

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
10444.12—
2013

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2014

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИКОП Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (ТК 335)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (Протокол 44-2013 от 14 ноября 2013 г.)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 2131-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 10444.12-2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 10444.12-88

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

Стандартинформ, 2014

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

II

Поправка к ГОСТ 8.332—2013, ГОСТ 12.2.121—2013, ГОСТ 12.2.122—2013, ГОСТ 108—2014, ГОСТ 490—2006, ГОСТ 745—2014, ГОСТ 1760—2014, ГОСТ 4570—2014, ГОСТ 4974—2014, ГОСТ 5312—2014, ГОСТ 6034—2014, ГОСТ 10444.12—2013, ГОСТ 14138—2014, ГОСТ 21715—2013, ГОСТ 26602.1—99, ГОСТ 26602.2—99, ГОСТ 26602.3—99, ГОСТ 28038—2013, ГОСТ 30324.0.4—2002 (МЭК 60601-1-4:1996), ГОСТ 30324.30—2002 (МЭК 60601-2-30:1995), ГОСТ 30324.35—2002 (МЭК 60601-2-35:1996), ГОСТ 30324.2.41—2012 (IEC 60601-2-41:2000), ГОСТ 30324.2.47—2012 (IEC 60601-2-47:2001), ГОСТ 30494—2011, ГОСТ 31622—2012, ГОСТ 31624—2012, ГОСТ 31698—2013, ГОСТ 32283—2013, ГОСТ 32572—2013, ГОСТ 32573—2013, ГОСТ 32574—2013, ГОСТ 32782—2014, ГОСТ 32930—2014, ГОСТ ISO 5833—2011

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Предисловие	—	Узбекистан UZ Узстандарт

(ИУС № 7 2016 г.)

Поправка к ГОСТ 10444.12—2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов

В каком месте	Напечатано	Должно быть																		
Пункт 5.2.1	5.2.1 Состав	5.2.1 Состав <table><tr><td>Ферментативный гидролизат животных и растительных тканей, г</td><td>5,0</td></tr><tr><td>D-Глюкоза (C₆H₁₂O₆), г</td><td>10,0</td></tr><tr><td>Дигидрофосфат калия (KH₂PO₄), г</td><td>1,0</td></tr><tr><td>Сульфат магния (MgSO₄ · H₂O), г</td><td>0,5</td></tr><tr><td>Дихлоран (2,6-дихлор-4-нитроанилин), г</td><td>0,002</td></tr><tr><td>Бенгальский розовый, г</td><td>0,025</td></tr><tr><td>Агар, г</td><td>12 до 15^{a)}</td></tr><tr><td>Хлорамфеникол, г</td><td>0,1</td></tr><tr><td>Вода дистиллированная или деионизированная, см³</td><td>1000</td></tr></table> a) В зависимости от желирующих свойств.	Ферментативный гидролизат животных и растительных тканей, г	5,0	D-Глюкоза (C ₆ H ₁₂ O ₆), г	10,0	Дигидрофосфат калия (KH ₂ PO ₄), г	1,0	Сульфат магния (MgSO ₄ · H ₂ O), г	0,5	Дихлоран (2,6-дихлор-4-нитроанилин), г	0,002	Бенгальский розовый, г	0,025	Агар, г	12 до 15 ^{a)}	Хлорамфеникол, г	0,1	Вода дистиллированная или деионизированная, см ³	1000
Ферментативный гидролизат животных и растительных тканей, г	5,0																			
D-Глюкоза (C ₆ H ₁₂ O ₆), г	10,0																			
Дигидрофосфат калия (KH ₂ PO ₄), г	1,0																			
Сульфат магния (MgSO ₄ · H ₂ O), г	0,5																			
Дихлоран (2,6-дихлор-4-нитроанилин), г	0,002																			
Бенгальский розовый, г	0,025																			
Агар, г	12 до 15 ^{a)}																			
Хлорамфеникол, г	0,1																			
Вода дистиллированная или деионизированная, см ³	1000																			
Подпункт 5.2.2.1. Вторым абзацем (2 раза)	(массовой концентрацией 50 мг/дм ³)	(50 мг/дм ³)																		
Пункт 5.3.1	5.3.1 Основа среды	5.3.1 Основа среды <table><tr><td>Глюкоза, г</td><td>40,0</td></tr><tr><td>Пептон, г</td><td>10,0</td></tr><tr><td>Вода, см³</td><td>1000</td></tr><tr><td>Агар, г</td><td>от 12 до 15^{a)}</td></tr></table> a) В зависимости от желирующих свойств.	Глюкоза, г	40,0	Пептон, г	10,0	Вода, см ³	1000	Агар, г	от 12 до 15 ^{a)}										
Глюкоза, г	40,0																			
Пептон, г	10,0																			
Вода, см ³	1000																			
Агар, г	от 12 до 15 ^{a)}																			
Пункт 5.4.1	5.4.1 Состав	5.4.1 Состав <table><tr><td>Сухой сывороточный агар, г</td><td>60,0</td></tr><tr><td>Вода, см³</td><td>1000</td></tr></table>	Сухой сывороточный агар, г	60,0	Вода, см ³	1000														
Сухой сывороточный агар, г	60,0																			
Вода, см ³	1000																			
Пункт 9.3.2. Формула (1)	$\frac{\sum C}{n_1 + n_2 + 0,1} \times 10^n$	$\frac{\sum C}{n_1 + n_2 \times 0,1} \times 10^n$																		

(ИУС № 7 2016 г.)

Поправка к ГОСТ 10444.12—2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Пункт 4.1.3, первый абзац	при температуре $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$	при температуре $(24 \pm 1) ^\circ\text{C}$
Пункт 6.3	температуру $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$.	температуру $(24 \pm 1) ^\circ\text{C}$.
Пункт 9.2.3, первый абзац	при температуре $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$	при температуре $(24 \pm 1) ^\circ\text{C}$

(ИУС № 7 2024 г.)

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ**Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов**

Microbiology of food and animal feeding stuffs.
Methods for the detection and colony count of yeasts and moulds

Дата введения — 2015—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты и корма для животных и устанавливает методы выявления и подсчета количества плесневых грибов и дрожжей.

Методы распространяются на пищевые продукты и корма для животных независимо от содержания активной воды, в т.ч. с низким содержанием активной воды — менее 0,6.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ 6672—75 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 9284—75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

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

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

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

ГОСТ 26670—91 Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов

ГОСТ 29228—91 (ИСО 835—2—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 2. Пипетки градуированные без установленного времени ожидания

П р и м е ч а н и е — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 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.

3.2 плесневые грибы: Микроорганизмы, состоящие из нитей-гифов, без перегородок или с перегородками (септированные). Гифы образуют боковые выросты и разветвления, от вегетативных гифов поднимаются гифы, несущие плодовые тела.

4 Сущность метода

4.1 Подсчет количества плесневых грибов и дрожжей

4.1.1 Определенное количество пробы для испытания, если исходный продукт жидкий, или определенное количество исходной суспензии в случае использования продуктов других консистенций, параллельно высевает в две чашки Петри.

Для посева десятикратных разведений используют дополнительные чашки Петри, приготовленные также как для посева пробы для испытания или исходной суспензии.

4.1.2 Посевы в чашках Петри заливают расплавленной и охлажденной до $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$ плотной средой. Параллельно с этим заливают в чашку Петри 15 – 20 см³ среды для проверки ее стерильности.

4.1.3 Чашки инкубируют в аэробных условиях при температуре $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 5 сут.

Через 3 сут инкубирования проводят предварительный учет количества выросших колоний, а через 5 окончательный.

Если в посевах на плотных средах присутствуют мукоровые (быстро растущие грибы), то снятие предварительных результатов необходимо проводить очень осторожно не допуская того, чтобы споры этих грибов осыпались и дали рост вторичных колоний.

При необходимости, если в посевах отсутствуют плесневые грибы и (или) дрожжи, то для выявления медленно растущих плесневых грибов и дрожжей, посевы допускается оставлять после 5 сут инкубирования при комнатной температуре на 1 – 2 сут.

В зависимости от цели испытания дрожжи и плесневые грибы подсчитывают по отдельности или вместе.

4.1.4 Колонии дрожжей и плесневых грибов разделяют визуально.

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

Развитие плесневых грибов на питательных средах сопровождается появлением мицелия различной окраски.

4.1.5 Для подсчета отбирают чашки, на которых выросло от 15 до 150 КОЕ (колониеобразующих единиц) дрожжей и (или) от 5 до 50 КОЕ плесневых грибов. Колонии подсчитывают и, если необходимо, отличие дрожжевых колоний от бактериальных устанавливают путем микроскопирования препаратов, приготовленных из этих колоний. Препараты готовят методом раздавленной капли.

Если на чашках Петри выросло менее 15 КОЕ дрожжей или менее 5 КОЕ плесневых грибов, то в этом случае допускается подсчитывать количество выросших колоний. При выражении результатов, указывают нижнюю и верхнюю границу доверительного интервала на уровне 95 %, пользуясь справочным приложением Б.

4.1.6 Количество дрожжей или плесневых грибов на грамм или кубический сантиметр пробы продукта рассчитывают исходя из количества колоний, выросших на чашках Петри с учетом разведения, используемого для посева.

4.2 Выявление плесневых грибов и дрожжей

4.2.1 При выявлении присутствия (отсутствия) дрожжей и (или) плесневых грибов в определенной пробе продукта, испытываемую пробу или исходное разведение, или десятикратное разведение высевает в жидкую питательную среду в соотношении приблизительно 1 : 5.

Посевы инкубируют по 4.1.3, развитие дрожжей в жидкой среде сопровождается появлением мути, запаха брожения и газа, развитие плесневых грибов сопровождается появлением мицелия различной окраски.

Допускается выявление дрожжей и (или) плесневых грибов проводить посевом в агаризованную среду. В этом случае не проводят подсчета количества выросших колоний.

5 Растворы для разведений, питательные среды, реактивы

5.1 Растворы для разведений

Растворы для разведений по [1] и ГОСТ 26669 или любой другой стандарт, касающийся конкретного исследуемого продукта.

П р и м е ч а н и е – К растворам для уменьшения скопления плесневых спор и конидий можно добавить поверхностно-активные агенты, например натрий полиоксиэтилен сорбитанмоноолеат¹⁾ (массовой концентрации 0,05 %).

5.2 Агар с дихлораном, бенгальским розовым и хлорамфениколом (DRBC)

5.2.1 Состав

5.2.2 Приготовление

Суспендируют в воде все ингредиенты, кроме хлорамфеникола, и доводят до кипения для полного растворения. При необходимости устанавливают pH таким образом, чтобы после стерилизации он составлял $(5,6 \pm 0,2)$ ед. pH при температуре 25 °С.

Добавляют 10 см³ 1 %-ного спиртового раствора хлорамфеникола (массовая концентрация) и перемешивают. Разливают среду в нужном количестве в емкости. Стерилизуют в автоклаве при температуре (121 ± 1) °С в течение 15 мин.

После стерилизации среду немедленно охлаждают в водяной бане (6.4), поддерживающей температуру от 44 °С до 47 °С.

5.2.2.1 Дополнительное добавление гидрохлорида хлортетрациклина

Если возникают проблемы из-за чрезмерного бактериального роста (например, при использовании сырого мяса, специй и т. д.), рекомендуется использовать хлорамфеникол (массовой концентрацией 50 мг/дм³) и хлортетрациклин (массовой концентрацией 50 мг/дм³). В этом случае готовят среду, как описано выше, только с использованием 50 мг хлорамфеникола, разливают ее по 100 см³ и стерилизуют.

Готовят 0,1 % раствор гидрохлорида хлортетрациклина (массовая концентрация) в воде (так как гидрохлорид хлортетрациклин не устойчив в растворе, он должен быть свежеприготовленным) и стерилизуют фильтрацией. Непосредственно перед использованием добавляют с соблюдением правил асептики 5 см³ этого раствора к 100 см³ основной среды. Применять гентамицин не рекомендуется, так как согласно имеющимся данным он вызывает ингибирование некоторых видов дрожжей.

5.2.2.2 Дополнительное добавление микроэлементов

Для того чтобы плесневые грибы полнее проявили свою морфологию, в частности пигментообразования, они нуждаются в микроэлементах, которые

могут не присутствовать в питательной среде DRBC. Чтобы идентифицировать плесневые грибы на этой среде, перед стерилизацией в среду добавляют в количестве 1 см³ на кубический дециметр среды раствор следующих микроэлементов:

ZnSO₄·7H₂O 1,0 г и CuSO₄·5H₂O 0,5 г растворяют в 100 см³ дистиллированной или деионизированной воды.

5.2.2.3 Дополнительное добавление тергитола

Для предотвращения чрезмерного роста микроорганизмов Мисогасеае рекомендуется добавление к питательной среде тергитола (1 см³/дм³).

5.2.2.4 Испытание рабочих характеристик питательной среды для гарантии ее качества по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

5.3 Среда Сабуро

5.3.1 Основа среды

5.3.2 Приготовление

Компоненты растворяют при нагревании в воде, устанавливают pH таким образом, чтобы он составлял после стерилизации, при температуре 25 °С, $(6,5 \pm 0,1)$ ед. pH. Среду разливают мерно в колбы и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение 15 мин.

Для повышения селективных свойств среды добавляют антибиотики по 5.2.1 или 5.2.2.1.

При испытании консервов на соответствие их требованиям промышленной стерильности допускается использование основы среды Сабуро без антибиотиков.

5.4 Основа среды из сухого сывороточного агара БФ

5.4.1 Состав

5.4.2 Приготовление

Сывороточный агар добавляют к воде и при нагревании растворяют, при наличии осадка фильтруют. Устанавливают pH так, чтобы после стерилизации при температуре 25°C он составлял $(4,2 \pm 0,2)$ ед. pH. Среду разливают в колбы и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ в течение 15 мин.

Основу среды используют при анализе молока и молочных продуктов.

5.5 Солодовое сусло готовят по ГОСТ 10444.1.

5.6 Солодовое агаризованное сусло готовят по ГОСТ 10444.1.

5.7 Допускается использование готовых и дегидратированных питательных сред, отечественного и импортного производства, зарегистрированных в установленном порядке.

Приготовление и применение питательных сред – в соответствии с требованиями нормативных документов, действующими на территории государства, принявшего стандарт.

6 Оборудование и лабораторная посуда

Приемлемой альтернативой посуды многоразового применения является одноразовая посуда, если она отвечает соответствующим требованиям. Одноразовая посуда предпочтительнее многоразовой.

Применяют лабораторное оборудование по ГОСТ 10444.1 и нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

6.1 Оборудование для сухой стерилизации (сушильный шкаф) или стерилизации паром (автоклав)

6.2 Шкаф сушильный или инкубатор с конвекционной вентиляцией для подсушки плотных сред в чашках Петри, поддерживающий температуру от $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ до $(55 \pm 1)^{\circ}\text{C}$.

6.3 Инкубатор (термостат), поддерживающий температуру $(25 \pm 1)^{\circ}\text{C}$.

6.4 Бани водяные, поддерживающие температуру от $(44 - 47)^{\circ}\text{C}$.

6.5 pH-метр, с точностью $\pm 0,1$ ед. pH при температуре 25°C .

6.6 Чашки Петри, стеклянные или пластмассовые диаметром от 90 до 100 мм или, если необходимо, 140 мм.

6.7 Пипетки градуированные, калиброванные только для бактериологического применения, номинальной вместимостью 10 см^3 , 2 см^3 и 1 см^3 , ценой деления $0,5$ и $0,1\text{ см}^3$, и с выходным отверстием с номинальным диаметром от 2 до 3 мм.

6.8 Шпатели из стеклянного или пластмассового стержня диаметром приблизительно 3,5 мм и длиной 20 см, изогнутые под прямым углом на расстоянии около 3 см от одного конца; обрезанные концы должны быть ровными (оплавленными).

6.9 Лупа бинокулярная, для дифференцирования колоний дрожжей и плесневых грибов (увеличение от 6,5 до 50 раз).

6.10 Микроскоп с увеличением от 250 до 1000 раз, для дифференцирования дрожжевых клеток от бактериальных.

7 Отбор проб

Отбор проб по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

Важно, чтобы в лабораторию поступала представительная проба, которая не была повреждена или изменена при транспортировке или хранении.

8 Приготовление пробы для испытания

Пробы для испытания приготавливают в соответствии с [1] – [5], ГОСТ 26669 или стандартом, распространяющимся на конкретный продукт.

9 Метод проведения испытания

9.1 Проба, исходная суспензия и разведения

Готовят по [1] – [5], ГОСТ 26669 или по стандарту на конкретный продукт.

Использование перистальтического гомогенизатора предпочтительнее смесителя или шейкера.

По причине быстрого осаждения спор в пипетке (6.7) ее следует держать в горизонтальном (не вертикальном) положении при заполнении соответствующим объемом исходной суспензии или разведением.

Перед отбором исходной суспензии или разведения их встряхивают, для избежания осаждения частиц содержащих микроорганизмы.

9.2 Инокуляция и инкубация

9.2.1 В две стерильные чашки Петри параллельно переносят с помощью стерильной пипетки (6.7) 1 см³ испытуемой пробы, если это жидкий продукт, или 1 см³ исходной суспензии в случае продуктов других консистенций.

В две другие чашки Петри переносят с помощью новой стерильной пипетки 1 см³ первого десятикратного (10⁻¹) разведения (жидкий продукт) или 1 см³ разведения 10⁻² (продукты других консистенций).

Эти операции повторяют с последующими разведениями, используя новую стерильную пипетку для каждого десятикратного разведения.

9.2.2 Посевы заливают плотной питательной средой по 4.1.2. Для инокуляции чашек Петри можно также использовать поверхностный метод посева.

Поверхностный метод дает более высокие результаты подсчета и обеспечивает максимальное воздействие атмосферного кислорода на клетки и предотвращает риск тепловой инактивации проростков грибов, но результаты могут зависеть от вида грибов.

9.2.3 Засеянные чашки Петри (9.2.2) инкубируют аэробно, крышками вверх, в горизонтальном положении в инкубаторе (6.3) при температуре (25 ± 1) °С 5 сут. При необходимости оставляют чашки Петри при комнатной температуре от 1 до 2 сут.

Рекомендуется инкубировать чашки (6.6) в пластмассовом пакете для избежания загрязнения инкубатора в случае разрастания плесневых грибов из чашек Петри.

9.3 Подсчет и отбор колоний для подтверждения

9.3.1 После установленного периода инкубации отбирают чашки (9.2.3), количество КОЕ на которых отвечает требованиям 4.1.5 и подсчитывают их. Если возникают трудности из-за быстрорастущих плесневых грибов, то подсчитывают колонии/проростки /зародыши через 3 сут, и затем через 5 до 7 дней инкубации.

Примечания

1 Методы подсчета дрожжей и особенно плесневых грибов не являются точными, потому что они состоят из смеси мицелия и спор бесполого и полового размножения. Количество колониеобразующих единиц зависит от степени фрагментации мицелия и соотношения спор, способных расти на питательной среде.

2 Часто имеет место отсутствие зависимости подсчетов при инокуляции с использованием разведений, т.е. 10-кратные разведения часто не дают 10-кратного уменьшения количества колоний, полученных на питательной среде. Это относят за счет фрагментации мицелия и разрыва скоплений спор во время разведения.

3 Споры плесневых грибов рассеиваются в воздухе с большой легкостью, поэтому при работе с чашками Петри следует соблюдать осторожность для избежания развития вторичных колоний, которые дают завышенную оценку количества плесневых грибов в образце.

При необходимости, для отличия клеток дрожжей или плесневых грибов от бактерий проводят исследование с помощью микроскопа (6.10). Подсчитывают, если необходимо, отдельно колонии дрожжей и колонии/проростки/зародыши плесневых грибов.

Для идентификации дрожжей и плесневых грибов определяют области роста и отбирают из них часть колонии для микроскопирования или для пересева на соответствующую среду для изоляции или идентификации.

9.3.2. Если количество выросших дрожжей или плесневых грибов удовлетворяет 4.1.5 в двух последовательных разведениях, то количество их на 1 г или 1 сантиметр кубический продукта (X) вычисляют по формуле

$$\frac{\sum C}{n_1 + n_2 + 0,1} \times 10^n, \quad (1)$$

где $\sum C$ —сумма всех подсчитанных колоний на чашках Петри в двух последовательных разведениях;

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).

Если подсчитанное количество колоний менее 15 для дрожжей или менее 5 для плесневых грибов, то результаты выражают, пользуясь справочным приложением Б. Например, количество дрожжей или плесневых грибов в 1 г или см³ продукта равно А (менее 15 или 5), а в скобках указывают нижнюю и верхнюю границу для 95% доверительного интервала. При посеве исходного разведения значения А и указанные в скобках умножают на коэффициент разведения -d. Если подсчитанное количество колоний равно 8, то результат выражают следующим образом:

- количество дрожжей и (или) плесневых грибов в 1 г или 1 см³ продукта равно 8 (от 3 до 13);

- с учетом десятикратного разведения, используемого для приготовления исходного разведения, количество дрожжей и (или) плесневых грибов в 1 г или 1 см³ продукта равно $8,0 \cdot 10^1$ (от $3,0 \cdot 10^1$ до $1,3 \cdot 10^2$).

10 Выражение результатов

Выражение результатов выявления или подсчета количества плесневых грибов и дрожжей по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт, и ГОСТ 26670.

11 Протокол испытания

Протокол испытания должен включать, как минимум, следующую информацию:

а) всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;

б) используемый метод приготовления образцов, если известно;

в) используемый метод испытания

г) все рабочие детали, не установленные в этом стандарте;

д) детали любых инцидентов, которые могли бы повлиять на результаты испытания;

ж) полученные результаты испытания.

12 Требования безопасности

Общие требования проведения микробиологического испытания и требования к персоналу – по ГОСТ ISO 7218.

Приложение А
(справочное)

Примеры содержания активной воды в пищевых продуктах

Примеры содержания активной воды в анализируемых продуктах приведены в таблице А.1

Т а б л и ц а А.1

Активность воды a_w	Примеры пищевых продуктов
0,95	Скоропортящиеся продукты (свежие и консервированные фрукты, овощи, мясо, рыба), молоко, вареные колбасы, хлеб, пищевые продукты, содержащие вплоть до 4 % сахарозы или 7 % NaCl (соленые)
0,91	Твердые сыры, такие как Чеддер, копченое мясо, концентраты фруктовых соков, содержащие 55 % сахарозы или 12 % NaCl
0,87	Ферментированная колбаса, бисквитные торты, пирожные, сухой сыр, маргарин, пищевые продукты, содержащие 65 % сахарозы или 15 % NaCl (соленые)
0,80	Большинство концентратов фруктовых соков, сгущенное молоко, сироп, мука, кексы с высоким содержанием сахара, бобовые, содержащие от 15 % до 17 % влаги
0,75	Джем, варенье, конфитюр, засахаренные фрукты, марципан, конфеты-суфле, кекс
0,65	Овсяные хлопья, содержащие 10 % влаги, желе, патока, орехи
0,60	Сухофрукты, содержащие от 15 % до 20 % влаги, карамель, ириски, мед, зерновые батончики, корма для собак, гранулированные пищевые продукты, зерно, крупы и зерновые продукты
0,50	Макаронные изделия, содержащие 12 % влаги, специи, содержащие 10 % влаги
0,40	Цельный яичный порошок, содержащий 5 % влаги, нуга
0,30	Печенье, крекер, хлебные сухари, содержащие от 3 % до 5 % влаги, основа обезвоженных соусов
0,03	Цельное сухое молоко, содержащее от 2 % до 3 % влаги, обезвоженные супы, растворимый кофе

Приложение Б
(справочное)

Границы доверительного интервала для небольшого количества колоний

Границы доверительного интервала на уровне 95 % для оценки небольшого количества колоний приведены в таблице Б.1.

Т а б л и ц а Б.1

Количество колоний	Границы доверительного интервала на уровне 95 %	
	нижняя	верхняя
1	< 1	2
2	< 1	4
3	< 1	5
4	1	6
5	2	9
6	2	10
7	2	12
8	3	13
9	4	14
10	4	16
11	5	18
12	6	19
13	7	20
14	7	21
15	8	23

Библиография

- [1] ИСО 6887–1:1999 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для испытаний, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила подготовки исходной суспензии и десятикратных разведений
- [2] ИСО 6887–2:2003 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для испытаний, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 2. Специальные правила для подготовки мяса и мясных продуктов
- [3] ИСО 6887–3:2003 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для испытаний, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 3. Специальные правила для приготовления рыбы и рыбных продуктов
- [4] ИСО 6887–4:2003 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для испытаний, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 4. Специальные правила для приготовления продуктов, кроме молока и молочных продуктов, мяса и мясных продуктов, рыбы и рыбных продуктов
- [5] ИСО 6887–5:2010 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб для анализа, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологического исследования. Часть 5. Специальные правила подготовки молока и молочных продуктов

Ключевые слова: продукты пищевые, корма, дрожжи, плесневые грибы, выевление количества, инкубирование посевов, чашки Петри, колониеобразующие единицы (КОЕ), микроскопирование

Подписано в печать 01.11.2014. Формат 60х841/8.

Усл. печ. л. 1,40. Тираж 150 экз. Зак. 4048.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru