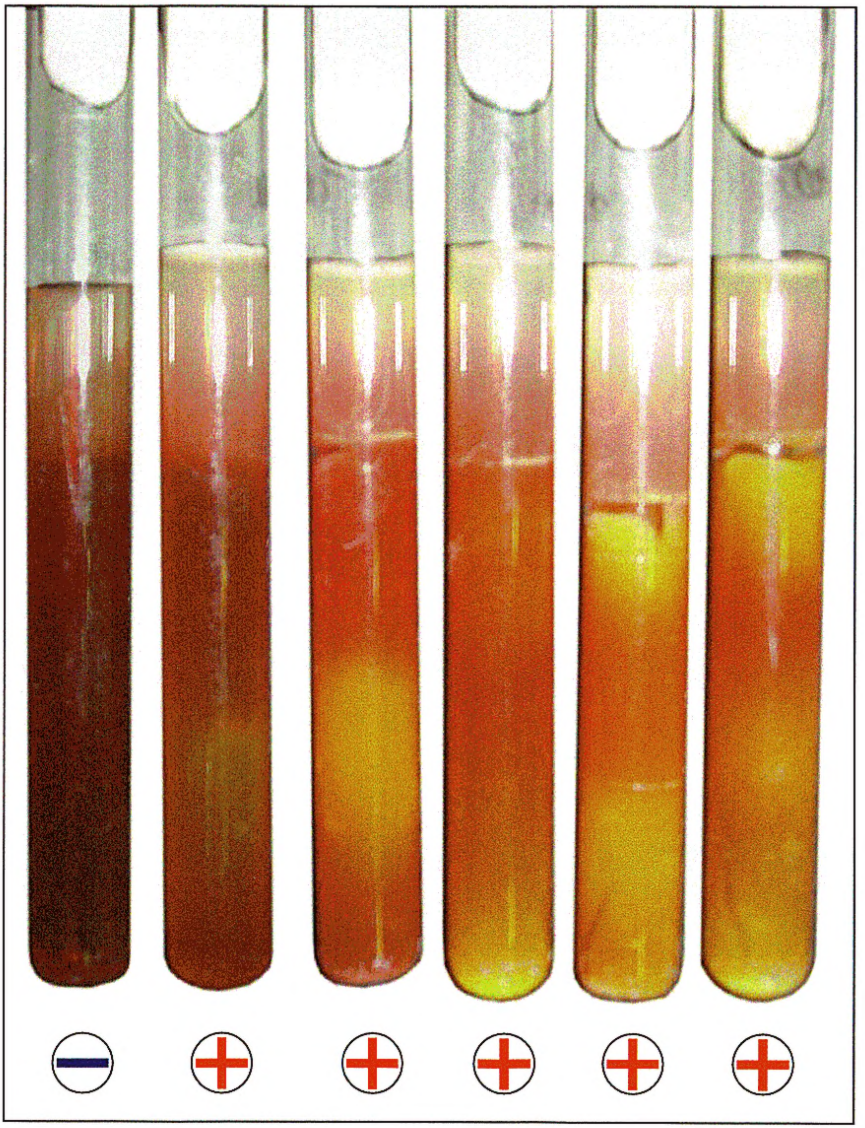


Среда
без признаков роста

Среда
с признаками роста

Рисунок 34 – **Признаки роста споровых анаэробных лактатсбраживающих микроорганизмов на среде ЛАССА**

Среда СДА

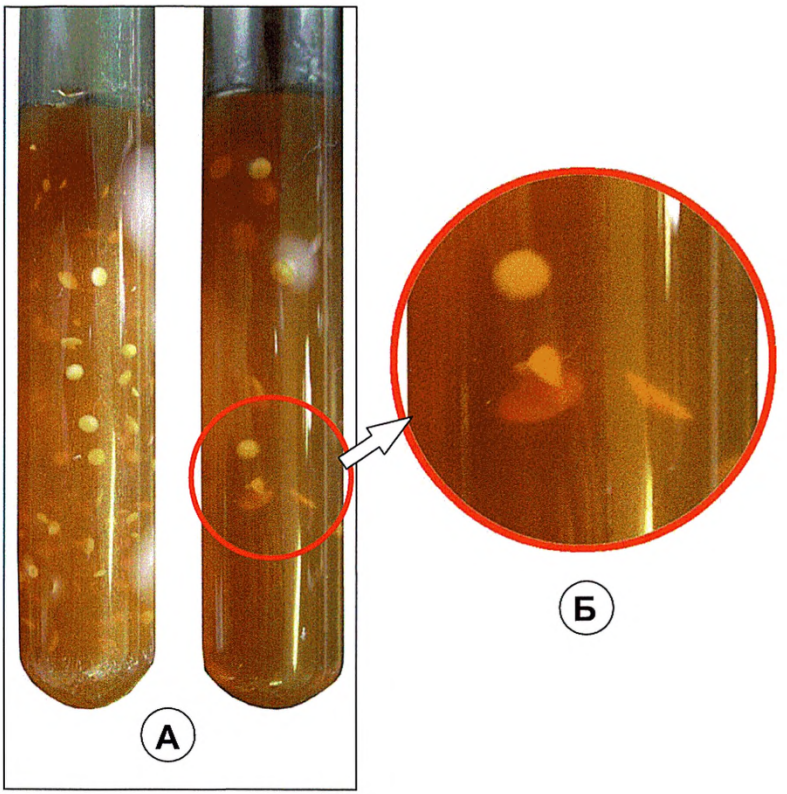


Среда
без признаков роста

Среда
с признаками роста

Рисунок 35 – **Признаки роста споровых анаэробных микроорганизмов на среде СДА**

Среда для определения бифидобактерий (ВНИИМС)



А — Типичные колонии бифидобактерий (диски, гречишные зерна) на твердой питательной среде

Б — Колонии бифидобактерий при увеличенном изображении

Рисунок 36 – **Признаки роста бифидобактерий на среде для определения бифидобактерий**

Среда для культивирования бифидобактерий (ВНИИМС)

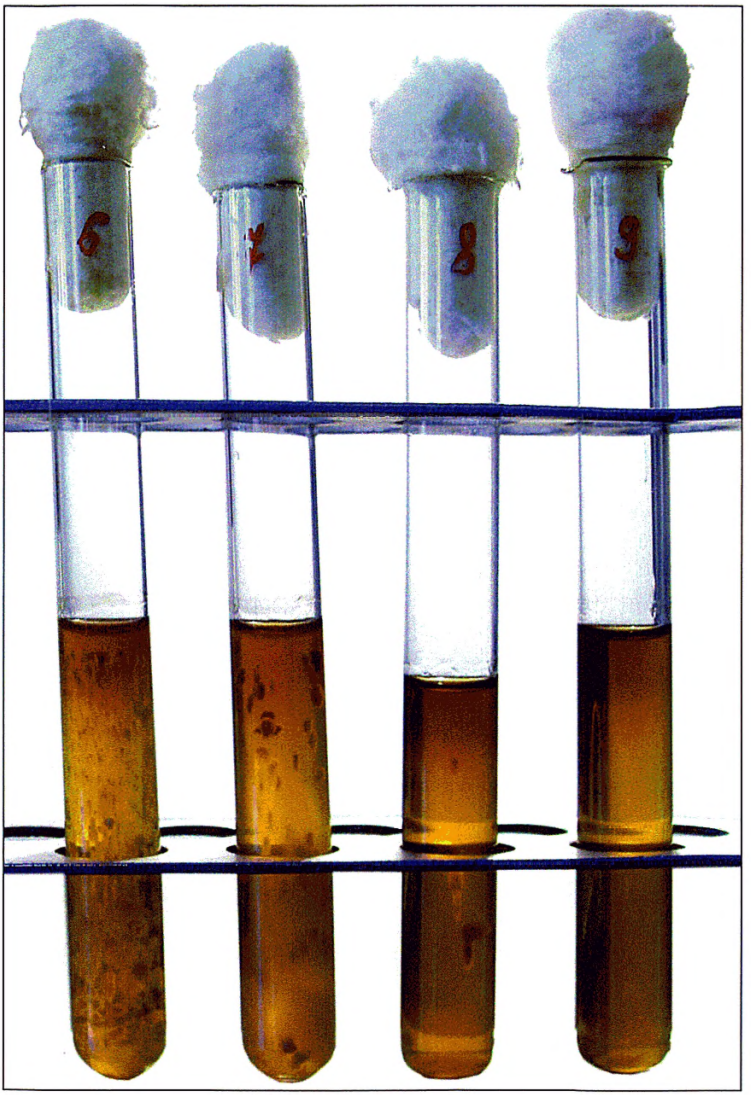


Рисунок 37 – **Признаки роста бифидобактерий на среде для культивирования бифидобактерий**

Приложение Д

Атлас
микроорганизмов молока и молочных продуктов

Род *Micrococcus* (микрококки)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- технически вредные микроорганизмы;
- постоянная микрофлора сырого молока;
- могут стать причиной горечи и снижения хранимоспособности.

Основные характеристики

Грамположительные, неподвижные, каталазоположительные, строго аэробные, мезофильные кокки.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 10…45 °С;
- оптимальная температура роста 25…30 °С.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера образуют преимущественно поверхностные средней величины* цветные колонии (белые, розовые, желтые) с ровным краем.
Кокки – одиночные, парные, тетрады, беспорядочные скопления.
Размеры клеток (0,5-3,5) мкм.

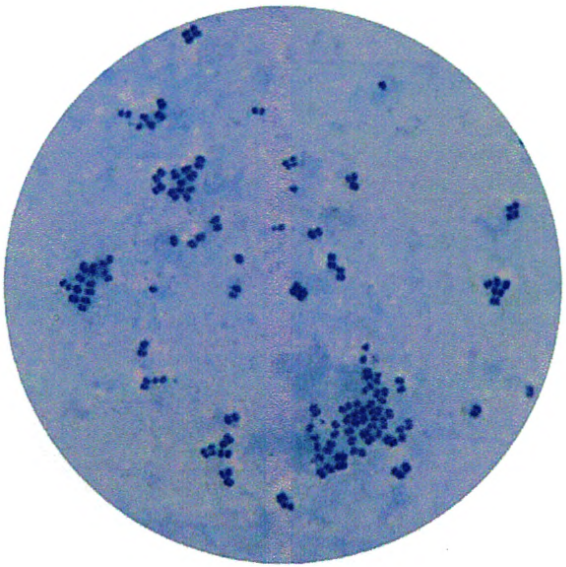


Рисунок 38 – **Микропрепарат чистой культуры микрококков (*Micrococcus sp.*).** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

---

* Условное деление колоний по размеру:
- точечные – (0,5±0,3) мм; - средние – (3,0±1,0) мм;
- мелкие – (1,4±0,5) мм; - крупные – более 4,0 мм.

Род *Staphylococcus* (стафилококки)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- условно-патогенные микроорганизмы, отдельные штаммы способны продуцировать термостойкие энтеротоксины;
- основной источник – сырое молоко, полученное от животных, больных стафилококковым маститом; персонал; оборудование.

Основные характеристики

Грамположительные, неподвижные, каталазоположительные, аэробные или факультативно анаэробные мезофильные кокки. Устойчивы к соли и желчи.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 6...45 °С;
- оптимальная температура роста 35...40 °С.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера образуют обычно поверхностные круглые среднего размера блестящие непрозрачные пигментированные (золотисто-желтые, белые) колонии с ровным краем.
Кокки, диплококии, размером (0,5-1,5) мкм.
Образуют неправильные скопления в виде виноградных гроздей.

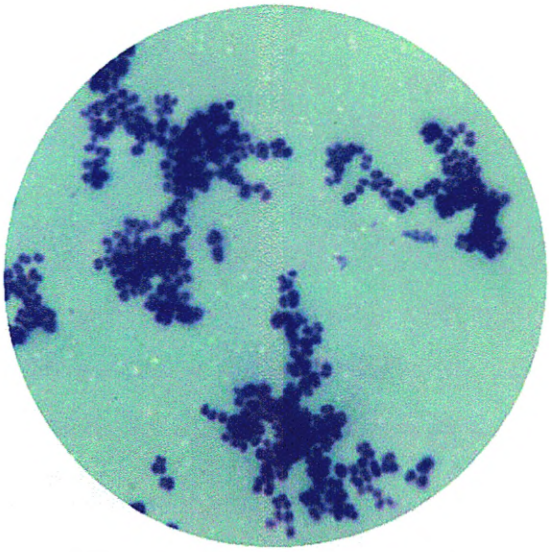


Рисунок 39 – **Микропрепарат чистой культуры стафилококков (*Staphylococcus sp.*).**
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Род *Enterococcus* (энтерококки)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- технически вредные микроорганизмы;
- основной источник – фекалии, оборудование, сырое молоко;
- показатель низкого уровня гигиены получения молока;
- могут стать причиной горечи.

Основные характеристики

Грамположительные, неподвижные, каталазоотрицательные, аэробные или факультативно анаэробные, термофильные кокки.
Выдерживают пастеризацию.
Устойчивы к соли и желчи.
Размножаются при кислотности среды 9,6 ед. pH.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 10...53 °С
- оптимальная температура роста 40...45 °С.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют средние (1,5-2,0) мм с ровным краем и блестящей поверхностью колонии.
Клетки от сферических до овальных диаметром до 2 мкм.
Кокки неправильной формы – одиночные, парные и в коротких цепочках.

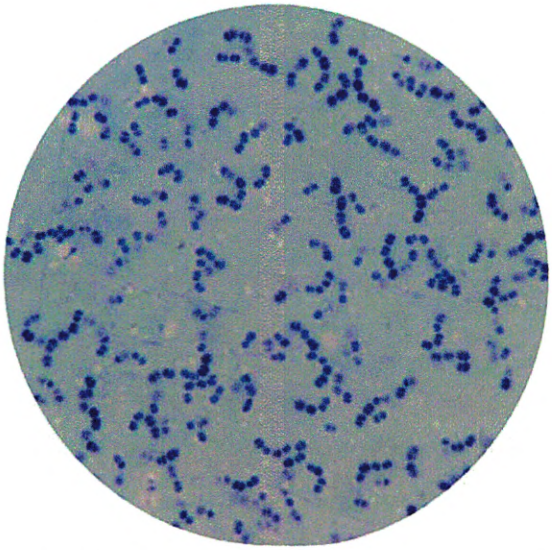


Рисунок 40 – **Микропрепарат чистой культуры энтрерококков (*Enterococcus sp.*).** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Семейство Enterobacteriaceae

Бактерии группы кишечных палочек (БГКП, колиформы)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- санитарно-показательные, технически вредные микроорганизмы;
- основной источник – фекалии, сырое молоко, оборудование, вода, обслуживающий персонал;
- могут вызывать специфические пороки вкуса, запаха, излишнее газообразование, раннее вспучивание сыров.

Основные характеристики

Грамотрицательные, неспорообразующие, каталазоположительные, оксидазоотрицательные, газообразующие,
факультативно-анаэробные мезофильные палочки.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста (возможны психротрофные формы) 15…45 °С;
- оптимальная температура роста 37…38 °С.

Характеристика колоний и микропрепарата

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют поверхностные достаточно крупные или средних размеров колонии (до 5 мм) слизистой консистенции, белого цвета со светло-кремовым оттенком или глубинные среднего размера колонии в виде лодочек с ровным краем.
Прямые палочки с закругленными концами, размером (0,5-0,8)×(1,0-3,0) мкм, встречаются отдельно или в парах.

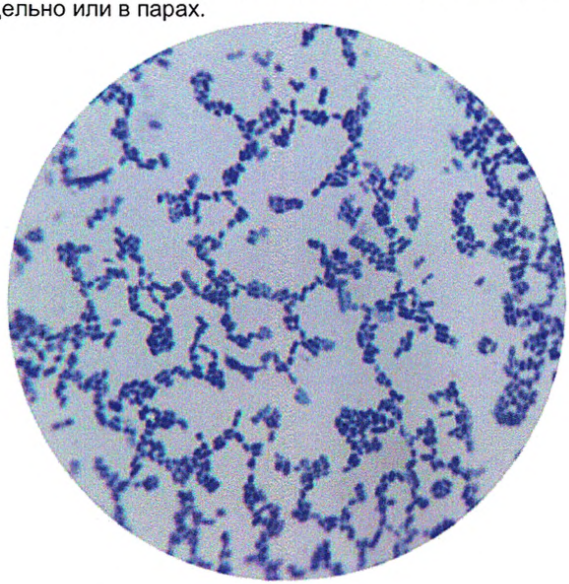


Рисунок 41 – **Микропрепарат чистой культуры кишечной палочки (*Escherichia coli*).**
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Семейство Enterobacteriaceae

Род *Salmonella* (сальмонелла)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

Патогенные микроорганизмы.
Основной источник – фекалии человека, животных, птиц (первичное обсеменение), вода, оборудование, сырье, обслуживающий персонал (вторичное обсеменение).

Основные характеристики:

Грамотрицательные, неспорообразующие, каталазоположительные, оксидазоотрицательные, факультативно-анаэробные мезофильные палочки. Лактозоотрицательные. Сбраживают глюкозу с образованием газа. Цитратсбраживающие. Солеустойчевые.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 10…45 °С;
- оптимальная температура роста 37…38 °С.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На среде Эндо образуют полупрозрачные, бесцветные или бледно-розовые колонии диаметром 2-4 мм.
Прямые палочки с закругленными концами, размером (0,5-1,5)×(1,0-5,0) мкм, встречаются отдельно или в парах.

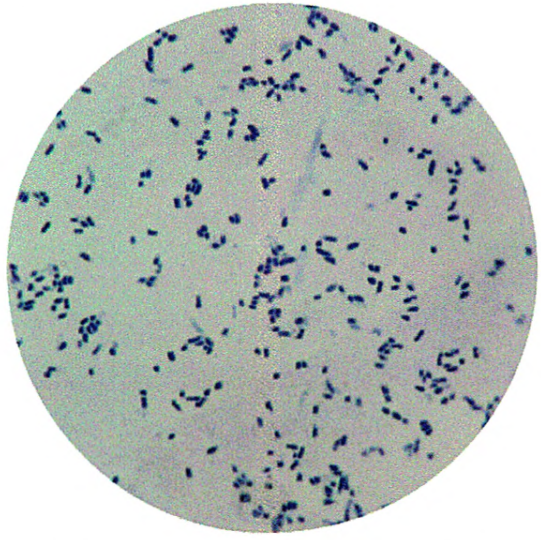


Рисунок 42 – **Микропрепарат чистой культуры сальмонеллы (*Salmonella infantis*).**
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Семейство Enterobacteriaceae

Род *Shigella* (шигелла)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

Патогенные микроорганизмы.
Основной источник – фекалии человека (первичное обсеменение); вода, оборудование, сырье, обслуживающий персонал (вторичное обсеменение).

Основные характеристики:

Грамотрицательные, неспорообразующие, оксидазоотрицательные, факультативно-анаэробные мезофильные палочки.
Медленно сбраживают лактозу без образования газа.
Сбраживают глюкозу с образованием кислоты, но не газа.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 10…45 °С;
- оптимальная температура роста 37…38 °С.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах образуют нежные полупрозрачные колонии диаметром 1-1,5 мм.
Прямые палочки с закругленными концами, размером (0,5-1,5)×(1,0-5,0) мкм, чаще отдельные клетки или в парах, встречаются цепочки.

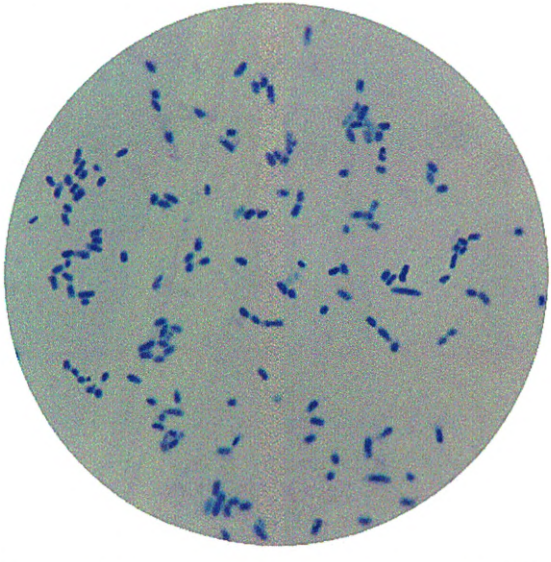


Рисунок 43 - **Микропрепарат чистой культуры шигеллы (*Shiegella sonnei*).** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Род *Listeria* (листерия)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

Патогенные микроорганизмы.
Основной источник – вымя больного животного (первичное обсеменение); фекалии, почва, силос, вода (вторичное обсеменение).

Основные характеристики:

Грамположительные, обычно каталазоположительные неспорообразующие, аэробные или микроаэрофильные кокковидные психротрофные палочки.
Сбраживают глюкозу с образованием кислоты, но не газа.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 1…45 °С;
- оптимальная температура роста 30 °С.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах растут в виде мелких беловатых с перламутровым оттенком блестящих колоний диаметром 0,5-1,5 мм.
Прямые палочки с закругленными концами (0,4-0,5)×(0,5-2,0) мкм, чаще отдельные клетки или в парах, встречаются цепочки.

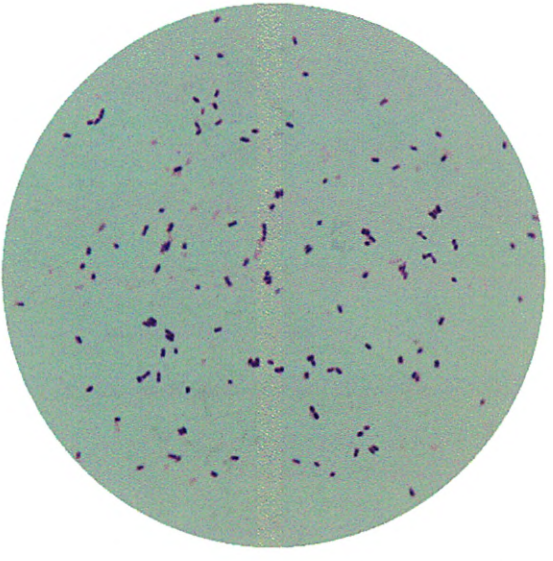


Рисунок 44 – **Микропрепарат чистой культуры *Listeria sp.***
Увеличение 1500^{x}.

Род *Pseudomonas* (псевдомонады)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- технически вредные микроорганизмы;
- основной источник – почва, вода, корма, оборудование;
- могут стать причиной горечи, прогорклости, снижения хранимоспособности.

Основные характеристики

Грамотрицательные, неспорообразующие, каталазоположительные, обычно оксидазоположительные, психротрофные палочки.
Строгие аэробы.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 4 (и ниже) 43 °С;
- оптимальная температура роста 22…26 °С;
  (для *Ps. aeruginosa*: 37 °С).

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера образуют мелкие или среднего размера (зависит от температуры культивирования) поверхностные колонии, бесцветные или пигментированные (для *Ps. aeruginosa*).
Клетки одиночные, крупные, от палочковидных до овальных, прямой или изогнутой формы, размером (0,5-1)×(1,5-4) мкм.

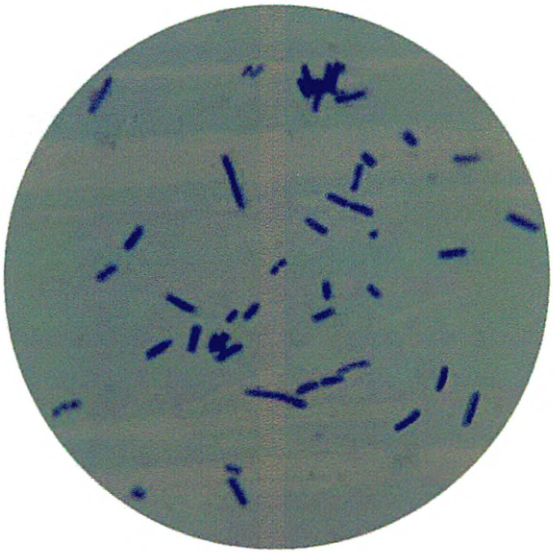


Рисунок 45 – **Микропрепарат чистой культуры псевдомонад (*Pseudomonas sp.*)**. Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Род *Bacillus* (бациллы)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- технически вредные микроорганизмы;
- основной источник – почва, корма (сено), вода, оборудование;
- споры переносят пастеризацию, могут стать причиной снижения хранимоспособности.

Основные характеристики

Грамположительные, большинство подвижные, спорообразующие, каталазоположительные, аэробные и факультативно анаэробные палочки.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 3…64 °С;
- оптимальная температура роста 30 °С.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах образуют три вида типичных колоний: крупные поверхностные колонии обычно белого или светло кремового цвета с неровным ползущим краем, чаще сухой складчатой поверхностью и концентрированым центром; или так же крупные полупрозрачные в толще агара с неровным краем; или средних размеров белого цвета поверхностные и в толще агара неправильной формы в виде снежинок или звездочек.

Клетки палочковидные, прямые или почти прямые, размером (0,3-2,2)×(1,2-7,0) мкм. Образуют термоустойчивые эндоспоры, не более одной в клетке, не окрашивающиеся обычными красителями (метиленовый голубой).

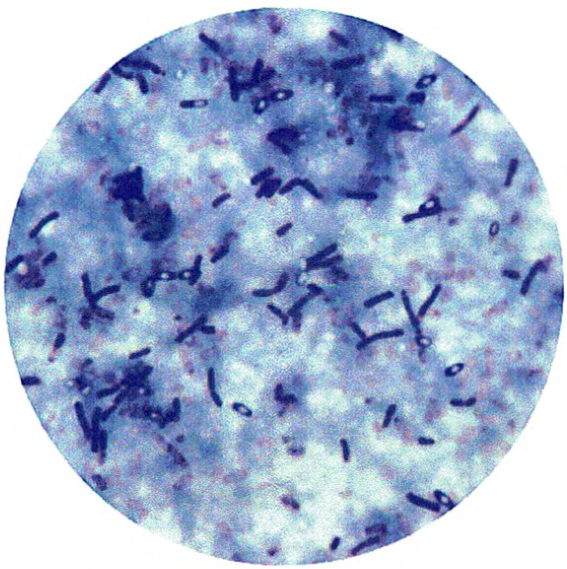


Рисунок 46 – **Микропрепарат культуры *Bacillus sp.*, выделенной из сырого молока.**
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

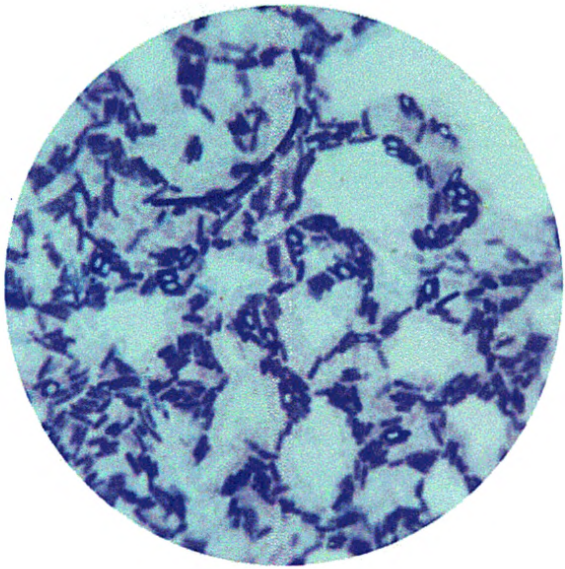


Рисунок 47 – **Микропрепарат культуры *Bacillus sp.*, выделенной из сыра.** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

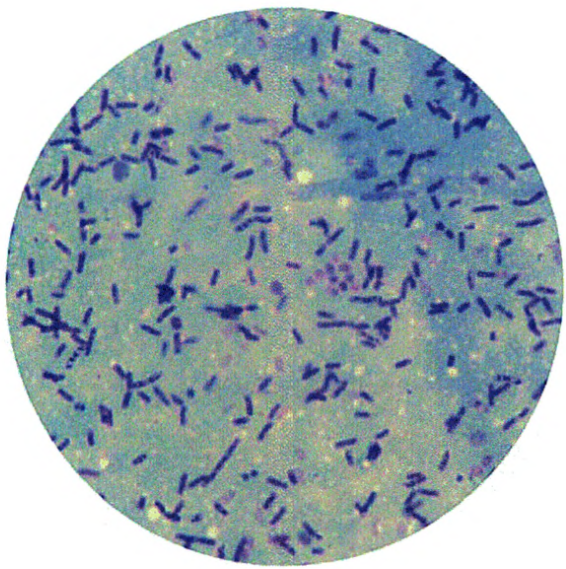


Рисунок 48 – **Микропрепарат культуры *Bacillus sp.*, выделенной из сыра.** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Род *Clostridium*

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- технически вредные микроорганизмы;
- основной источник – почва, вода, корма (силос);
- маслянокислые бактерии могут стать причиной специфических пороков вкуса и запаха, позднего вспучивания сыров.

Основные характеристики

Грамположительные, обычно подвижные, спорообразующие, каталазоотрицательные палочки. Строгие анаэробы.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 3…46 °С;
- оптимальная температура роста 26…37 °С.

Характеристика микропрепарата:

Палочки, образующие овальные или сферические споры, нередко раздувающие клетку, размером (0,3-2)×(3-9) мкм.

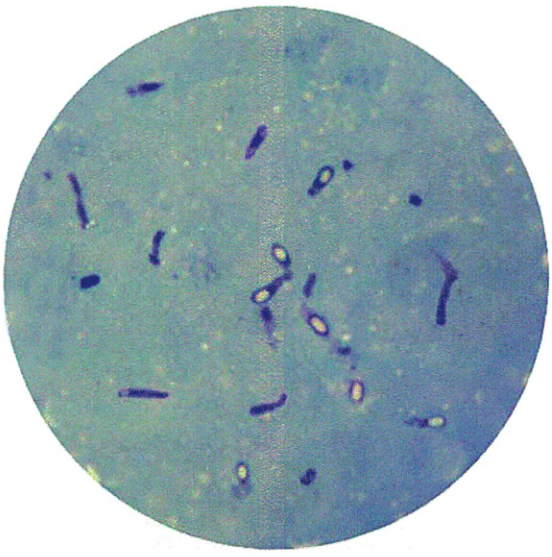


Рисунок 49 – **Микропрепарат культуры *Clostridium butiricum* штамм ЯП$_2$.** Увеличение 1500^x. Окраска метиленовым голубым

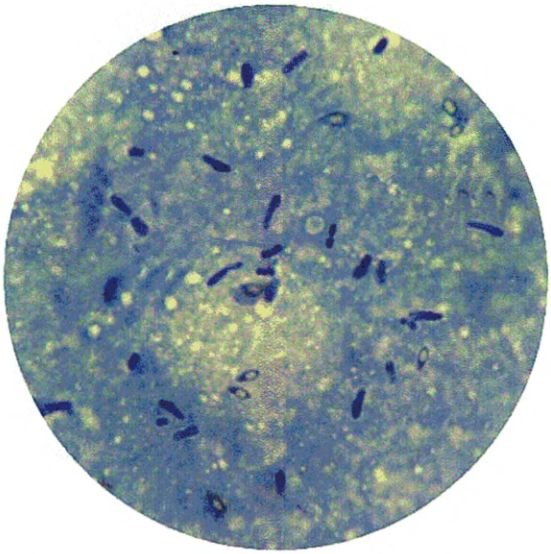


Рисунок 50 – **Микропрепарат культуры *Clostridium tyrobutiricum* штамм $Г_1$.** Увеличение 1500^x. Окраска метиленовым голубым

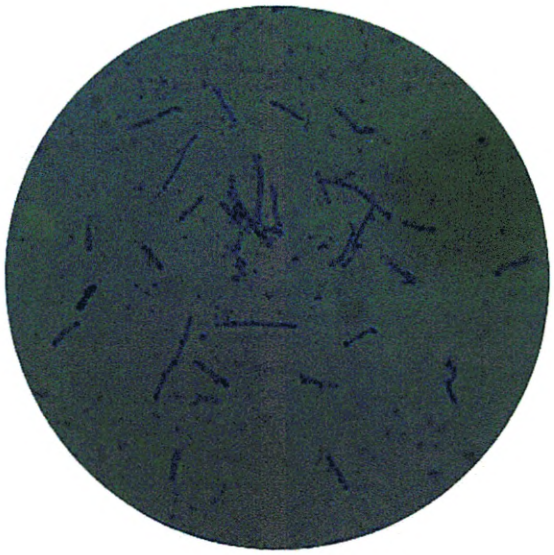


Рисунок 51 – **Микропрепарат культуры *Clostridium sporogenes* штамм 532.** Увеличение 1500^x. Окраска метиленовым голубым

Плесневые грибы

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- технически вредные микроорганизмы;
- основной источник – воздух, корма, оборудование, упаковочные материалы, рассол;
- могут стать причиной поверхностного плесневения, горечи, прогорклости, снижения хранимоспособности.

Основные характеристики

Эукариотические микроскопические многоклеточные организмы, образующие мицелий. Аэробы, ксерофилы, ацидофилы.

Температурные характеристики:

- оптимальная температура роста 20…35 °С;
- минимальная температура роста - 5…+5 °С.

Споры могут выдерживать температуру пастеризации.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах образуют крупные поверхностные колонии, покрытые пушистым мицелием разной окраски (белой, желтой, розовой, зеленой и т.д). Споры круглые, овальные, палочковидные. Гифы крупные, разветвленные с перегородками или без них.

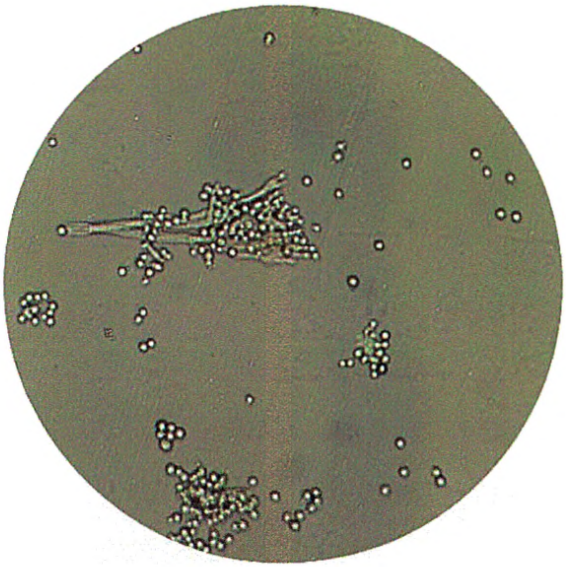


Рисунок 52 – **Микропрепарат чистой культуры *Penicillium roqueforti.*** Препарат «раздавленная капля». Увеличение 150^{x}.



Рисунок 53 – **Микропрепарат чистой культуры *Penicillium roqueforti.*** Фиксированный препарат. Окраска метиленовым голубым. Увеличение 1500^{x}

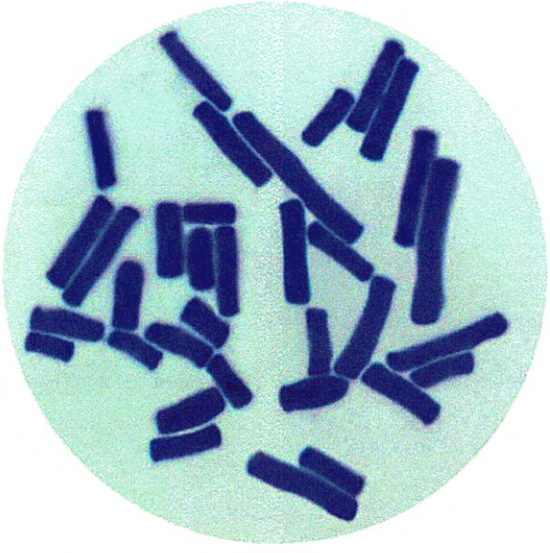


Рисунок 54 – **Микропрепарат чистой культуры *Geotrichum candidum.*** Фиксированный препарат. Окраска метиленовым голубым. Увеличение 1500^{x}

Дрожжи

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- технически вредные микроорганизмы (для всех молочных продуктов, кроме кефира, кумыса);
- основные источники – воздух, оборудование, корма;
- могут быть причиной излишнего газообразования, специфических пороков вкуса и запаха (дрожжевой).

Основные характеристики

Одноклеточные эукариотические микроскопические организмы, способные или неспособные к спорообразованию. Аэробы и факультативные анаэробы.

Температурные характеристики:

- оптимальная температура роста 25…30 °С;
- минимальная температура роста 5…12 °С.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах образуют поверхностные крупные выпуклые блестящие серовато-белые колонии сметанообразной консистенции с гладкой поверхностью и ровным краем или глубинные среднего размера колонии в виде звездочек и лодочек.

Клетки круглой, овальной или продолговатой формы, размером (2,5-10)×(2,5-30) мкм, часто почкующиеся.

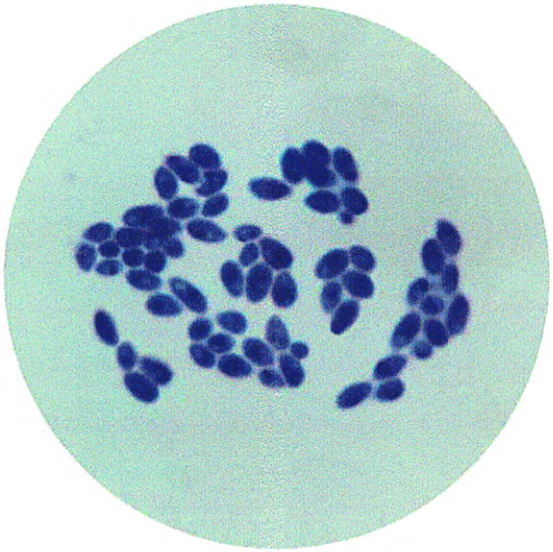


Рисунок 55 – **Микропрепарат культуры дрожжей, выделенных из рассола, использовавшегося для посолки сыра.**
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым



Рисунок 56 – **Микропрепарат культуры дрожжей, выделенных из сырого молока.** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

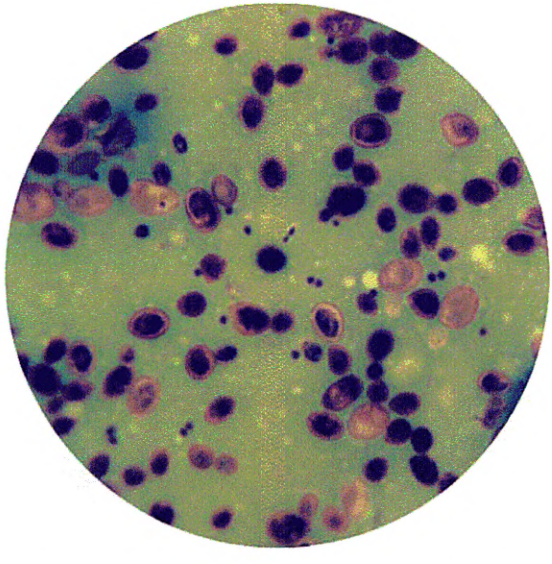


Рисунок 57 – **Микропрепарат из смыва с поверхности сыра.** Дрожжи (крупные клетки) и бактерии (мелкие клетки) в сравнении. Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Лейкоциты

Роль в молоке и молочных продуктах:

Лейкоциты – соматические клетки крови, попадающие в молоко из вымени в процессе доения.

Основной источник – маститное молоко. Признак мастита - увеличение количества соматических клеток в молоке за счет клеток крови.

Наличие в микроскопической картине лейкоцитов свидетельствует о низком качестве молока.

В ферментированных молочных продуктах, получаемых на молоке с примесью маститного, может происходить ухудшение развития заквасочной микрофлоры, появление специфических пороков вкуса и запаха, снижение хранимоспособности продуктов, связанное с ферментами, продуцируемыми соматическими клетками крови, в том числе лейкоцитами.

При микроскопировании образцов маститного молока могут быть обнаружены различные морфологические образования, чаще всего различные формы лейкоцитов.

На рисунках 57-59 приведены микропрепараты, содержащие лейкоциты, выделенные из сепараторной слизи.

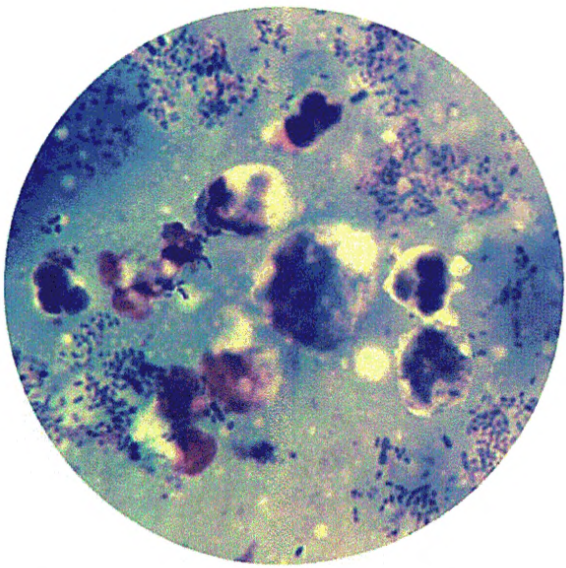


Рисунок 58 – **Микроскопическая картина сепараторной слизи.** Видны лейкоциты (крупные образования неправильной формы) и бактерии (мелкие клетки). Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

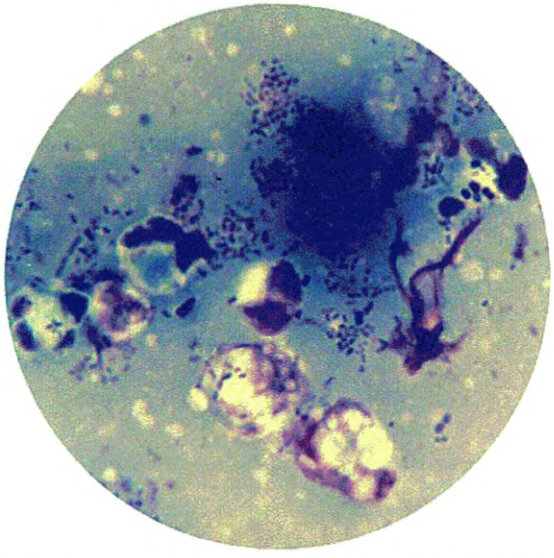


Рисунок 59 – **Микроскопическая картина сепараторной слизи.**
Видны лейкоциты (крупные образования неправильной формы), бактерии (мелкие клетки) и частицы эпителиальной ткани (в виде волокон).
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

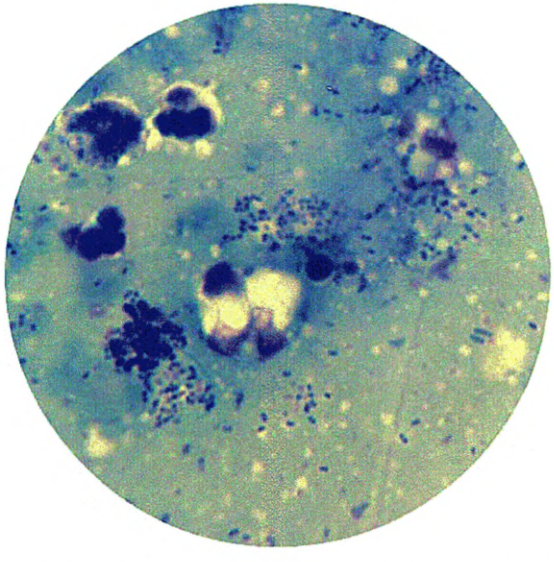


Рисунок 60 – **Микроскопическая картина сепараторной слизи.**
Видны лейкоциты (крупные образования неправильной формы), бактерии (мелкие клетки) и дрожжи (почкующаяся клетка в центре препарата).
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Lactococcus lactis subsp. lactis (молочный лактококк)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

кислотообразующий компонент молочнокислых заквасок.

Основные характеристики

Гомоферментативные факультативно-анаэробные мезофильные грамположительные кокки.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 8…42 °С;
- оптимальная температура роста 28…32 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 100...130 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют поверхностные колонии – мелкие, гладкие, светлые, круглые с ровным краем, и глубинные – лодочкообразной формы с ровным краем.
Микропрепарат – кокки овальной формы, одиночные - размером (0,5-0,9)×(0,5-1,2) мкм, диклококки, цепочки не более 4 клеток.

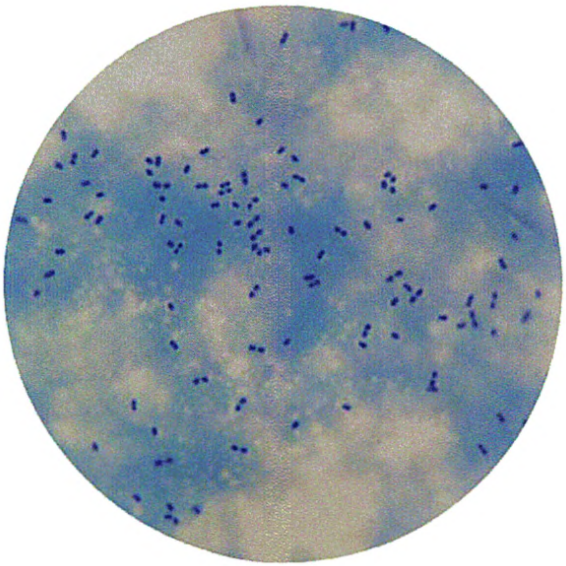


Рисунок 61 – **Микропрепарат чистой культуры *Lc. lactis subsp. lactis.***
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Lactococcus lactis subsp. diacetilactis (диацетильный лактококк)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

газо-, ароматообразующий компонент молочнокислых заквасок, преобразующий цитраты в диацетил и ацетоин.

Основные характеристики

Гомоферментативные факультативно-анаэробные мезофильные грамположительные кокки.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 8...42 °С;
- оптимальная температура роста 28...32 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 70...125 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют поверхностные колонии – мелкие (более крупные, чем Lc. lactis subsp. lactis), гладкие, светлые, каплевидные с ровным краем, и глубинные – лодочкообразной формы с ровным краем.

Микропрепарат – кокки правильной формы, одиночные – размером (0,5-1,0) мкм, диплококки, цепочки по 3-6 клеток.

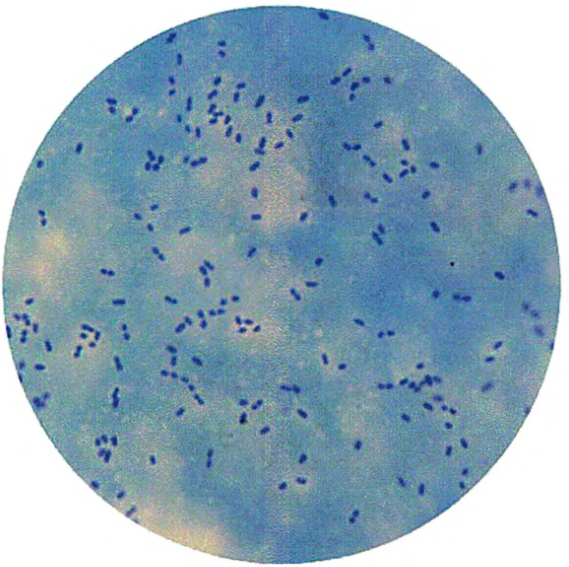


Рисунок 62 – **Микропрепарат чистой культуры *Lc. lactis subsp. diacetilactis.*** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Lactococcus lactis subsp. cremoris (сливочный лактококк)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

кислотообразующий компонент молочнокислых заквасок, способный образовывать диацетил и ацетоин.

Основные характеристики

Гомоферментативные факультативно-анаэробные мезофильные грамположительные кокки.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 8...40 °С;
- оптимальная температура роста 22...30 °С.

Предельная кислотность достигаемая в молоке: 100...115 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют поверхностные колонии – мелкие, гладкие, светлые, круглые с ровным краем, и глубинные – лодочкообразной формы с ровным краем.
Микропрепарат – кокки правильной формы, размером (0,5-1,0) мкм, группирующиеся в виде цепочек различной длины.



Рисунок 63 – **Микропрепарат чистой культуры *Lc. lactis subsp. cremoris* штамм 2296.** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

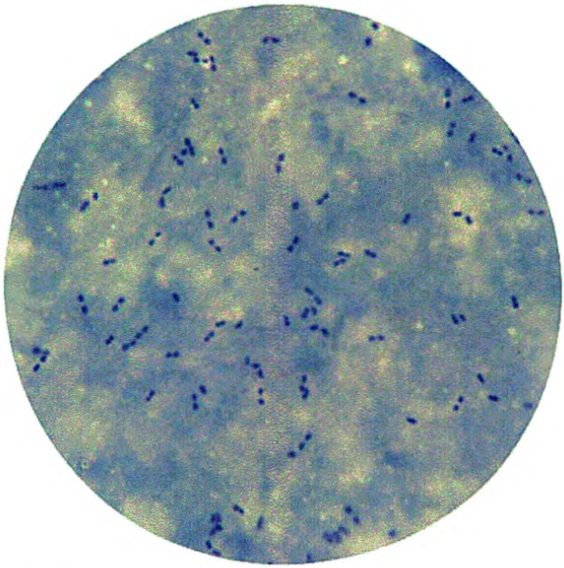


Рисунок 64 – **Микропрепарат чистой культуры *Lc. lactis subsp. cremoris* штамм 37414.** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым



Рисунок 65 – **Микропрепарат чистой культуры *Lc. lactis subsp. cremoris* штамм 3673.** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Leuconoctoc sp. (лейконостоки)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

газо-, ароматообразующий компонент молочнокислых заквасок.

Основные характеристики

Гетероферментативные факультативно-анаэробные мезофильные грамположительные кокки.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 8…39 °С;
- оптимальная температура роста 20…30 °С.

Предельная кислотность достигаемая в молоке: 40...80 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют поверхностные колонии – мелкие, гладкие, сероватые, каплевидные с ровным краем и глубинные – лодочкообразной формы с ровным краем.
Микропрепарат – кокки сферической, яйцевидной, удлиненной формы, размером (0,5-0,7)×(0,7-1,6) мкм, в парах и цепочках.

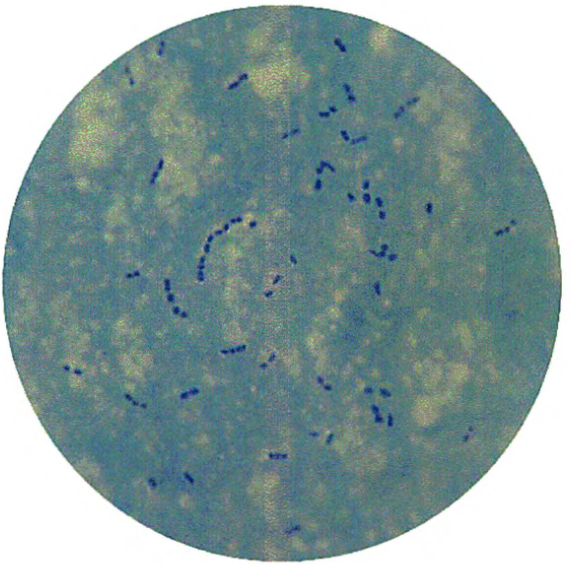


Рисунок 66 – **Микропрепарат чистой культуры *Leuconoctoc sp.***
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Streptococcus salivarius subsp. thermophilus (термофильный стрептококк)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

кислотообразующий компонент молочнокислых заквасок, способный к развитию и кислотообразованию при температурах свыше 50 °С.

Основные характеристики

Гомоферментативные факультативно-анаэробные термофильные грамположительные кокки.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 15…55 °С;
- оптимальная температура роста 40…46 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 110...120 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют поверхностные и глубинные колонии – мелкие, темные, зернистые.
Кокки круглой, овальной, сферической формы (0,5-0,7)×(0,7-1,0) мкм - одиночные, парные, цепочки различной длины (бусы).

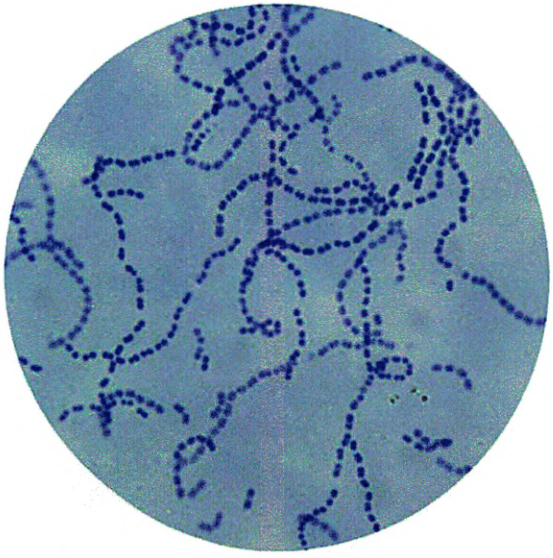


Рисунок 67 – **Микропрепарат чистой культуры *Str. salivarius subsp. thermophilus.*** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Lactobacillus casei (сырная палочка)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

кислотообразующий и протеолитически активный компонент молочнокислых заквасок.

Основные характеристики

Мезофильные, гомоферментативные, факультативно-анаэробные грамположительные неспорообразующие палочки правильной формы.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 10…45 °С;
- оптимальная температура роста 30…32 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 100...120 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют мелкие (точечные) колонии: поверхностные – круглые, беловатые; глубинные – лодочкообразные, иногда с выростом.
На плотных питательных средах специального назначения (Рогоза, MRS) образуют колонии среднего размера белого цвета круглые и в виде лодочек.
Палочки правильной формы с закругленными концами (0,5-1,2)×(1,0-10,0) мкм. Одиночные, парные, в цепочках.

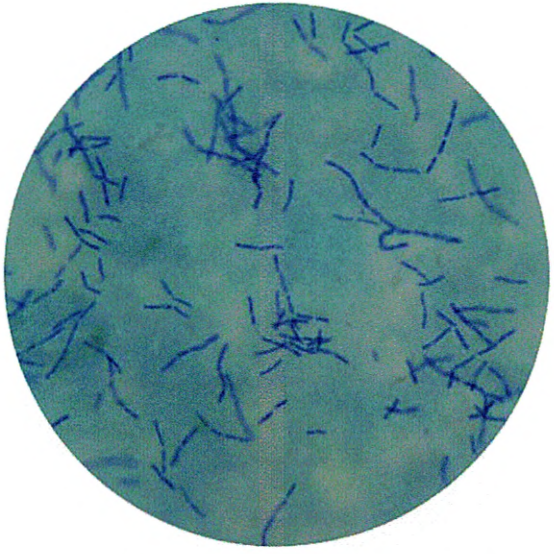


Рисунок 68 – **Микропрепарат чистой культуры *Lbc. casei*.**
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Lactobacillus plantarum

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- кислотообразующий компонент молочнокислых заквасок;
- антагонисты технически вредной микрофлоры.

Основные характеристики

Мезофильные, гомоферментативные, факультативно-анаэробные грамположительные неспорообразующие палочки правильной формы.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 10…45 °С;
- оптимальная температура роста 30…32 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 100...120 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют мелкие (точечные) колонии: поверхностные – круглые, беловатые; глубинные – лодочкообразные.

На плотных питательных средах специального назначения (Рогоза, MRS) образуют колонии среднего размера белого цвета круглые и в виде лодочек.

Палочки правильной формы с закругленными концами (0,5-1,2) ×(1,0-10,0) мкм. В благоприятных условиях кокковидные клетки. Одиночные, парные, в цепочках.

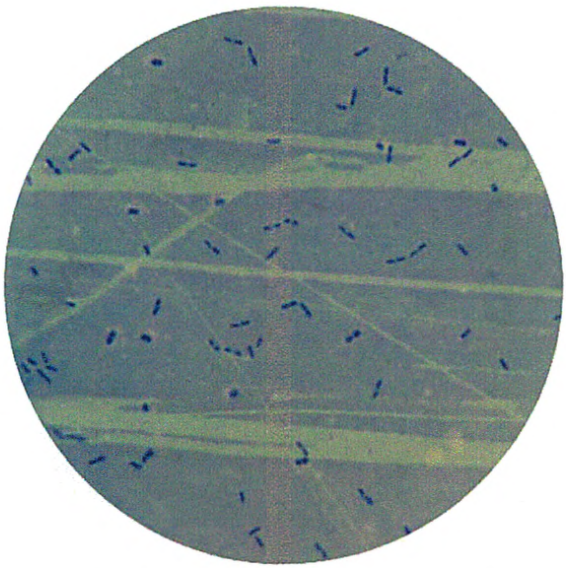


Рисунок 69 – **Микропрепарат чистой культуры *Lbc. plantarum.***
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Lactobacillus acidophilus (ацидофильная палочка)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- сильный кислотообразователь, антагонист патогенной и технически вредной микрофлоры;
- компонент пробиотических заквасок.

Основные характеристики

Термофильные, гомоферментативные, факультативно-анаэробные грамположительные неспорообразующие палочки правильной формы.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 20…55 °С;
- оптимальная температура роста 37…45 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 180...300 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют поверхностные колонии – мелкие или средние, круглые, беловатые, и глубинные – мелкие в виде «паучков».
Крупные прямые палочки (0,6-1,5)×(3,0-40,0) мкм – одиночные, парные или короткие цепочки.

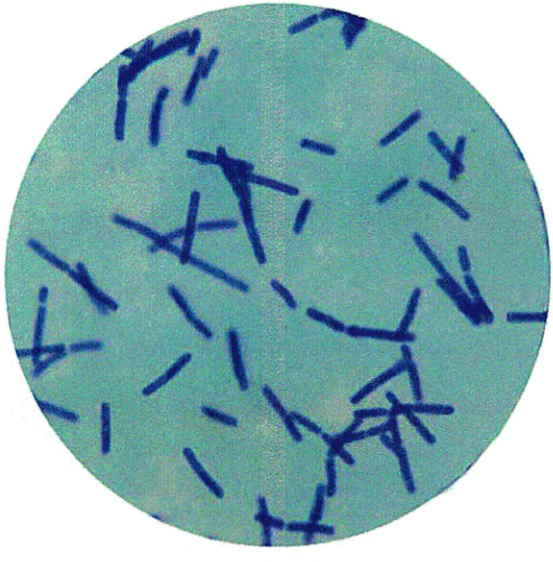


Рисунок 70 – **Микропрепарат чистой культуры *Lbc. acidophilus.***
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Lactobacillus helveticus

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

сильный кислотообразующий компонент молочнокислых заквасок, способный к развитию и кислотообразованию при температурах свыше 50 °С.

Основные характеристики

Термофильные, гомоферментативные, факультативно-анаэробные грамположительные неспорообразующие палочки правильной формы.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 15…52 °С;
- оптимальная температура роста 40…44 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 160...280 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют поверхностные колонии – мелкие, гладкие, сероватые, и глубинные – мелкие в виде кусочков ваты.

Прямые или слегка изогнутые на одном конце палочки с закругленными концами (0,5-0,9)×(2,0-6,0) мкм – одиночные или короткие цепочки.

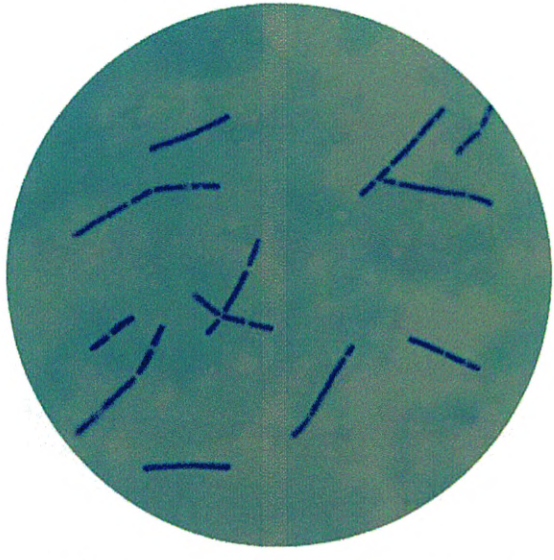


Рисунок 71 – **Микропрепарат чистой культуры *Lbc. helveticus.*** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis (молочная палочка)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

сильный кислотообразующий компонент молочнокислых заквасок, способный к развитию и кислотообразованию при температурах свыше 50 °С.

Основные характеристики

Термофильные, гомоферментативные, факультативно-анаэробные грамположительные неспорообразующие палочки правильной формы.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 15…52 °С;
- оптимальная температура роста 40…44 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 120...220 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют мелкие, гладкие, светлые колонии.
Крупные палочки с закругленными концами (0,5-1,2)×(2,0-9,0) мкм - одиночные, парные, цепочки виде длинных нитей, часто зернистые.



Рисунок 72 – **Микропрепарат чистой культуры *Lbc. delbrueckii subsp. lactis.*** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus (болгарская палочка)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

сильный кислотообразующий компонент молочнокислых заквасок, способный к развитию и кислотообразованию при температурах свыше 50 °С.

Основные характеристики

Термофильные, гомоферментативные, факультативно-анаэробные грамположительные неспорообразующие палочки правильной формы.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 20…55 °С;
- оптимальная температура роста 40…45 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 200...350 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах основного характера (среда КМАФАнМ) образуют поверхностные – мелкие, волнистые, светлые колонии; глубинные – в виде кусочков ваты.

Крупные палочки с закругленными концами (0,8-1,5)×(2,0-20,0) мкм – одиночные, цепочки различной длины, часто зернистые.

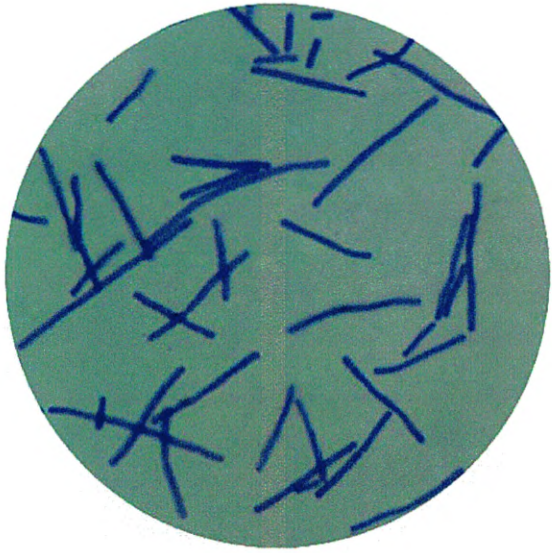


Рисунок 73 – **Микропрепарат чистой культуры *Lbc. delbrueckii subsp. bulgaricus.*** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Bifidobacterium sp. (бифидобактерии)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- антагонист патогенной микрофлоры;
- компонент пробиотических заквасок.

Основные характеристики

Мезофильные, анаэробные, грамположительные неспорообразующие палочки неправильной формы.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 20…50 °С;
- оптимальная температура роста 36…38 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 40...130 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах образуют колонии в виде «гречишных зерен» или дисков.

На полужидких питательных средах образуют колонии в виде гвоздиков, комет, веретен.

Изогнутые, булавовидные, V-образной формы, разветвленные палочки (0,5-1,3)×(1,5-8,0) мкм – одиночные, парные, иногда цепочки, часто в скоплениях.

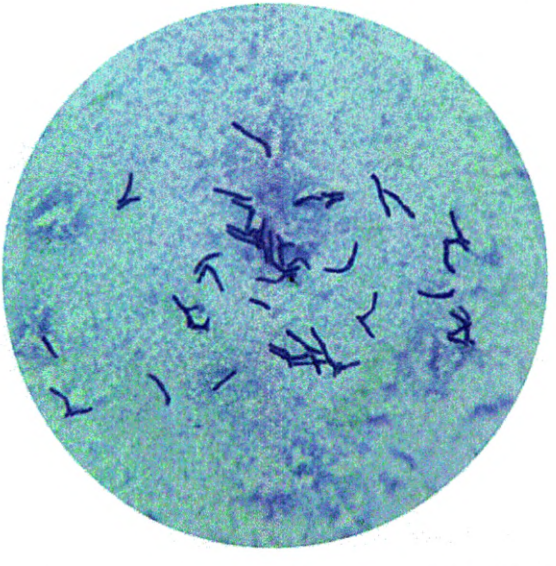


Рисунок 74 – **Микропрепарат чистой культуры *Bifidobacterium sp.***
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

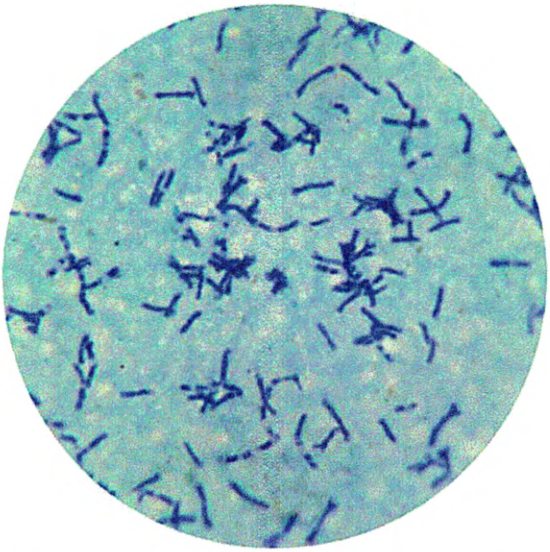


Рисунок 75 – **Микропрепарат чистой культуры *Bifidobacterium longum.*** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

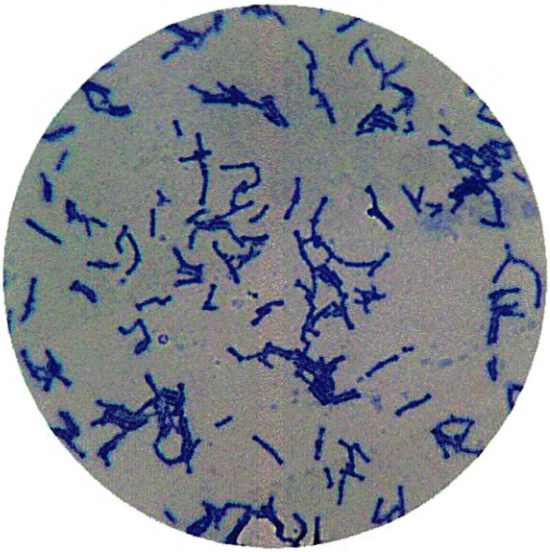


Рисунок 76 – **Микропрепарат чистой культуры *Bifidobacterium bifidum* штамм *visbi.*** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

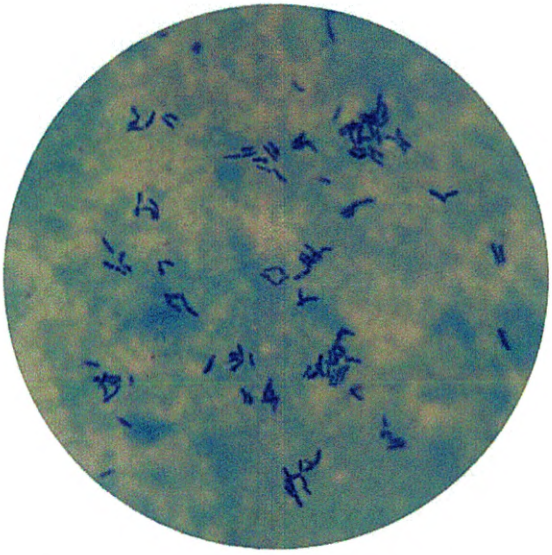


Рисунок 77 – **Микропрепарат чистой культуры *Bifidobacterium adolescentis*** (препарат приготовлен при культивированиии на полужидкой среде). Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

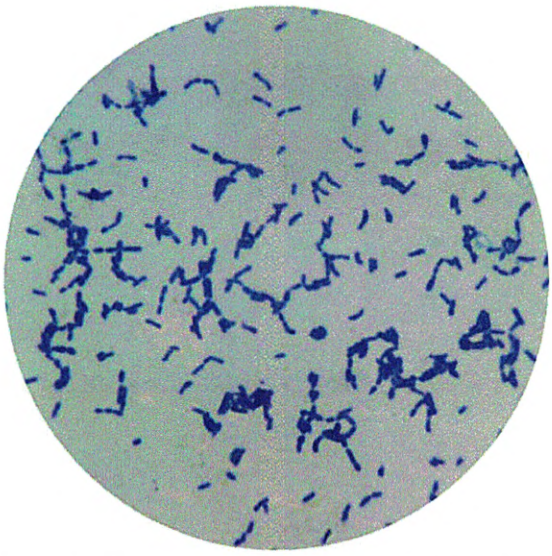


Рисунок 78 – **Микропрепарат чистой культуры *Bifidobacterium adolescentis*** (препарат приготовлен из колонии, выросшей на плотной среде). Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Propionibacterium sp. (пропионовокислые бактерии)

Роль в составе микрофлоры молока и молочных продуктов:

- газо-, ароматобразующий компонент закваски сыров с высокой температурой 2-го нагревания;
- компонент пробиотических заквасок.

Основные характеристики

Мезофильные, гетероферментативные, факультативно-анаэробные, каталазоположительные, плеоморфные, грамположительные аспорогенные палочки.

Температурные характеристики:

- интервал температуры роста 15...40 °С;
- оптимальная температура роста 22...30 °С.

Предельная кислотность, достигаемая в молоке: 80...170 °Т.

Характеристика колоний и микропрепарата:

На плотных питательных средах образуют колонии кремового цвета в виде «гречишных зерен» или дисков.

Палочки булавовидной формы, кокковидные, разветвленные (0,5-0,8)×(1,0-5,0) мкм – одиночные, парные, короткие цепочки, группы в виде «китайских иероглифов».

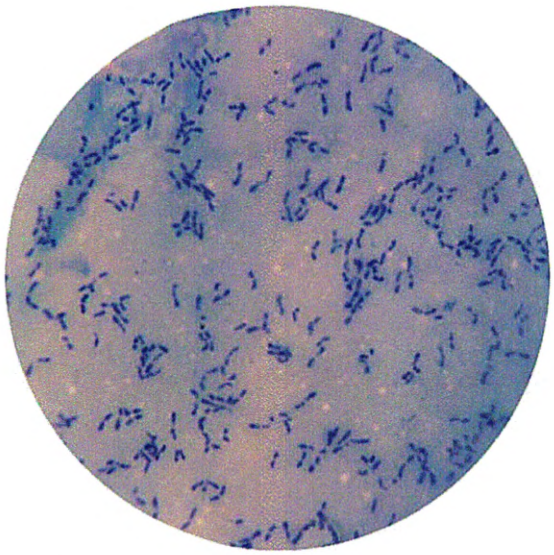


Рисунок 79 – **Микропрепарат чистой культуры *Propionibacterium sp.*** Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

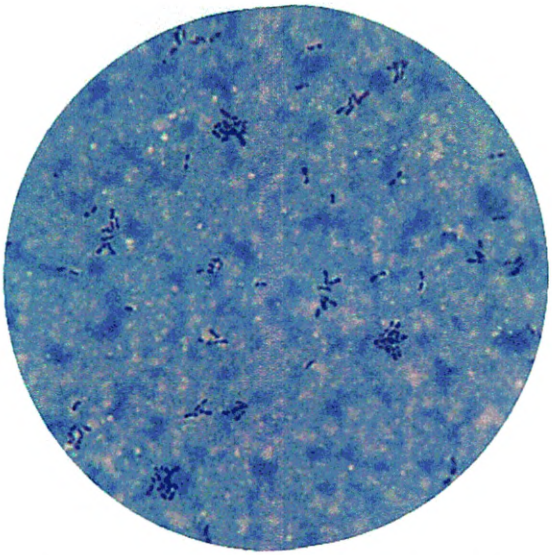


Рисунок 80 – **Микропрепарат чистой культуры *Propionibacterium sp.***
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

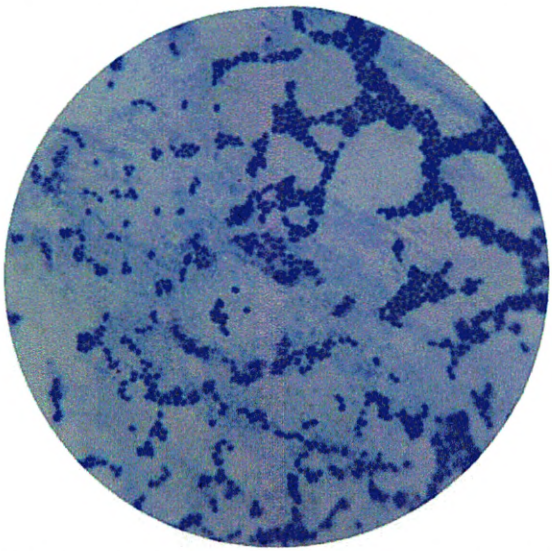


Рисунок 81 – **Микропрепарат чистой культуры *Propionibacterium shermanii***
(препарат приготовлен из колонии, выросшей на плотной среде)
Увеличение 1500^{x}. Окраска метиленовым голубым

Приложение Е

Фаговый мониторинг производства

Методы индикации бактериофагов

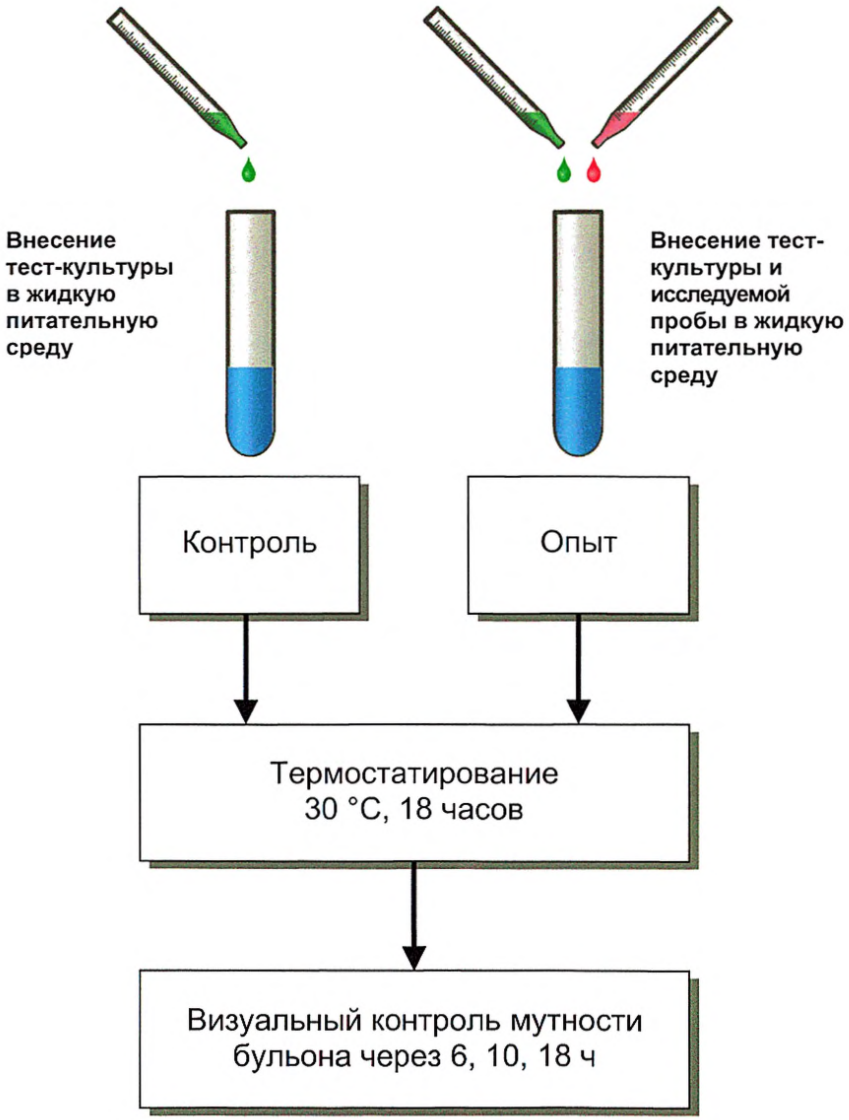


Рисунок 82 – **Схема метода индикации бактериофагов с использованием индикаторных пробирок**

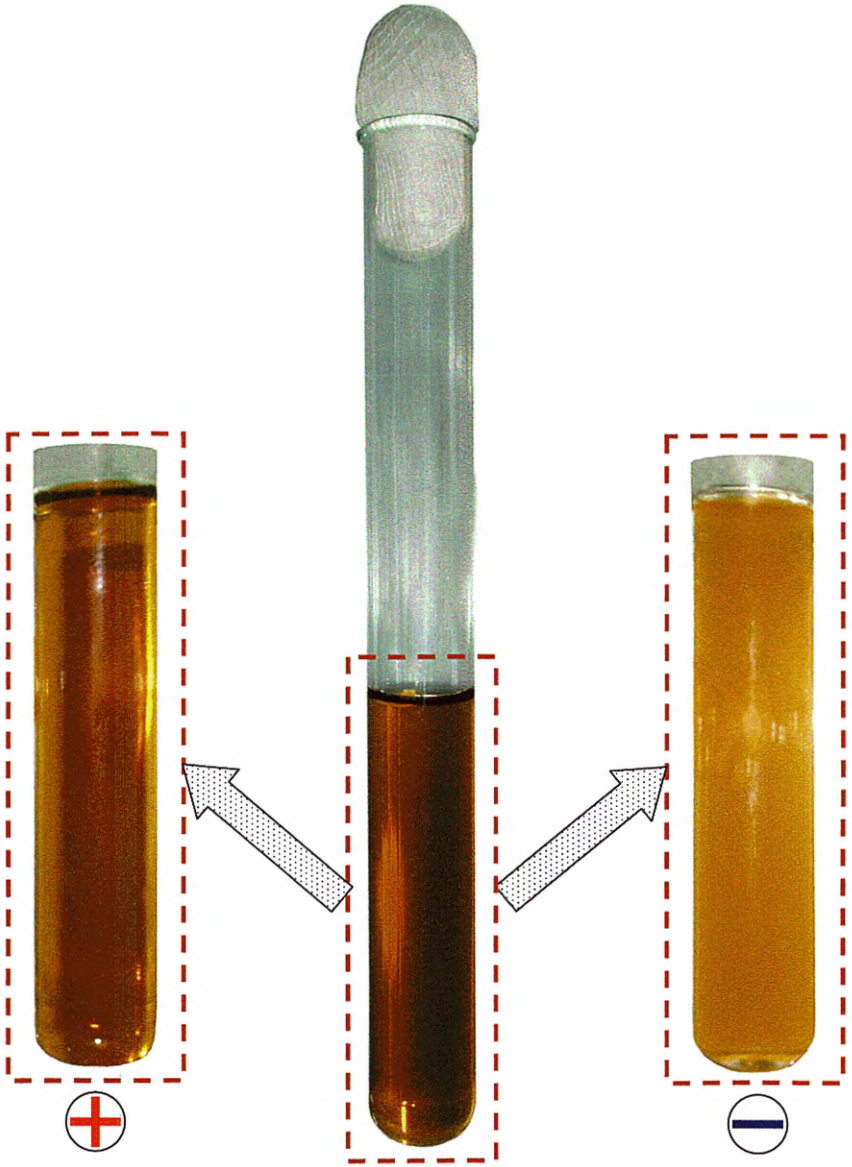
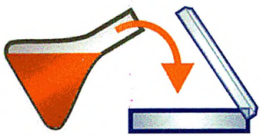
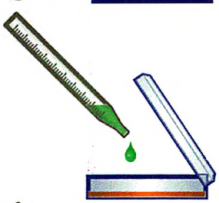


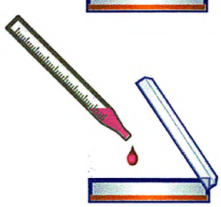
Рисунок 83 – **Индикация бактериофага с использованием индикаторных пробирок**



Розлив твердой питательной среды в чашку Петри

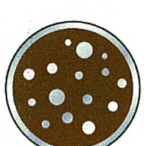


Посев тест-культуры на твердую питательную среду



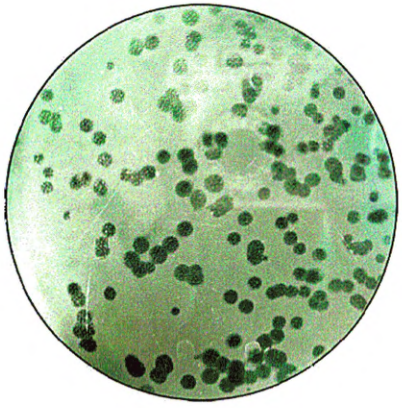
Нанесение капель пробы на газон тест культуры

Термостатирование 30 °С, 18 часов

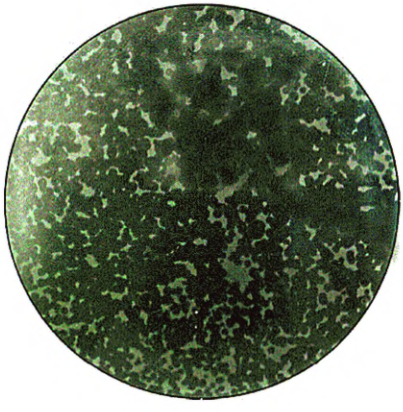


Учет
по «негативным колониям», т.е. по зонам отсутствия роста на сплошном газоне тест-культуры в результате ее фаголизиса

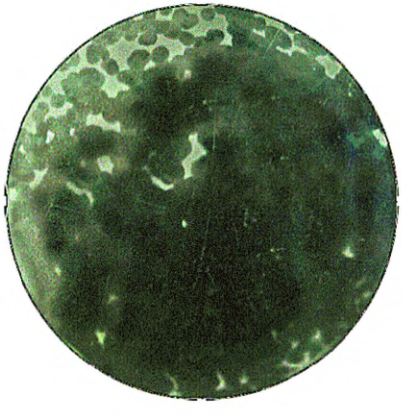
Рисунок 84 – **Схема метода индикации бактериофагов с использованием индикаторных чашек**



Отдельные негативные колонии на газоне тест-культуры (фотография)

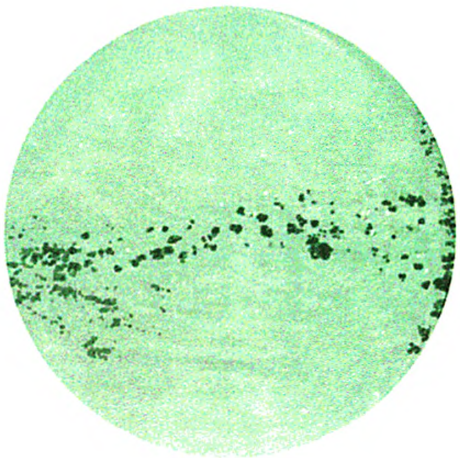


Частичный лизис тест-культуры (фотография)

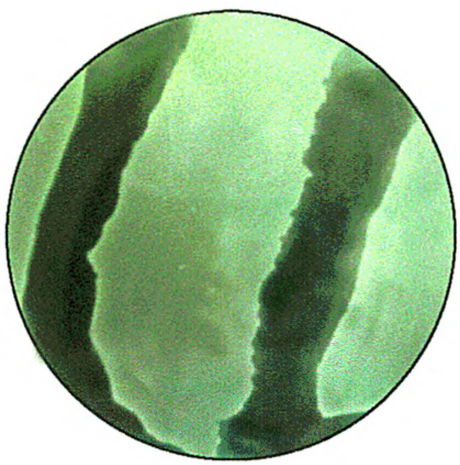


Почти полный лизис тест-культуры (фотография)

Рисунок 85 - **Визуальный контроль степени фаголизиса на индикаторных чашках**



Отдельные «негативные колонии» на газоне тест-культуры по ходу «стекающей капли»



Лизис тест-культуры по ходу «стекающей капли»



Вторичный рост культуры в зоне фаголизиса

Рисунок 86 - **Визуальный контроль степени фаголизиса на индикаторных чашках при использовании метода посева «стекающая капля»**

Приложение Ж

Журналы микробиологического контроля

Для регистрации результатов анализов при проведении микробиологического контроля на молочных предприятиях допускается ведение журналов как на бумажном, так и электронном носителях.

Формы рабочих журналов по контролю санитарно-гигиенического состояния производства, сырья, готового продукта, проводимому в условиях производственной лаборатории, представлены в данном приложении и приложении З, прилагаемом к данному документу в электронном виде.

В случае ведения рабочих журналов в электронной форме они должны:

- сохраняться в памяти компьютера;
- не реже 1 раза в месяц и/или при отгрузке партии готовой продукции с предприятия распечатываться на бумажном носителе (бумаге);
- подписываться микробиологом, проводившим анализ, и/или иным ответственным лицом (руководителем лаборатории);
- подшиваться в общую папку журналов.

Результаты анализов условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, проводимых в лицензированных на соответствующий вид деятельности лабораториях, поступают на предприятие в виде актов и так же подшиваются.

Данные, представленные в актах, могут включаться в усиленные формы журналов контроля, являющиеся внутренними документами предприятия-изготовителя и включающие результаты анализов всех нормируемых показателей микробиологической безопасности, в том числе анализы по патогенным и условно-патогенным микроорганизмам.

Усиленные формы журналов контроля санитарно-гигиенического состояния производства, сырья, готовой продукции, являются документами предприятия-изготовителя, на основании которых оформляются сопроводительные документы. Усиленные формы журналов удобно вести в электронной форме.

Усиленные формы журналов представлены в приложении З, прилагаемом к данному документу в электронном виде на диске.

РАБОЧИЕ ЖУРНАЛЫ КОНТРОЛЯ САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРОИЗВОДСТВА

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля чистоты оборудования

№ п/п	Дата отбора проб	Исследуемый объект	Исследуемая поверхность ($см^2$) или количество (ед.)	БГКП		КМАФАнМ, КОЕ/$см^3$		Плесневые грибы*, КОЕ/$см^3$	
				факт	соответствие норме (отсутствие в смывной жидкости)	факт	соответствие норме (≤100 КОЕ/$см^3$)	факт	соответствие норме
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Подпись микробиолога, выполнившего анализы									

* Нормы приведены в таблице 17.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля воздуха помещений

№ п/п	Дата отбора проб	Исследуемый объект	КМАФАнМ, КОЕ		Плесневые грибы, КОЕ		Дрожжи, КОЕ	
			факт	соответствие норме*	факт	соответствие норме*	факт	соответствие норме*
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Подпись микробиолога, выполнившего анализы								

* Нормы приведены в таблице 18.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля воды

№ п/п	Дата отбора проб	Место отбора проб	ОМЧ, КОЕ в 1 см^3				ОКБ, НВЧ в 100 см^3			ТКБ, НВЧ в 100 см^3		
			кол-во колоний на 1 чашке	кол-во колоний на 2 чашке	среднее значение	соответствие норме (не более 50 КОЕ/см^3)	засеваемый объем воды, см^3	признаки роста ОКБ	соответствие норме (отсутствие в 100 см^3)	засеваемый объем воды, см^3	признаки роста ТКБ	соответствие норме (отсутствие в 100 см^3)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Подпись микробиолога, выполнившего анализы												

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля чистоты рук рабочих

№ п/п	Дата отбора проб	Цех	Фамилия обследуемого	Выполняемая работа	Йод-крахмальная проба	БГКП		Подпись микробиолога, выполнившего анализы
						факт	соответствие норме (отсутствие в смывной жидкости)	
1	2	3	4	5	6	7	8	9

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля спецодежды работника

№ п/п	Дата отбора проб	Цех, фамилия работника	Название исследуемого объекта			Исследуемая поверхность ($см^2$)	БГКП	
			халат	«костюм пекаря»	фартук		факт	соответствие норме (отсутствие в смывной жидкости)
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Подпись микробиолога, выполнившего анализы								

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля упаковочных материалов

№ п/п	Дата отбора проб	Исследуемый объект	Исследуемая поверхность ($см^2$) или количество (ед.)	БГКП*		КМАФАнМ*, КОЕ/$см^3$		Плесневые грибы*, КОЕ/$см^3$	
				факт	соответствие норме (отсутствие в смывной жидкости)	факт	соответствие норме	факт	соответствие норме
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Подпись микробиолога, выполнившего анализы									

* Контролируемые показатели и нормы их содержания определяются видом и назначением упаковочного материала.

РАБОЧИЕ ЖУРНАЛЫ КОНТРОЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫРЬЯ

ЖУРНАЛ
контроля молока-сырья

№ п/п	Дата отбора проб	Поставщик	КМАФАнМ, КОЕ/см^3				Ингибирующие вещества, наличие (+) или отсутствие (-)	Соматические клетки, тыс./см^3
			засеваемые разведения продукта*			среднее значение		
			III	IV	V			
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Подпись микробиолога, выполнившего анализы								

* Рекомендуется засевать три последовательных разведения для получения более точного среднего значения.

Данная рекомендация относится и к последующим журналам.

ЖУРНАЛ
контроля молока-сырья для сыроделия

№ п/п	Дата отбора проб	Поставщик	КМАФАнМ, КОЕ/см^3				Редуктазная проба, класс	Ингибирующие вещества, наличие (+) или отсутствие (-)	Соматические клетки, тыс./см^3	Сычужно-бродильная проба, класс	КСЛМБ*, НВЧ/см^3			
			засеваемые разведения продукта			среднее значение					засеваемые разведения продукта			НВЧ/см^3
			III	IV	V						0	I	II	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Подпись микробиолога, выполнившего анализы														

* Количество спор лактатсбраживающих маслянокислых бактерий.

ЖУРНАЛ
контроля сливок-сырья

№ п/п	Дата отбора проб	Наименование сырья	Поставщик	Редуктазная проба, класс	КМАФАнМ, КОЕ/ $см^3$				Ингибирующие вещества, наличие (+) или отсутствие (-)
					засеваемые разведения продукта			среднее значение	
					III	IV	V		
1	2	3	4	6	7	8	9	10	11
Подпись микробиолога, выполнившего анализы									

ЖУРНАЛ
контроля пахты-сырья

№ п/п	Дата отбора проб	Наименование сырья	Поставщик	КМАФАнМ, КОЕ/$см^3$ (для сладкой пахты)				БГКП, объем продукта ($см^3$), в котором не обнаружены				
				засеваемые разведения продукта			среднее значение	засеваемые разведения продукта			объем продукта ($см^3$), в котором не обнаружены	соответствие норме (отсутствие в 0,01 $см^3$)
				III	IV	V		0	I	II		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Подпись микробиолога, выполнившего анализы												

ЖУРНАЛ
контроля сыворотки-сырья для производства напитков

№ п/п	Дата отбора проб	Наименование сырья	Поставщик	Количество сырья, кг/дм^3	БГКП, объем продукта (см^3), в котором не обнаружены				
					засеваемые разведения продукта			объем продукта (см^3), в котором не обнаружены	соответствие норме (отсутствие в 0,01 см^3)
					0	I	II		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Подпись микробиолога, выполнившего анализы									

ЖУРНАЛ
контроля сыворотки-сырья для производства других продуктов

№ п/п	Дата отбора проб	Наименование сырья	Поставщик	Количество сырья, кг/ дм^3	БГКП, объем продукта (см^3), в котором не обнаружены				
					засеваемые разведения продукта			объем продукта (см^3), в котором не обнаружены	соответствие норме (отсутствие в 0,001 см^3)
					I	II	III		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Подпись микробиолога, выполнившего анализы									

ЖУРНАЛ
контроля вспомогательного сырья (компонентов, ингредиентов)

№ п/п	Наименование вспомогательного сырья	Дата поступления	Дата отбора проб	КМАФАнМ*, КОЕ/г (см^3)	БГКП*, масса продукта (г, см^3), в которой не обнаружены	Плесневые грибы*, КОЕ/г (см^3)	Дрожжи*, КОЕ/г (см^3)	Прочие микроорганизмы, подлежащие нормированию в конкретном компоненте	Подпись микробиолога
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

* Данные показатели могут быть не нормируемыми для конкретных видов вспомогательного сырья, но являются наиболее значимыми как санитарно-показательные и технически вредные микроорганизмы для молочных продуктов, поэтому их рекомендуется контролировать в первую очередь.

РАБОЧИЕ ЖУРНАЛЫ КОНТРОЛЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПАСТЕРИЗАЦИИ

ЖУРНАЛ
определения эффективности пастеризации: молоко, сливки, пахта, сыворотка

№ п/п	Дата отбора проб	№ партии (резервуара), объем партии	Наименование продукта	БГКП, объем ($см^3$), в котором не обнаружены			Подпись микробиолога, выполнившего анализ
				засеваемый объем продукта	результат	соответствие норме (отсутствие в 10 $см^3$)	
1	2	3	4	5	6	7	8

РАБОЧИЕ ЖУРНАЛЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ГОТОВЫХ ПРОДУКТОВ

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля молока, сливок пастеризованных

№ п/п	Дата отбора проб	№ партии, объем партии	Наименование продукта	КМАФАнМ, КОЕ/см^3					БГКП, объем продукта (см^3), в котором не обнаружены				
				засеваемые разведения продукта			среднее значение	соответствие норме*	засеваемые разведения продукта			объем продукта (см^3), в котором не обнаружены	соответствие норме*
				II	III	IV			0	I	II		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Подпись микробиолога, выполнившего анализы													

* Нормы для молока /сливок пастеризованных приведены в таблице А.1.

ЖУРНАЛ
по приготовлению и контролю активизированного бактериального концентрата

Дата приготовления активизированного концентрата	Дата выработки концентрата и номер партии	Наименование концентрата	Режим пастеризации или стерилизации молока		Режим активизации концентрата		Прирост титруемой кислотности, °Т	Микроскопический препарат	Подпись микробиолога	Примечание
			температура, °С	продолжительность, мин	температура, °С	продолжительность, ч				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

ЖУРНАЛ
по приготовлению и контролю производственной закваски

Дата приготовления закваски	Дата выработки концентрата и номер партии	Наименование концентрата	Режим пастеризации молока		Температура активизации и сквашивания, °С	Продолжительность, ч	
			температура, °С	продолжительность, мин		активизации	сквашивания
1	2	3	4	5	6	7	8

Органолептическая оценка закваски	Титруемая кислотность, °Т		Наличие углекислого газа (высота поднятия сгустка, см)	Наличие ацетоина + диацетила (время появления окрашивания, мин)	БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены	Микроскопический препарат	Подпись микробиолога	Примечание
	активизированного концентрата	закваски						
9	10	11	12	13	14	15	16	17

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля жидких ферментированных продуктов из молока, сливок

№ п/п	Дата отбора пробы	№ партии	Кол-во молочнокислых микроорганизмов, КОЕ/см^3			Кол-во бифидобактерий, КОЕ/см^3			БГКП, объем продукта (см^3), в котором не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/см^3			Дрожжи, КОЕ/см^3		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	объем продукта (см^3), в котором не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			VI			IV			0			0			0		
			VII			V			I			I			I		
			VIII			VI			II			I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Подпись микробиолога, выполнившего анализы																	

* Нормы для жидких ферментированных продуктов из молока, сливок приведены в таблице А.3.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля сгущенных продуктов из молока, сливок

№ п/п	Дата отбора проб	№ партии	Наименование продукта	КМАФАнМ, КОЕ/г					БГКП, *масса продукта (г), в которой* не обнаружены		
				засеваемые разведения продукта			среднее значение	соответствие норме*	засеваемые разведения продукта	масса продукта (г), в которой не обнаружены	соответствие норме*
				II	III	IV			0		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Подпись микробиолога, выполнившего анализы											

* Нормы для сгущенных продуктов из молока, сливок приведены в таблице А.4.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля сухих продуктов из молока, сливок

№ п/п	Дата отбора пробы	№ партии	КМАФАнМ, КОЕ/г			БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/г			Дрожжи, КОЕ/г		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	масса продукта (г), в которой не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			II			I			I			I		
			III											
			IV						I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Подпись микробиолога, выполнившего анализы														

* Нормы для сухих продуктов из молока, сливок приведены в таблице А.5.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля творога, творожной массы, творожных продуктов, продуктов на их основе

№ п/п	Дата отбора пробы	№ партии	Кол-во молочнокислых микроорганизмов, КОЕ/г			БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/г			Дрожжи, КОЕ/г		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	масса продукта (г), в которой не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			IV			I			I			I		
			V			II								
			VI			III			I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Подпись микробиолога, выполнившего анализы														

* Нормы для творога, творожной массы, творожных продуктов, продуктов на их основе приведены в таблице А.7.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля сметаны

№ п/п	Дата отбора пробы	№ партии	Кол-во молочнокислых микроорганизмов, КОЕ/см^3			БГКП, объем продукта (см^3), в котором не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/см^3			Дрожжи, КОЕ/см^3		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	объем продукта (см^3), в котором не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			V			I			0			0		
			VI						I			I		
			VII			II			I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Подпись микробиолога, выполнившего анализы														

* Нормы для сметаны приведены в таблице А.9.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля термизированных сметанных продуктов

№ п/п	Дата отбора пробы	№ партии	БГКП, объем продукта ($см^3$), в котором не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/$см^3$			Дрожжи, КОЕ/$см^3$		
			засеваемые разведения	наличие признаков роста	объем продукта ($см^3$), в котором не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			I			0			0		
			II			I			I		
			III			I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Подпись микробиолога, выполнившего анализы											

* Нормы для термизированных сметанных продуктов приведены в таблице А.9.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля сыров и сырных продуктов

№ п/п	Дата отбора проб	№ партии	Наименование продукта	БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены				
				засеваемые разведения продукта			масса продукта (г), в которой не обнаружены	соответствие норме (отсутствие в 0,001 г)
				I	II	III		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Подпись микробиолога, выполнившего анализы								

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля плавленых сыров и плавленых сырных продуктов

№ п/п	Дата отбора пробы	№ партии	КМАФАнМ, КОЕ/г			БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/г			Дрожжи, КОЕ/г		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	масса продукта (г), в которой не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			I			I			I			I		
			II											
			III						I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Подпись микробиолога, выполнившего анализы														

* Нормы для плавленых сыров и плавленых сырных продуктов приведены в таблице А.15.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля сливочного масла и масляной пасты из коровьего молока

№ п/п	Дата отбора пробы	Наименование продукта, № партии	КМАФАнМ, КОЕ/г			БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/г			Дрожжи, КОЕ/г		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	масса продукта (г), в которой не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение
			II			0			0			0		
			III			I			I			I		
			IV			II			I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Подпись микробиолога, выполнившего анализы														

* Нормы для сливочного масла и масляной пасты из коровьего молока приведены в таблице А.12.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля спредов

№ п/п	Дата отбора пробы	Наименование продукта, № партии	КМАФАнМ, КОЕ/г			БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/г			Дрожжи, КОЕ/г		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	масса продукта (г), в которой не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			II			0			0			0		
			III			I			I			I		
			IV			II			II			II		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Подпись микробиолога, выполнившего анализы														

* Нормы для спредов приведены в таблице А.13.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля молочного жира, топленого масла и смесей топленых

№ п/п	Дата отбора пробы	Наименование продукта, № партии	КМАФАнМ, КОЕ/г			БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/г		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	масса продукта (г), в которой не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			I			0			0		
			II						I		
			III						II		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Подпись микробиолога, выполнившего анализы											

* Нормы для молочного жира, топленого масла и смесей топленых приведены в таблице А.14.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля пахты пастеризованной

№ п/п	Дата отбора проб	№ партии	Наименование продукта	КМАФАнМ, КОЕ/см^3					БГКП, объем продукта (см^3), в котором не обнаружены				
				засеваемые разведения продукта			среднее значение	соответствие норме*	засеваемые разведения продукта			объем продукта (см^3), в котором не обнаружены	соответствие норме*
				II	III	IV			0	I	II		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Подпись микробиолога, выполнившего анализы													

* Нормы для пахты приведены в таблице А.1.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля жидких ферментированных продуктов из пахты

№ п/п	Дата отбора пробы	№ партии	Кол-во молочнокислых микроорганизмов, КОЕ/см^3			Кол-во бифидобактерий, КОЕ/см^3			БГКП, объем продукта (см^3), в котором не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/см^3			Дрожжи, КОЕ/см^3		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	объем продукта (см^3), в котором не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			VI			IV			0			0			0		
			VII			V			I			I			I		
			VIII			VI			II			I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Подпись микробиолога, выполнившего анализы																	

* Нормы для жидких ферментированных продуктов из пахты приведены в таблице А.3.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля сгущенных продуктов из пахты

№ п/п	Дата отбора проб	№ партии	Наименование продукта	КМАФАнМ, КОЕ/г					БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены		
				засеваемые разведения продукта			среднее значение	соответствие норме*	засеваемые разведения продукта	масса продукта (г), в которой не обнаружены	соответствие норме*
				II	III	IV			0		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Подпись микробиолога, выполнившего анализы											

* Нормы для сгущенных продуктов из пахты приведены в таблице А.4.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля сухих продуктов из пахты

№ п/п	Дата отбора пробы	№ партии	КМАФАнМ, КОЕ/г			БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/г			Дрожжи, КОЕ/г		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	масса продукта (г), в которой не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			II			I			I			I		
			III											
			IV						I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Подпись микробиолога, выполнившего анализы														

* Нормы для сухих продуктов из пахты приведены в таблице А.5.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля сыворотки молочной пастеризованной

№ п/п	Дата отбора проб	№ партии	Наименование продукта	КМАФАнМ, КОЕ/см^3					БГКП, объем продукта (см^3), в котором не обнаружены				
				засеваемые разведения продукта			среднее значение	соответствие норме*	засеваемые разведения продукта			объем продукта (см^3), в котором не обнаружены	соответствие норме*
				II	III	IV			0	I	II		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Подпись микробиолога, выполнившего анализы													

* Нормы для сыворотки молочной пастеризованной приведены в таблице А.1.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля жидких ферментированных продуктов из сыворотки

№ п/п	Дата отбора пробы	№ партии	Кол-во молочнокислых микроорганизмов, КОЕ/см^3			Кол-во бифидобактерий КОЕ/см^3			БГКП, объем продукта (см^3), в котором не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/см^3			Дрожжи, КОЕ/см^3		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний	среднее значение*	засеваемые разведения	наличие признаков роста	объем продукта (см^3), в котором не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			VI			IV			0			0			0		
			VII			V			I			I			I		
			VIII			VI			II			I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Подпись микробиолога, выполнившего анализы																	

* Нормы для жидких ферментированных продуктов из сыворотки приведены в таблице А.3.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля сгущенных продуктов из сыворотки

№ п/п	Дата отбора проб	№ партии	Наименование продукта	КМАФАнМ, КОЕ/г					БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены		
				засеваемые разведения продукта			среднее значение	соответствие норме*	засеваемые разведения продукта	масса продукта (г), в которой не обнаружены	соответствие норме*
				II	III	IV			0		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Подпись микробиолога, выполнившего анализы											

* Нормы для сгущенных продуктов из сыворотки приведены в таблице А.4.

ЖУРНАЛ
микробиологического контроля сухих продуктов из сыворотки

№ п/п	Дата отбора пробы	№ партии	КМАФАнМ, КОЕ/г			БГКП, масса продукта (г), в которой не обнаружены			Плесневые грибы, КОЕ/г			Дрожжи, КОЕ/г		
			засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения продукта	наличие признаков роста	масса продукта (г), в которой не обнаружены*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*	засеваемые разведения	количество колоний на чашке	среднее значение*
			II			I			I			I		
			III											
			IV						I			I		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Подпись микробиолога, выполнившего анализы														

* Нормы для сухих продуктов из сыворотки приведены в таблице А.5.

ЖУРНАЛ
контроля питательных сред

№ п/п	Наименование питательной среды	Сухая питательная среда		Дата приготовления среды	pH приготовленной среды*		Контроль на стерильность	Контроль ростовых показателей		Заключение о пригодности	Подпись исполнителя
		дата выпуска, номер партии	срок хранения		требуемый	фактический		предыдущая партия	данная партия		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

* При необходимости.

gost.e-ecolog.ru