МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ МОЛОЧНЫЕ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Метод определения количества дрожжей и плесневых грибов

Издание официальное

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ
ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
Минск

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН МТК 335, Научно-исследовательским институтом детского питания (НИИДП) и Институтом питания РАМН

ВНЕСЕН Госстандартом России

2 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 18—2000 от 18 октября 2000 г.)

За принятие проголосовали:

Наименование государства	Наименование национального органа по стандартизации
Азербайджанская Республика	Азгосстандарт
Республика Армения	Армгосстандарт
Республика Беларусь	Госстандарт Республики Беларусь
Грузия	Грузстандарт
Кыргызская Республика	Кыргызстандарт
Республика Молдова	Молдовастандарт
Российская Федерация	Госстандарт России
Республика Таджикистан	Таджикгосстандарт
Туркменистан	Главгосинспекция «Туркменстандартлары»
Республика Узбекистан	Узгосстандарт
Украина	Госстандарт Украины

3 Постановлением Государственного комитета Российской Федерации по стандартизации и метрологии от 30 января 2001 г. № 40-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 30706—2000 введен в действие непосредственно в качестве государственного стандарта Российской Федерации с 1 февраля 2002 г.

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Январь 2008 г.

© ИПК Издательство стандартов, 2001
© Стандартинформ, 2008

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания на территории Российской Федерации без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

к ГОСТ 30706—2000 Продукты молочные для детского питания. Метод определения количества дрожжей и плесневых грибов

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

(ИУС № 7 2001 г.)

Поправка к ГОСТ 30706—2000 Продукты молочные для детского питания. Метод определения количества дрожжей и плесневых грибов (Переиздание. Январь 2008 г.)

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

(ИУС № 12 2008 г.)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ МОЛОЧНЫЕ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Метод определения количества дрожжей и плесневых грибов

Infant milk products.
Method for determination of yeasts and moulds quantity

Дата введения 2002—02—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молочные продукты для детского питания и устанавливает метод определения количества дрожжей и плесневых грибов.

Метод основан на подсчете количества колоний дрожжей и плесневых грибов, вырастающих на плотных питательных средах с антибиотиками при (24±1) °С в течение 120 ч.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 490—79 Кислота молочная пищевая. Технические условия

ГОСТ 1341—97 Пергамент растительный. Технические условия

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

ГОСТ 3145—84 Часы механические с сигнальным устройством. Общие технические условия

ГОСТ 3652—69 Кислота лимонная моногидрат и безводная. Технические условия

ГОСТ 4198—75 Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4233—77 Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5556—81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 5833—75 Сахароза. Технические условия

ГОСТ 5962—67* Спирт этиловый ректификованный. Технические условия

ГОСТ 6038—79 D-глюкоза. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

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

ГОСТ 9245—79 Потенциометры постоянного тока измерительные. Общие технические условия

ГОСТ 9412—93 Марля медицинская. Общие технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

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

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

ГОСТ 16317—87 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 17206—96 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 17308—88 Шпагаты. Технические условия

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000.

Издание официальное

ГОСТ 18481—81 Ареометры и цилиндры стеклянные. Технические условия

ГОСТ 19569—89 Стерилизаторы паровые медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

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

ГОСТ 19908—90 Тигли, чаши, стаканы, колбы, воронки, пробирки и наконечники из прозрачного кварцевого стекла. Общие технические условия

ГОСТ 21239—93 Инструменты хирургические. Ножницы. Общие требования и методы испытаний

ГОСТ 21240—89 Скальпели и ножи медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 23932—90 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 24104—88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия

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

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

ГОСТ 26669—85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов

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

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

ГОСТ 29227—91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

3 Средства измерений, лабораторное оборудование, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

Анализатор потенциометрический класса точности 1,5 диапазоном измерения от 3,5 до 8,0 pH по ГОСТ 19881.

Аппарат универсальный типа АВУ-6С для встряхивания жидкостей в колбах и пробирках [1] (шуттель-аппарат).

Ареометр-сахарометр диапазоном измерения от 0 до 25 % ценой деления 0,1 % и пределом допускаемой погрешности измерения ±0,1 % по ГОСТ 18481.

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

Бумага индикаторная универсальная [2].

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

Весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104.

Весы лабораторные общего назначения 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г по ГОСТ 24104.

Иономер универсальный ЭВ-74 или потенциометр pH-340 по ГОСТ 9245.

Карандаш по стеклу.

Колбы мерные исполнения 1, 2-го класса точности, номинальной вместимостью 100 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Колбы типа П или Кн номинальной вместимостью 200, 500, 1000 и 2000 $см^3$ по ГОСТ 19908.

Лупа измерительная по ГОСТ 25706.

Марля медицинская по ГОСТ 9412.

Нож консервный.

Ножницы медицинские по ГОСТ 21239.

Облучатель бактерицидный настенный ОБН-150 [3].

Пергамент по ГОСТ 1341.

Пипетки исполнения 1, 1-го и 2-го классов точности номинальной вместимостью 1, 2, 5 и 10 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Прибор для счета колоний бактерий ПСБ [4].

Пробирки стеклянные исполнений П1 и П2 номинальной вместимостью 20 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Пробки резиновые конусные.

Скальпели хирургические 15 см по ГОСТ 21240.

Спиртовки лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336.

Стакан фарфоровый номинальной вместимостью 1000 $см^3$ по ГОСТ 9147.

Стаканы типа ВН-100 номинальной вместимостью 100 $м^3$ по ГОСТ 19908.

Стаканы номинальной вместимостью 200 $см^3$ по ГОСТ 19908.

Стерилизатор паровой медицинский по ГОСТ 19569.

Ступки лабораторные фарфоровые по ГОСТ 9147.

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

Термостат электрический суховоздушный ТС-80-М2 диапазоном измерения от 15 до 55 °С и погрешностью регулирования температуры ±0,3 °С [5].

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 16317.

Цилиндры исполнений 1 и 2 номинальной вместимостью 100, 500 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Часы механические с сигнальным устройством 2-го класса точности по ГОСТ 3145.

Чашки биологические (Петри) по ГОСТ 23932.

Шпатели металлические или фарфоровые 15—20 см.

Шкаф сушильно-стерилизационный ШСС-80п, обеспечивающий поддержание заданного температурного режима в диапазоне от 50 до 200 °С с погрешностью ±2 °С [6].

Шпагат по ГОСТ 17308.

Штативы металлические, деревянные или пластмассовые.

Электроплитка по ГОСТ 14919.

Агар микробиологический по ГОСТ 17206.

Агар сывороточный «БФ» [7].

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Д — (+) мальтоза [8] для микробиологических целей.

Д-глюкоза, ч. по ГОСТ 6038.

Калий фосфорнокислый однозамещенный ч. по ГОСТ 4198.

Кислота лимонная х.ч. или ч. по ГОСТ 3652.

Кислота молочная пищевая по ГОСТ 490 с массовой долей молочной кислоты 40 %.

Левомицетин [9].

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.

Натрий двууглекислый /сода пищевая/.

Натрий хлористый ч., х.ч. или ч.д.а по ГОСТ 4233.

Пенициллин [10].

Пептон сухой ферментативный по ГОСТ 13805.

Сахароза по ГОСТ 5833.

Среда для определения дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочных продуктах [11].

Сусло солодовое неохмеленное.

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.

Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.

Стрептомицин [12].

Экстракт солодовый [13].

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками не хуже, а также реактивов по качеству не ниже вышеуказанных.

4 Отбор и подготовка проб

4.1 Отбор и подготовка проб — по ГОСТ 26809 и ГОСТ 9225 (1.2, 1.3, 1.4, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9).

Из усредненной пробы каждого вида продуктов детского питания для микробиологических исследований отбирают:

- от 50 до 60 $см^3$ жидких пастеризованных, стерилизованных и кисломолочных продуктов;

- от 15 до 20 г творога, творожных изделий и пастообразных продуктов;
- от 40 до 50 г сухих продуктов.

4.2 Отобранные пробы следует хранить и транспортировать до начала определений при температуре продуктов не более (6±2) °С, не допуская подмораживания.

4.3. Время с момента отбора проб до проведения определений — не более 4 ч.

4.4 Отбор проб продукции для микробиологических исследований проводится специалистами предприятия-изготовителя, а в порядке государственного санитарно-эпидемиологического надзора — сотрудниками учреждений госсанэпидслужбы.

5 Порядок подготовки к определению

Боксы, в которых проводят посевы, дезинфицируют с помощью бактерицидных ламп, количество которых определяют исходя из расчета норм мощности облучения дезинфицируемого помещения 2,5 Вт/м^3.

5.1 Подготовка посуды

5.1.1 Вымытую посуду стерилизуют в сушильном шкафу при (160±5) °С в течение 2 ч или в автоклаве при (121±1) °С в течение (30±2) мин с последующим подсушиванием в сушильном шкафу в течение 1 ч.

5.1.2 Чашки Петри и пипетки заворачивают в пергамент. В верхнюю часть пипетки предварительно вкладывают кусочек ваты. Стерилизуют при (121±1) °С в течение (30±2) мин с последующим подсушиванием в сушильном шкафу при (160±5) °С в течение 1 ч.

5.1.3 Пробирки и колбы со средой закрывают ватно-марлевыми пробками. Поверх пробок колб надевают бумажный колпачок, который обвязывают вокруг горлышка ниткой, резинкой и т.п.

5.1.4 Стерильную посуду хранят в плотно закрывающихся шкафах или ящиках с крышками. Срок хранения стерильной посуды — не более 30 сут.

5.1.5 Контроль посуды на стерильность проводится аналогично контролю сред согласно 5.2.12.

5.2 Подготовка питательных сред и реактивов

5.2.1 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = = 1 моль/дм^3

(40,0±0,4) г гидроокиси натрия (NaOH) растворяют, перемешивая в объеме от 500 до 700 см^3 дистиллированной воды в фарфоровом стакане вместимостью 1000 см^3, охлаждают до (20±5) °С, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят объем до метки той же водой.

5.2.2 Приготовление буферного раствора фосфорнокислого калия массовой концентрации 34 мг/см^3

(34,0±0,4) г однозамещенного фосфорнокислого калия (KH_2PO_4) растворяют в объеме от 500 до 700 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 см^3, перемешивают, устанавливают активную кислотность (7,2±0,1) pH добавлением раствора гидроокиси натрия, приготовленного по 5.2.1, доводят дистиллированной водой до метки и вновь перемешивают.

Хранят в емкости, укупоренной резиновой пробкой, в холодильнике не более 30 сут при (6±2) °С.

5.2.3 Приготовление растворов для разведений продуктов

5.2.3.1 Приготовление буферного раствора фосфорнокислого калия массовой концентрации 0,0425 мг/см^3

1,25 см^3 буферного раствора, приготовленного по 5.2.2, вносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят объем до метки дистиллированной водой, перемешивают, устанавливают активную кислотность раствора от 7,0 до 7,2 pH добавлением раствора гидроокиси натрия, разливают в пробирки по 10 см^3 и колбы по 93 см^3 и стерилизуют при (121±1) °С в течение (20±2) мин. Раствор используют в день приготовления.

5.2.3.2 Пептонную воду и пептонно-солевой раствор готовят по ГОСТ 26669.

5.2.4 Приготовление водного раствора двууглекислого натрия массовой концентрации 0,1 г/см^3

(10,0±0,4) г двууглекислого натрия (Na_2CO_3) растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 100 см^3. Раствор разливают в пробирки от 10 до 20 см^3 в каждую и стерилизуют при (121±1) °С в течение (15±2) мин.

5.2.5 Приготовление солодового сусла массовой долей сухих веществ (7,5±0,5) %

Сусло фильтруют через фильтровальную бумагу, разливают в колбы, стерилизуют при (108±2) °С в течение (30±2) мин и декантируют.

Массовую концентрацию сухих веществ в сусле определяют ареометром-сахарометром. При необходимости сусло разбавляют водой до массовой доли сухих веществ (7,5±0,5) %, разливают в колбы вместимостью 1000 см^3, стерилизуют при (116±1) °С в течение (20±2) мин.

Солодовое сусло можно заменить виноградным суслом, которое готовят аналогично солодовому.

5.2.6 Приготовление суслового агара

(30,0±0,4) г агара вносят в колбу с 1000 см^3 сусла массовой долей сухих веществ (7,5±0,5) %. Среду нагревают до полного растворения агара, фильтруют через вату или фильтровальную бумагу, охлаждают до температуры от 50 до 55 °С и устанавливают активную кислотность от 3,5 до 3,7 pH добавлением молочной кислоты. Фильтрат разливают в колбы или пробирки и стерилизуют при (116±1) °С в течение (20±2) мин.

5.2.7 Приготовление среды из сухого сывороточного агара БФ

(60,0±0,4) г сухого сывороточного агара БФ добавляют к 1000 см^3 дистиллированной воды в колбу вместимостью 2000 см^3, нагревают до полного растворения и фильтруют. Устанавливают активную кислотность раствора от 4,0 до 4,5 pH добавлением молочной кислоты, разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при (121±1) °С в течение (15±2) мин.

5.2.8 Приготовление среды с солодовым экстрактом

(20,0±0,4) г солодового экстракта, (5,00±0,04) г пептона, (0,40±0,04) г лимонной кислоты, (5,00±0,04) г сахарозы и (18,0±0,4) г агара добавляют к 1000 см^3 дистиллированной воды в конической колбе вместимостью 2000 см^3. Среду нагревают до полного растворения, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в колбы или пробирки и стерилизуют при (115±1) °С в течение (15±2) мин.

5.2.9 Приготовление среды Сабуро

(18,0±0,4) г агара добавляют к 1000 см^3 дистиллированной воды в конической колбе вместимостью 2000 см^3 и оставляют на (30±2) мин для его набухания. К набухшему агару добавляют (40,0±0,4) г мальтозы или глюкозы и 10 г пептона, нагревают до полного растворения и фильтруют. Устанавливают активную кислотность от 6,4 до 6,6 pH добавлением молочной кислоты, разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при (116±1) °С в течение (20±2) мин.

5.2.10 Приготовление среды промышленного производства для определения дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочных продуктах

Среду готовят по [11] и используют только в производственных лабораториях.

5.2.11 Для повышения селективности питательных сред добавляют растворы антибиотиков в объеме, указанном в таблице 1.

Таблица 1 — Схема добавления растворов антибиотиков в питательные среды

Объем питательной среды, см^3	Объем добавляемых к среде растворов антибиотиков, см^3		
	пенициллин	стрептомицин	левомицетин
980	10	10	—
975	—	—	25

5.2.11.1 Приготовление стерильной дистиллированной воды

Дистиллированную воду разливают в колбы или пробирки в необходимом количестве и стерилизуют при (121±1) °С в течение (20±2) мин.

5.2.11.2 Приготовление раствора пенициллина активностью 5000 ЕД/см^3

Во флакон с пенициллином активностью 500000 ЕД добавляют от 5 до 7 см^3 стерильной дистиллированной воды и перемешивают до полного растворения. Содержимое флакона переносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят до метки стерильной дистиллированной водой температурой от 35 до 40 °С и перемешивают.

При использовании пенициллина другой активности делают пересчет.

5.2.11.3 Приготовление раствора стрептомицина массовой концентрации 4 мг/см^3

(400±4) мг стрептомицина вносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют от 10 до 20 см^3 стерильной дистиллированной воды температурой от 35 до 40 °С, перемешивают до полного растворения и доводят той же водой до метки.

5.2.11.4 Приготовление раствора левомицетина (хлорамфеникола) массовой концентрации 4 мг/см^3

(400±4) мг левомицетина вносят в стерильную мерную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют от 10 до 20 см^3 стерильной дистиллированной воды температурой от 35 до 40 °С, перемешивают до полного растворения и доводят той же водой до метки.

5.2.11.5 Водные растворы антибиотиков готовят непосредственно перед применением. Их вносят в расплавленную и охлажденную до (46±1) °С питательную среду.

Среды с антибиотиками готовят перед применением.

5.2.12 Среды проверяют на стерильность путем выдержки в термостате при (37±1) °С в течение 48 ч. Если после этого на плотных питательных средах не обнаруживается колоний микроорганизмов, они считаются стерильными.

5.2.13 Сроки и условия хранения питательных сред

Плотные питательные среды хранят при (20±1) °С не более 1 мес, при (6±2) °С не более 2 мес, жидкие питательные среды и растворы — не более 14 сут при (6±2) °С.

6 Порядок проведения определений

6.1 Приготовление разведений продуктов для посева

6.1.1 Приготовление разведений 1:10 (первое разведение)

Отобранные пробы продуктов перемешивают до полного растворения и готовят первое разведение.

6.1.1.1 Из проб жидких пастеризованных, стерилизованных и кисломолочных продуктов отбирают стерильной пипеткой 10 см^3 продукта, вносят в колбу с 90 см^3 одного из растворов, приготовленного по 5.2.3, и перемешивают круговыми движениями от 3 до 5 мин. При этом пипетку промывают до 10 раз раствором этого продукта до верхнего уровня имеющихся на ней делений.

Пробы кисломолочных продуктов перед разведением нейтрализуют. Для этого отбирают стерильной пипеткой 10 см^3 продукта в стерильную посуду, добавляют 1 см^3 стерильного водного раствора двууглекислого натрия массовой концентрации 0,1 г/см^3 и перемешивают.

6.1.1.2 Из проб творога, творожных изделий и пастообразных продуктов взвешивают (10,0±0,4) г продукта на стерильном часовом стекле, чашки Петри или в бюксе, переносят в стерильную или фламбированную ступку, прикрытую крышкой от чашки Петри, растирают, постепенно добавляя 90 см^3 одного из растворов, приготовленного по 5.2.3.

При посеве продуктов без разведений их нейтрализуют по 6.1.1.1.

6.1.1.3 Из проб сгущенных продуктов взвешивают (10,0±0,4) г продукта в стерильной колбе, приливают в нее 90 см^3 одного из растворов, приготовленного по 5.2.3 и перемешивают до полного растворения.

6.1.1.4 Из проб сухих продуктов взвешивают (10,0±0,4) г продукта на кусочке стерильного пергамента, на чашке Петри, в бюксе или на часовом стекле. Взвешенную пробу переносят в колбу с 90 см^3 одного из растворов, приготовленного по 5.2.3 и подогретого до температуры от 40 до 45 °С.

6.1.1.5 Для получения однородной взвеси продукта допускается перемешивание на аппарате для встряхивания жидкостей от 5 до 7 мин, избегая намокания пробок.

6.1.2 Приготовление разведения 1:100 (второе разведение)

6.1.2.1 Из первого разведения продукта стерильной пипеткой берут 1 см^3 и переносят в пробирку с 9 см^3 одного из растворов, приготовленного по 5.2.3, перемешивают осторожно, набирая и выдувая раствор из пипетки от 5 до 10 раз.

6.1.2.2 Для приготовления разведений сухих молочных каш для детского питания используют надосадочную жидкость первого разведения продукта после отстаивания его от 2 до 3 мин.

6.1.2.3 В зависимости от предполагаемого обсеменения продукта последующие разведения 1:1000, 1:10000 и т.д. готовят аналогично.

6.1.2.4 Для приготовления каждого разведения используют отдельно взятую стерильную пипетку, вводя ее в пробирку ниже уровня поверхности взвеси от 2 до 3 см.

Время от момента приготовления разведений до посева не должно превышать 30 мин. Перед посевом все разведения осторожно встряхивают. При посеве на чашки Петри или в пробирки посевной материал вносят от большего разведения к меньшему, пользуясь при этом одной пипеткой.

6.2 Посев на чашки

Перед посевом чашки маркируют. На две чашки карандашом по стеклу ставят номер исследуемого образца продукта, разведение и дату.

По 1 $см^3$ продукта или каждого соответствующего его разведения вносят в 2 чашки Петри (параллельные определения). Пипетку с посевным материалом держат под углом 45 °, касаясь концом пипетки дна чашки, не выдувая последнюю каплю из пипетки. В каждую чашку вносят от 15 до 20 $см^3$ питательной среды, расплавленной на водяной бане и охлажденной до (43±2) °С.

Края колб с питательной средой перед каждой заливкой фламбируют в пламени газовой горелки или спиртовки. Сразу после заливки среды содержимое чашки Петри тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала.

6.3 Инкубация

После застывания среды чашки Петри переворачивают крышками вниз и помещают в таком виде в термостат при (24±1) °С на (120±5) ч. Допускается предварительный учет количества выросших колоний через (72±1) ч с последующим окончательным учетом еще через (48±1) ч.

Чашки Петри с посевами распределяют в термостате таким образом, чтобы каждая их группа отделялась от соседних чашек, от верха и стенок термостата не менее чем на 3 см.

7 Правила обработки и оформления результатов определения

7.1 Обработка результатов

7.1.1 Количество выросших колоний подсчитывают на перевернутой вверх дном чашке, поместив ее на темном фоне, пользуясь лупой с увеличением от 4 до 10 раз. Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки чернилами.

Подсчет колоний дрожжей и плесневых грибов производят раздельно. Рекомендуется пользоваться прибором для подсчета колоний бактерий.

Рост дрожжей на агаризованных средах сопровождается образованием крупных, выпуклых, блестящих, серовато-белых колоний с гладкой поверхностью и ровным краем.

Типичные колонии плесневых грибов покрыты пушистым мицелием, часто напоминающим вату. Окраска варьирует.

7.1.2 При большом количестве колоний (более 150 для дрожжей и 50 для плесневых грибов) и равномерном их распределении дно чашки Петри делят на четыре и более равные сектора, подсчитывают количество колоний на двух-трех секторах (но не менее, чем на одной трети площади поверхности чашки), находят среднеарифметическое значение количества колоний на одном секторе и умножают на количество секторов всей чашки. Таким образом находят общее количество колоний, выросших на одной чашке.

7.2 Оформление результатов

Количество колоний подсчитывают на каждой чашке одного и того же разведения и вычисляют среднеарифметическое значение M.

Если инкубированные чашки с разведением 1:10 не содержат колоний, то результат выражают так: менее 1×10^1 или менее 10 колоний в 1 $см^3$ (г) продукта.

Если посев продукта проводится при нескольких разведениях (1:10, 1:100 и т.д.), то подсчитывают количество колоний при каждом разведении.

Количество микроорганизмов A_i в 1 $см^3$ или в 1 г продукта при каждом разведении вычисляют по формуле

$$A_i = M\,10^n, \tag{1}$$

где M — количество выросших колоний;

n — степень разведения продукта.

Затем вычисляют среднеарифметическое значение A количества дрожжей и плесневых грибов, которое принимают за окончательный результат

$$A = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^{k} A_i, \tag{2}$$

где k — количество чашек всех разведений.

Ответ выражают в виде количества КОЕ/г или КОЕ/см^3 с указанием соответствия или несоответствия показателя продукта микробиологическому нормативу на этот продукт.

Норматив оперативного контроля сходимости при доверительной вероятности 0,95 равен 31 %, воспроизводимости 35 % в диапазоне определения количества дрожжей и плесневых грибов для сухих молочных продуктов от 10 до 1000 КОЕ/г, для жидких и пастообразных — от 1 до 1000 КОЕ/см^3.

8 Контроль сходимости и воспроизводимости определений

8.1 Алгоритм проведения оперативного контроля сходимости

Оперативный контроль сходимости проводят при получении каждого результата определения, представляющего собой среднеарифметическое значение двух параллельных определений. Расхождение результатов двух параллельных определений, полученных при анализе пробы, по отношению к среднеарифметическому значению результатов определений не должно превышать норматива оперативного контроля сходимости при доверительной вероятности 0,95.

Если условие не выполняется, эксперимент повторяют. При повторном невыполнении условия определение приостанавливают, выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля, и устраняют их.

8.2 Алгоритм проведения оперативного контроля воспроизводимости

Образцами для контроля являются пробы продукта, отобранные согласно 4.1.

Масса пробы, отобранная для контроля, должна соответствовать удвоенному количеству, необходимому для проведения определения по методике. Отобранную пробу делят на две равные части и проводят определения в одной или двух лабораториях в точном соответствии с данной методикой, т.е. получают два результата определения, используя при этом разные наборы мерной посуды, партии реактивов и лаборантов.

Расхождение между результатами контрольных определений, а также результатами определений проб, получаемых за период, в течение которого условия выполнения определений принимают стабильными и соответствующими условиям проведения контрольных определений, по отношению к среднеарифметическому значению результатов определений не должно превышать при доверительной вероятности 0,95 норматива оперативного контроля воспроизводимости.

При превышении нормативов оперативного контроля воспроизводимости эксперимент повторяют. При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля и устраняют их.

9 Требования безопасности

Требования безопасности при определении количества дрожжей и плесневых грибов следует соблюдать согласно «Инструкции по микробиологическому контролю производства на молочно-консервных комбинатах детских продуктов» [14].

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(справочное)

Библиография

[1] ТУ 64-1-2451—78 Аппараты универсальные для встряхивания жидкостей в колбах и пробирках АБУ-6С

[2] ТУ 6-09-1181—89 Бумага индикаторная универсальная для определения pH

[3] ТУ 16-535—84 Облучатель бактерицидный настенный ОБН-150

[4] ТУ 64-1-2401—72 Приборы для счета колоний бактерий ПСБ

[5] ТУ 64-1-1382—83 Термостаты электрические суховоздушные ТС-80М-2

[6] ТУ 64-1-909—74 Шкаф сушильно-стерилизационный ШСС-80п

[7] ТУ 10-02-02-789-177—94 Агар сывороточный «БФ»

[8] МРТУ 6-09-1044—64 Д (+) мальтоза для микробиологических целей

[9] ГФ-X ст. 371 Левомицетин

[10] ГФ-X ст. 521 Феноксиметилпенициллин

[11] ТУ 49 1059—84 Среда для определения дрожжей и плесневых грибов в молоке и молочных продуктах производства ВНИИ комплексного использования молочного сырья (г. Ставрополь)

[12] ГФ-X ст. 636 Стрептомицина сульфат

[13] ТУ 10-04-06-114—88 Экстракты солодовые и ячменные

[14] «Инструкция по микробиологическому контролю производства на молочно-консервных комбинатах детских продуктов», утвержденная 12 декабря 1988 г. зам. начальника отдела по производству и переработке продукции животноводства Госагропрома СССР

УДК 664.8/.9:641.562.001.4:006.354 МКС 67.100.10 Н19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: продукты молочные, детское питание, дрожжи, плесневые грибы, питательные среды, разведение продукта, посев, инкубация

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Л.А. Гусева*
Корректор *В.С. Черная*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Подписано в печать 19.02.2008. Формат 60×84$^{1}/_{8}$. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,10. Тираж 98 экз. Зак. 136.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru