
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р
53430 —
2009

МОЛОКО И ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ МОЛОКА

Методы микробиологического анализа

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2011

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия» (ГНУ «ВНИИМС» Россельхозакадемии) и Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук» (ГНУ «ВНИМИ» Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 470 «Молоко и продукты переработки молока»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 ноября 2009 г. № 520-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Октябрь, 2011 г.

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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

© Стандартиформ, 2010
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2011

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

Содержание

1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	3
4 Средства измерений, вспомогательное оборудование и реактивы	3
5 Отбор проб	5
6 Порядок подготовки к проведению анализов	7
7 Условия проведения анализов	11
8 Методы анализа	11
8.1 Метод определения уровня бактериальной обсемененности сырого молока — редуктазная проба	11
8.2 Сычужно-бродильная проба	12
8.3 Сычужная проба	13
8.4 Метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)	14
8.5 Методы определения бактерий группы кишечных палочек (БГКП)	15
8.6 Методы определения технически вредных микроорганизмов (микроорганизмов порчи) молока и продуктов переработки молока для внутризаводского контроля	17
8.7 Методы микроскопических исследований	19
8.8 Метод определения промышленной стерильности	21
9 Требования, обеспечивающие безопасность	21
Приложение А (обязательное) Цветовая шкала для определения класса сырого молока по редуктазной пробе с резазурином	22
Библиография	23

МОЛОКО И ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ МОЛОКА

Методы микробиологического анализа

Milk and milk products. Methods of microbiological analysis

Дата введения — 2011—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молоко и продукты переработки молока и устанавливает методы микробиологического анализа.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 51446—99* (ИСО 7218—96) Микробиология. Продукты пищевые. Общие правила микробиологических исследований

ГОСТ Р 51652—2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

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

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

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

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

ГОСТ 12.1.019—79** Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 83—79 Реактивы. Натрий углекислый. Технические условия

ГОСТ 490—2006 Кислота молочная пищевая. Технические условия

ГОСТ 745—2003 Фольга алюминиевая для упаковки. Технические условия

ГОСТ 1341—97 Пергамент растительный. Технические условия

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

Общие технические условия

ГОСТ 2156—76 Натрий двууглекислый. Технические условия

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

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

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

ГОСТ 4159—79 Реактивы. Йод. Технические условия

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

* На территории Российской Федерации с 1 января 2010 г. действует ГОСТ Р ИСО 7218—2008.

** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

- ГОСТ 4198—75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия
 ГОСТ 4232—74 Реактивы. Калий йодистый. Технические условия
 ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия
 ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия
 ГОСТ 5556—81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия
 ГОСТ 6259—75 Реактивы. Глицерин. Технические условия
 ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия
 ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия
 ГОСТ 9284—75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия
 ГОСТ 10444.12—88 Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов
 ГОСТ 11311—76 Фенол каменноугольный. Технические условия
 ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия
 ГОСТ 13739—78 Масло иммерсионное для микроскопии. Технические требования. Методы испытаний

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

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

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

ГОСТ 17151—81 Посуда хозяйственная из листового алюминия. Общие технические условия

ГОСТ 17206—96 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

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

Общие технические условия

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

ГОСТ 23683—89 Парафины нефтяные твердые. Технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования*

ГОСТ 24363—80 Реактивы. Калия гидроокись. Технические условия

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

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

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

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

ГОСТ 27752—88 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия

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

ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные.

Часть 1. Общие требования

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 ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. 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.

* С 1 января 2010 г. действует ГОСТ Р 53228—2008 в части вновь разрабатываемых и модернизируемых весов; с 1 января 2013 г. — в части весов, разработанных до 1 января 2010 г.

** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 54075—2010.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины, установленные нормативным правовым актом Российской Федерации [1], ГОСТ Р 51446, ГОСТ Р 52738, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов; КМАФАнМ: Количество микроорганизмов, вырастающих и образующих видимые колонии на твердом питательном агаре при температуре $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$.

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

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

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

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

4 Средства измерений, вспомогательное оборудование и реактивы

Анализатор потенциометрический для контроля pH по ГОСТ 19881, диапазоном измерения pH 3—8, погрешностью измерения $\text{pH} \pm 0,02$.

Весы лабораторные по ГОСТ 24104, высокого и среднего классов точности, с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания $\pm 0,001$; 0,01 и 0,1 г.

Термостат жидкостный (редуктазник), позволяющий поддерживать температуру от 25°C до 55°C с отклонением от заданной температуры $\pm 1^\circ\text{C}$.

Стерилизатор паровой медицинский (автоклав).

Баня водяная с обогревом, позволяющая поддерживать температуру от 0°C до 100°C , с отклонением от заданной температуры $\pm 2^\circ\text{C}$.

Термостат жидкостной, позволяющий поддерживать температуру от 15°C до 55°C , с отклонением от заданной температуры $\pm 1^\circ\text{C}$.

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

Термостат суховоздушный с охлаждением.

Термометр стеклянный жидкостной (нертутный) по ГОСТ 28498, диапазоном измерения от 0°C до 100°C , ценой деления шкалы 1°C .

Шкаф сушильный, обеспечивающий поддержание температуры $(160 \pm 5)^\circ\text{C}$.

Часы по ГОСТ 27752 или таймер.

Прибор для счета колоний бактерий.

Микроскоп световой биологический.

Плитка электрическая по ГОСТ 14919.

Спиртовка СЛ—1 по ГОСТ 25336.

Петля бактериологическая.

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

Пробки резиновые конусные.

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

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

Фольга алюминиевая по ГОСТ 745.

Пергамент по ГОСТ 1341.

Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

Бумага индикаторная универсальная.

- Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.
 Пипетки 1—1(2)—1 по ГОСТ 29169.
 Пипетки 1—1(2)—1(2)—1(2, 5, 10) по ГОСТ 29227.
 Колбы мерные 2—50(100, 200, 500, 1000)—2 по ГОСТ 1770.
 Колбы конические Кн—2—100(250)—34 ТХС по ГОСТ 25336.
 Цилиндры 1(2)—50(100)—1 по ГОСТ 1770.
 Пробирки П1, П2—16—150 ТС по ГОСТ 25336.
 Пробирки П1, П2—21—200 ТС по ГОСТ 25336.
 Чашки Петри ЧБН-1—100 или ЧБН-2 по ГОСТ 25336.
 Стаканчики для взвешивания (бюксы) типов СВ и СН по ГОСТ 25336.
 Поплавки стеклянные.
 Стекло часовое.
 Стеклянные предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284.
 Стулки лабораторные фарфоровые с пестиком по ГОСТ 9147.
 Ланцет.
 Агар микробиологический по ГОСТ 17206.
 Желчь бычья сухая.
 Йод по ГОСТ 4159.
 Калий йодистый по ГОСТ 4232.
 Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198.
 Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный по ГОСТ 2493.
 Калия гидроокись по ГОСТ 24363, раствор массовой концентрацией 10 г/дм³.
 Кислота соляная по ГОСТ 3118.
 Кристаллический фиолетовый.
 Фенол каменноугольный (кислота карболовая) по ГОСТ 11311.
 Глицерин по ГОСТ 6259.
 Лактоза.
 Масло иммерсионное для микроскопии по ГОСТ 13739.
 Метиленовый голубой, индикатор.
 Натрий-аммоний фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 4170.
 Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, растворы массовой концентрацией 5 г/дм³, массовой долей 20 %, молярной концентрацией 0,1 моль/дм³.
 Кислота молочная по ГОСТ 490, раствор объемной долей 20 %.
 Натрий двууглекислый по ГОСТ 2156, раствор массовой концентрацией 100 г/дм³.
 Натрий лимоннокислый трехзамещенный по ГОСТ 22280.
 Натрий углекислый безводный по ГОСТ 83, раствор массовой концентрацией 100 г/дм³.
 Натрий хлористый по ГОСТ 4233.
 Парафин по ГОСТ 23683.
 Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей по ГОСТ 13805.
 Резазурино-натриевая соль.
 Контрольный образец сычужного фермента.
 Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ Р 51652 и спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.
 Среда Кесслера сухая, обеспечивающая размножение и газообразование тест-культуры *E. coli* через (24 ± 2) ч при температуре (37 ± 1) °С.
 Среда питательная сухая для определения КМАФАнМ, обеспечивающая формирование колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов при (30 ± 1) °С в течение 72 ч.
 Фуксин основной.
 Вода питьевая по [2].
 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
 Допускается применение других средств измерений, реактивов, по качеству и метрологическим характеристикам не уступающих перечисленным выше.

5 Отбор проб

5.1 Основные понятия и общие правила отбора проб — по ГОСТ 13928 и ГОСТ 26809.

5.2 Отбор проб для микробиологических анализов проводят перед отбором проб для физико-химических и органолептических анализов.

Контроль осуществляют путем анализа пробы, отобранной из транспортной или потребительской тары с продукцией, попавшей в выборку. Объем выборки для конкретного наименования продукта установлен требованиями ГОСТ 26809.

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

Перед отбором проб жидкие продукты необходимо тщательно перемешивать.

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

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

5.4 Перед вскрытием 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 (пропариванием, кипячением или хлорированием с последующим ополаскиванием питьевой водой).

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

Объединенную пробу в размере 0,50 дм³ для сырого молока или 0,25 дм³ для сырых сливок составляют из точечных проб, отобранных из каждой фляги или цистерны после органолептической оценки и определения кислотности по ГОСТ 3624.

Объединенную пробу пахты для промышленной переработки и молочной сыворотки в размере 0,25 дм³ составляют из точечных проб, отобранных из каждой фляги или цистерны.

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

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

От продукции в транспортной таре, попавшей в выборку, после тщательного перемешивания стерильными мутовкой или черпаком, отбирают 50—60 см³ продукта в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой.

Продукцию в потребительской таре (бутылках, пакетах и т. д.), попавшую в выборку, перед отбором проб перемешивают пятикратным переворачиванием. Продукцию, которую нет возможности перемешать вышеописанным способом, следует перемешивать после вскрытия упаковочной единицы стерильным шпателем. После перемешивания необходимое для исследования количество продукта (не менее 15—20 см³) отбирают стерильной пипеткой и помещают в стерильную посуду, которую затем закрывают стерильной пробкой.

5.7 Мороженое

От продукции, попавшей в выборку, стерильной ложкой снимают верхний слой толщиной не менее (2,5 ± 0,5) см, после чего стерильными щупом или ложкой отбирают пробу массой 40—50 г в стерильную посуду и закрывают стерильной пробкой.

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

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

В продукции в транспортной таре, попавшей в выборку, перед отбором пробы верхний слой продукта зачищают. Пробу отбирают стерильным щупом на расстоянии 3—5 см от края, направляя щуп наклонно к противоположной стороне и опуская на $\frac{3}{4}$ его длины.

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

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

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

От продукции в транспортной таре, попавшей в выборку, пробу отбирают стерильным шупом на расстоянии 3—5 см от края, направляя шуп к противоположной стороне и опуская на $\frac{3}{4}$ его длины. Из столбика продукта на шупе отбирают стерильным шпателем 15—20 г и помещают в стерильную посуду с плотно закрывающейся стерильной крышкой или стерильной пробкой. Оставшийся после отбора пробы столбик продукта на шупе возвращают на прежнее место, а поверхность продукта аккуратно заделывают.

5.10 Сыр и сырные продукты

В продукции, попавшей в выборку, в намеченном месте отбора пробы поверхность сыра прижимают нагретым ножом или шпателем. Стерильный шуп вводят наклонно в середину головки на $\frac{3}{4}$ его длины. Из столбика сыра на шупе отбирают стерильным шпателем 15—20 г сыра и помещают в стерильную посуду со стерильной пробкой или стерильную чашку Петри с крышкой. Верхнюю часть столбика сыра на шупе возвращают на прежнее место. Поверхность сыра заливают подогретым до $(100 \pm 10)^\circ\text{C}$ парафином или оплавливают нагретым металлическим шпателем.

5.11 Плавленный сыр и плавленные сырные продукты

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

5.12 Сгущенные продукты

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

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

Открывают банки стерильным консервным ножом, а пробку бочки — пробойником.

После вскрытия отверстие банки, бочки или фляги немедленно закрывают стерильным пергаментом, профламбированной жестяной крышкой или крышкой чашки Петри. Содержимое транспортной тары тщательно перемешивают стерильной мешалкой, содержимое потребительской тары — стерильной ложкой.

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

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

5.13 Сухие продукты

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

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

5.14 Стерилизованные и ультрапастеризованные продукты

От каждой партии продуктов отбирают пять упаковочных единиц (банок, бутылок, пакетов и др.).

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

5.15 Посуду с пробой или пробой в потребительской таре снабжают этикеткой, на которой указывают:

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

5.16 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 продукта;
- 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 (при необходимости);
- обозначение документа, в соответствии с которым изготовлен и может быть идентифицирован продукт.

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

Пробы следует хранить и транспортировать до начала исследования в условиях, обеспечивающих температуру продуктов не выше $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$, не допуская подмораживания.

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

6 Порядок подготовки к проведению анализов

6.1 Подготовка посуды и материалов

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

Посуда с питательными средами после подсчета на них БГКП, дрожжей, плесневых грибов, спорных микроорганизмов обеззараживается перед мойкой путем стерилизации в автоклаве при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (30 ± 1) мин или кипячением в течение 1 ч.

6.1.2 Вымытую и высушенную посуду стерилизуют в сушильном шкафу при температуре $(175 \pm 5)^\circ\text{C}$ в течение 1 ч или при температуре $(160 \pm 5)^\circ\text{C}$ в течение 2 ч, или в автоклаве при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (30 ± 1) мин с последующим подсушиванием.

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

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

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

Срок хранения стерильной посуды — не более 30 сут.

6.2 Приготовление питательных сред и реактивов

6.2.1 Для приготовления растворов питательных сред используют дистиллированную воду или подготовленную питьевую воду по 6.2.2. Использование дистиллированной воды должно быть оговорено в каждом конкретном случае и сопровождаться обязательным контролем pH.

Для приготовления растворов реактивов используют дистиллированную воду.

6.2.2 Подготовка питьевой воды

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

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

В колбу достаточной вместимости помещают навеску сухой питательной среды для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Масса навески среды — от 40 до 50 г (определяется инструкцией производителя). Навеску среды растворяют в 1000 см^3 воды. Допускается использование дистиллированной воды.

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

6.2.4 Питательные среды для определения БГКП

6.2.4.1 Приготовление жидкой питательной среды Кесслер

В колбу достаточной вместимости помещают навеску ($16,0 \pm 0,1$) г сухой питательной среды Кесслер, добавляют небольшое количество воды и перемешивают. Объем раствора доводят водой до 1000 см^3 . Допускается использование дистиллированной воды.

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

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

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

($35,0 \pm 0,1$) 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 в течение 7 сут при температуре (4 ± 2) °C приготовленной и разлитой в пробирки среды, прокипяченной на водяной бане или пастеризованной текучим паром в автоклаве ($30,0 \pm 0,5$) мин.

6.2.5 Приготовление раствора хлористого натрия

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают ($8,50 \pm 0,01$) г хлористого натрия. Добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор разливают по 10 см^3 в пробирки, по 93 см^3 в колбы вместимостью 100 см^3 и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °C в течение (20 ± 1) мин.

6.2.6 Приготовление концентрированного раствора фосфатного буфера

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

Стерилизуют при температуре (121 ± 1) °C в течение (20 ± 1) мин.

6.2.7 Приготовление разбавленного раствора фосфатного буфера

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают $1,25 \text{ см}^3$ концентрированного раствора фосфатного буфера, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор разливают по 10 см^3 в пробирки, по 93 см^3 в колбы вместимостью 100 см^3 , стерилизуют при температуре (121 ± 1) °C в течение (20 ± 1) мин и используют для приготовления разведений.

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

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

6.2.9 Приготовление раствора лимоннокислого натрия для разведений сыра

($20,00 \pm 0,01$) г трехзамещенного лимоннокислого натрия растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды, разливают в пробирки по 10 см^3 или в колбы по 93 см^3 и стерилизуют при температуре (121 ± 2) °C в течение (15 ± 1) мин.

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

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают $(10,00 \pm 0,01)$ г двууглекислого натрия, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки. Полученный раствор разливают по 10—20 см³ в пробирки и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °C в течение (15 ± 1) мин.

6.2.11 Приготовление реактивов для окраски по Граму

6.2.11.1 Приготовление насыщенного спиртового раствора кристаллического фиолетового
10 г кристаллического фиолетового растворяют в 100 см³ этилового спирта.

6.2.11.2 Приготовление водно-спиртового раствора кристаллического фиолетового
1 см³ насыщенного спиртового раствора кристаллического фиолетового по 6.2.11.1 растворяют в 10 см³ дистиллированной воды.

6.2.11.3 Приготовление раствора Люголя

2 г йодистого калия растворяют в 5—10 см³ 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 см³ дистиллированной воды.

6.2.11.4 Приготовление карболового раствора фуксина Циля

1 г основного кристаллического фуксина растирают в фарфоровой ступке с 5 г кристаллической карболовой кислоты и несколькими каплями глицерина. Во время растирания небольшими порциями прибавляют 96 %-ный этиловый спирт в количестве 10 см³. После того как краситель хорошо разотрется, приливают при постоянном помешивании 100 см³ дистиллированной воды. Раствор красителя фильтруют через влажный бумажный фильтр. Фуксин Циля хранят в посуде из темного стекла с притертой пробкой в течение 30 сут.

6.2.11.5 Приготовление водно-спиртового раствора фуксина (раствора Пфейфера)

К одной части карболового фуксина Циля приливают девять частей дистиллированной воды. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

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

6.2.12.1 Приготовление реактива 1

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают $(0,50 \pm 0,01)$ г кристаллического фиолетового, добавляют небольшое количество этилового спирта и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят этиловым спиртом до метки.

6.2.12.2 Приготовление реактива 2

К 96 см³ спиртового раствора йодистого калия массовой концентрацией 5 г/дм³ добавляют 2 см³ спиртового раствора основного фуксина массовой концентрацией 50 г/дм³ и 2 см³ спиртового раствора йода массовой концентрацией 50 г/дм³. Приготовление спиртового раствора йодистого калия проводят на водяной бане при температуре (45 ± 5) °C при постоянном помешивании.

6.2.13 Приготовление раствора метиленового голубого для окраски препаратов

6.2.13.1 Приготовление основного спиртового раствора метиленового голубого

В коническую колбу вместимостью 150 см³ помещают $(10,00 \pm 0,01)$ г метиленового голубого, приливают 100 см³ 96 %-ного этилового спирта, закрывают пробкой и тщательно перемешивают. Раствор ставят в термостат при температуре (37 ± 1) °C на 24 ч, затем фильтруют через сухой складчатый фильтр в термостате при той же температуре.

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

6.2.13.2 Приготовление рабочего раствора метиленового голубого для окраски препаратов

К 30 см³ основного спиртового раствора метиленового голубого, приготовленного по 6.2.13.1, добавляют 100 см³ дистиллированной воды и 1 см³ раствора гидроксида калия массовой концентрацией 10 г/дм³.

6.2.14 Приготовление растворов резазурино-натриевой соли

6.2.14.1 Приготовление основного раствора резазурино-натриевой соли

Основной раствор резазурино-натриевой соли готовят следующим образом: $(0,100 \pm 0,001)$ г резазурино-натриевой соли переносят в мерную колбу вместимостью 200 см³ и растворяют в небольшом количестве прокипяченной и охлажденной до температуры (25 ± 2) °C дистиллированной воды. Объем раствора доводят до метки прокипяченной и охлажденной до температуры (25 ± 2) °C дистиллированной водой. Смесь тщательно перемешивают.

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

6.2.14.2 Приготовление рабочего раствора резазурино-натриевой соли

Рабочий раствор резазурино-натриевой соли готовят разбавлением основного раствора прокипяченной и охлажденной до температуры (25 ± 2) °С дистиллированной водой в соотношении 1:2,5 (например, смешивают 10 см³ основного раствора и 25 см³ дистиллированной воды). Массовая доля резазурина в рабочем растворе составляет 0,014 %.

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

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

6.2.15 Приготовление раствора контрольного образца сычужного фермента (КО СФ)

1 г контрольного образца сычужного фермента с активностью 100 тыс. ед. растворяют в 100 см³ дистиллированной воды при температуре (30 ± 1) °С, перемешивают и выдерживают до проведения анализа не менее 15 мин.

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

6.2.16 Определение активной кислотности (pH) среды

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

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

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

6.3 Подготовка проб к анализу

6.3.1 Молоко, сливки

Отобранные пробы перед исследованием тщательно перемешивают.

6.3.2 Кисломолочные и сквашенные продукты, сметана, закваски

Отобранные пробы перед анализом перемешивают и нейтрализуют.

Для этого в стерильную колбу вместимостью 50 см³ стерильно отбирают $(10,0 \pm 0,1)$ г/см³ исследуемого продукта или закваски и добавляют 1 см³ стерильного раствора двууглекислого натрия, приготовленного по 6.2.10, содержащее перемешивают.

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

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

6.3.4 Сгущенные продукты

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

6.3.5 Сухие продукты

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

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

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

6.3.7 Мороженое

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

6.4 Приготовление разведений продуктов для посева

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

Для приготовления разведений готовят все необходимые стерильные материалы и посуду в соответствии со спецификой анализа исследуемого продукта: пробирки с 9 см³ или колбы с 90 см³ растворов хлористого натрия или фосфатного буфера.

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

6.4.2 Из проб продуктов, подготовленных по 6.3.1 и 6.3.2, отбирают стерильной пипеткой 10 см³ и вносят в 90 см³ стерильных растворов хлористого натрия или фосфатного буфера. Получают разведение 1:10. Из первого разведения 1:10 готовят ряд последующих разведений 1:100, 1:1000 и т. д.

Из первого разведения 1:10 готовят последующие 1:100 и т. д., беря 1 см³ предыдущего разведения и добавляя его в пробирку с 9 см³ раствора для разведений.

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

6.4.4 К приготовленным навескам по (10,0 ± 0,1) г продуктов, подготовленных по 6.3.3, 6.3.4, 6.3.5, добавляют 90 см³ стерильных растворов хлористого натрия или фосфатного буфера, подогретых от 40 °С до 45 °С, и взбалтывают в течение 3—5 мин до возможно более полного эмульгирования. Получают разведение 1:10.

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

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

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

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

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

6.4.7 Из расплавленных проб масла, мороженого, подготовленных по 6.3.6 и 6.3.7, отбирают стерильной пипеткой по (10,0 ± 0,1) см³ и вносят в 90 см³ стерильных растворов хлористого натрия или фосфатного буфера, подогретых от 40 °С до 45 °С, и взбалтывают в течение 3—5 мин до возможно более полного эмульгирования. Получают разведение 1:10.

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

7 Условия проведения анализов

При выполнении анализов в лаборатории следует соблюдать следующие условия:

температура окружающего воздуха (20 ± 5) °С;
относительная влажность воздуха от 30 % до 80 %;
атмосферное давление от 84 до 106 кПа.

8 Методы анализа

8.1 Метод определения уровня бактериальной обсемененности сырого молока — редуказная проба

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

8.1.1 Сущность метода

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

8.1.2 Проведение анализа

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

В пробирки наливают по 1 см³ рабочего раствора резазурина по 6.2.14.2 и по 10 см³ исследуемого сырого молока, закрывают резиновыми пробками и смешивают путем медленного трехкратного переворачивания пробирок. Пробирки помещают в редуктазник с температурой воды (37 ± 1) °С.

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

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

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

Время погружения пробирок в редуктазник считают началом анализа.

Показания снимают через 1 ч.

Появление окрашивания молока в этих пробирках при встряхивании не учитывают.

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

8.1.3 Обработка результатов

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

Таблица 1

Класс	Продолжительность изменения цвета	Окраска молока	Ориентировочное количество бактерий в 1 см ³ молока
I	Через 1 ч	От серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком	До 500 тыс.
II	Через 1 ч	Сиреневая с розовым оттенком или ярко-розовая	От 500 тыс. до 4 млн

П р и м е ч а н и я

1 Для оценки качества сырого молока при бактериальной обсемененности до 100 тыс. в 1 см³ используют посев на чашки Петри на среду КМАФАнМ по 8.4.

2 При бактериальной обсемененности сырого молока до 300 тыс. время выдержки проб составляет 1,5 ч. Окраска сырого молока — от серо-сиреневой до сиреневой со слабым серым оттенком.

3 Цвет сырого молока от бледно-розового до белого через 1 ч выдержки свидетельствует о бактериальной обсемененности свыше 4 млн жизнеспособных клеток.

Цветовая шкала для определения класса сырого молока по редуктазной пробе с резазурином представлена в приложении А.

8.2 Сычужно-бродильная проба**8.2.1 Сущность метода**

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

8.2.2 Проведение анализа

В чисто вымытые широкие пробирки, хорошо просушенные и ополоснутые два-три раза сырым молоком, из которого отбирают пробу, наливают около 30 см³ молока. Затем вносят в каждую пробирку по 1 см³ раствора контрольного образца сычужного фермента по 6.2.15, хорошо перемешивают и ставят на 12 ч в водяную баню или термостат при температуре (38 ± 1) °С, после чего вынимают из бани и проводят визуальную оценку.

8.2.3 Обработка результатов

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

Таблица 2

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

Сырое молоко с оценкой «хорошее» и «удовлетворительное» (I и II класс соответственно) считается пригодным для производства сыра, молоко с оценкой «неудовлетворительное» (III класс) — не пригодным для производства сыра.

8.3 Сычужная проба

8.3.1 Сущность метода

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

8.3.2 Проведение анализа

Сырое молоко от индивидуальных сдатчиков, не подвергнутое температурной обработке, пастеризуют в лабораторных условиях. Для этого в колбу вместимостью 250 см³ помещают около 150 см³ молока, закрывают пробкой или фольгой. Колбу с молоком помещают в водяную баню с температурой (64 ± 1) °C и выдерживают в течение 30 мин, после чего молоко в колбе охлаждают до температуры (38 ± 1) °C.

Пастеризованное молоко разливают в четыре пробирки по 30 см³, доводят до температуры (38 ± 1) °C в водяной бане или термостате.

Пастеризацию молока допускается проводить непосредственно в пробирках: сырое молоко разливают в четыре пробирки по 30 см³, пробирки с молоком помещают в водяную баню с температурой (64 ± 1) °C и выдерживают в течение 30 мин, после чего молоко в пробирках охлаждают до температуры (38 ± 1) °C.

Затем в две пробирки вносят по 0,5 см³, в другие две пробирки по 1,0 см³ раствора контрольного образца сычужного фермента по 6.2.15, хорошо перемешивают и ставят на 1 ч при температуре (38 ± 1) °C в водяную баню или термостат.

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

8.3.3 Обработка результатов

Для оценки молока на свертываемость сначала осматривают сгусток, поворачивая каждую пробирку на 180°. При хорошем или удовлетворительном качестве сгустка он не должен выпадать из пробирки. Затем осторожно с помощью шпателя отодвигают сгусток от стенки пробирки, переносят его в чашку Петри и характеризуют сгусток в соответствии с таблицей 3.

Таблица 3

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

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

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

8.4.1 Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на твердой питательной среде КМАФАнМ при температуре $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 72 ч.

8.4.2 Проведение анализа

8.4.2.1 Выбор разведений для посева

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

8.4.2.2 Посев

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

Делают посев из разведений, указанных в таблице 4.

Таблица 4

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева		
Сырое молоко и сливки, см ³	0,001	0,0001	0,00001
Пахта для промышленной переработки, см ³	0,001	0,0001	0,00001
Пастеризованное молоко, сливки, пахта и сыворотка и пастеризованные молочные напитки, коктейли, кисели, см ³	0,1	0,01	0,001
Ультрапастеризованное молоко без асептического розлива, см ³	1,0	0,1	—
Топленое молоко, см ³	0,1	0,01	—
Сгущенные с сахаром молоко или сливки, какао и кофе со сгущенным молоком и сахаром, сгущенные продукты из пахты, сыворотки, см ³	0,1	0,01	0,001
Сухое молоко, сухие сливки, 3ЦМ, сухие продукты из пахты, сыворотки, г	0,01	0,001	0,0001
Плавленный сыр, плавленые сырные продукты, сырные соусы, пасты, г	0,1	0,01	0,001
Сливочное масло и масляная паста, г	0,01	0,001	0,0001
Спреды, г	0,01	0,001	0,0001
Мороженое, г	0,01	0,001	0,0001
Молочный жир, топленое масло, смеси топленые, г	0,1	0,01	0,001
Молочный альбумин, г	0,001	0,0001	0,00001
Молочный сахар, г	0,1	0,01	0,001
Казеин, казеинаты, г	0,1	0,01	0,001

Каждое из разведений должно быть засеяно в количестве 1 см³ в одну чашку Петри с заранее маркированной крышкой и залито (14 ± 1) см³ расплавленной и охлажденной до температуры 40°C — 45°C питательной средой для определения КМАФАнМ по 6.2.3.

Допускается посев исследуемого продукта на чашки Петри из одного и того же разведения в количестве 1,0 и 0,1 см³.

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

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

8.4.2.3 Культивирование

После застывания среды чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат при температуре $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ на 72 ч.

8.4.3 Обработка результатов

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

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

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

8.4.3.1 Определение среднеарифметического количества микроорганизмов

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

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

где n — количество колоний, подсчитанных на чашке Петри;

m — количество десятикратных разведений.

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

8.4.3.2 Средневзвешенное значение количества микроорганизмов при проведении двух параллельных определений рассчитывают в соответствии с ГОСТ Р 51446.

8.5 Методы определения бактерий группы кишечных палочек (БГКП)

8.5.1 Метод определения БГКП по признакам роста на жидкой среде Кесслер

8.5.1.1 Сущность метода

Метод основан на способности БГКП сбраживать в питательной среде лактозу с образованием газа и кислоты при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. Признак роста БГКП на жидкой среде Кесслер — визуально наблюдаемое накопление газа в поплавке.

8.5.1.2 Проведение анализа

Посев продуктов или их разведений в жидкую среду Кесслер, приготовленную по 6.2.4.1, проводят в количествах, указанных в таблице 5.

Таблица 5

Наименование продукта	Засеваемые объем или масса продукта
Сырое молоко и сливки, см^3	От 0,1 до 0,00001
Пахта для промышленной переработки, молочная сыворотка для производства напитков, см^3	От 0,1 до 0,01
Молочная сыворотка для производства других пищевых продуктов, см^3	От 0,1 до 0,001
Отобранные после пастеризации молоко и сливки, ультрапастеризованное молоко (без асептического розлива), см^3	10
Пастеризованное молоко и сливки, молоко с компонентами, кисломолочные продукты и напитки с компонентами и без компонентов, жидкий ЗЦМ, см^3	1; 0,1; 0,01
Топленое молоко, см^3	1
Творог, творожные продукты, г	От 0,1 до 0,001
Термически обработанные творожные продукты, см^3	0,1

Окончание таблицы 5

Наименование продукта	Засаеваемый объем или масса продукта
Сметана, см ³	От 0,1 до 0,001
Термизированные сметанные продукты, см ³	0,1
Мороженое, сухие смеси для мороженого, г	0,1; 0,01
Масло из коровьего молока, г	0,1; 0,01
Сыры и сырные продукты, г	0,01; 0,001
Плавленные сыры и плавленные сырные продукты, г	0,1; 0,01
Сгущенные с сахаром молоко и сливки, какао и кофе со сгущенным молоком и сахаром в потребительской таре, см ³	1,0
Сгущенные с сахаром молоко и сливки, какао и кофе со сгущенным молоком и сахаром в транспортной таре, см ³	0,1
Сухое молоко, сухие сливки, молочный сахар, ЗЦМ и другие сухие продукты, г	0,1
Казеин, казеинаты и др., г	1,0; 0,1
Молочный альбумин и продукты на его основе, г	От 0,1 до 0,001
Кефирная закваска, см ³	3,0
Закваска на чистых культурах, см ³	10,0
Сухой бактериальный концентрат, г	1,0
Сухая закваска, г	1,0
Замороженный бактериальный концентрат, г	10,0

По 1 см³ соответствующих разведений продукта засевают в пробирку с 5 см³ жидкой среды Кесслер по 6.2.4.1. Каждое разведение засеивается в одну пробирку со средой.

Посев 10 см³ пастеризованного молока, отобранного после пастеризатора, 10 см³ закваски на чистых культурах, 3 см³ кефирной закваски, 10 см³ замороженного бактериального концентрата или 10 см³ разведения 1:10 сгущенных молочных продуктов с сахаром проводят в колбы с 40—50 см³ жидкой среды Кесслер.

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

8.5.1.3 Обработка результатов

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

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

При отсутствии газообразования в наименьшем из засеваемых объемов дают заключение об отсутствии БГКП в нем.

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

8.5.2.1 Сущность метода

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

8.5.2.2 Проведение анализа

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

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

При поверхностном способе посева перед выполнением анализа проводят подготовку питательной среды. Для этого свежеприготовленную среду или среду после хранения, расплавленную на водяной бане, охлаждают до $(50,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ и разливают в стерильные чашки Петри по 12—15 см³. Дно чашки должно быть равномерно покрыто слоем среды высотой около 2 мм. Чашки оставляют полуоткрытыми для подсушивания на (60 ± 5) мин в стерильных условиях (в боксе или специально обработанном термостате). После подсушивания среды чашки закрывают, маркируют и используют для проведения анализа.

При поверхностном способе посева каждое из выбранных разведений засевают по 0,1 или 0,2 см³ и равномерно по всей поверхности втирают посевной материал в питательную среду стерильным шпателем Дригальского.

При глубинном способе посева каждое разведение должно быть засеяно по 1 см³ в отдельную чашку Петри и залито расплавленной и охлажденной до 45°C средой. После внесения среды содержимое чашки тщательно перемешивают путем легкого вращательного движения для равномерного распределения посевного материала. Чашки оставляют на горизонтальной поверхности для застывания агара.

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

После посева чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в термостат с температурой $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ на 16—24 ч. Подсчет колоний проводят через 24 ч.

8.5.2.3 Обработка результатов

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

При поверхностном посеве для пересчета результатов на 1 г или 1 см³ продукта число колоний, выросших на каждой чашке Петри, умножают на 10 и на соответствующее разведение при посеве 0,1 см³; и умножают на 5 и на соответствующее разведение при посеве 0,2 см³.

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

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

Количество БГКП продукта вычисляют как среднеарифметическое по 8.4.3.1 или как средневзвешенное значение по 8.4.3.2.

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

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

8.6.1.1 Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на твердой питательной среде КМАФАнМ при температуре $(7 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 7—10 сут и предназначен для оценки санитарно-гигиенических условий получения, хранения и транспортирования сырого молока, а также выявления причин микробиологической порчи продуктов переработки молока.

8.6.1.2 Проведение анализа

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

Таблица 6

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

Для определения общего количества психротрофных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает не менее 15 и не более 300 колоний. Из каждой пробы делают посев из разведений, указанных в таблице 6. Каждое из разведений

должно быть засеяно в количестве 1 см^3 в одну чашку Петри с заранее маркированной крышкой и залито $10\text{—}15 \text{ см}^3$ расплавленной и охлажденной до температуры $40\text{—}45\text{ }^{\circ}\text{C}$ питательной средой КМАФАнМ, приготовленной по 6.2.3.

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

После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат с температурой $(7 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ на $7\text{—}10$ сут.

8.6.1.3 Обработка результатов

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

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

8.6.2.1 Сущность метода

Метод основан на подсчете колоний термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на твердой питательной среде КМАФАнМ при температуре $(44 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 72 ч , и предназначен для оценки санитарно-гигиенических условий получения сырого молока и выявления источника микробиологической порчи продуктов переработки молока.

8.6.2.2 Проведение анализа

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

Таблица 7

Наименование продукта	Объем или масса продукта, рекомендуемые для посева		
Сырое молоко и сливки, см^3	0,1	0,01	0,001
Масло из коровьего молока, масляная паста, спреда, г	0,1	0,01	0,001
Плавленный сыр и плавленые сырные продукты, г	0,1	0,01	0,001
Сухие продукты из молока, сливок, пахты, сыворотки, г	0,1	0,01	—

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

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

После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в термостат с температурой $(44 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 72 ч .

8.6.2.3 Обработка результатов

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

8.6.3 Метод определения спор аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

8.6.3.1 Сущность метода

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

8.6.3.2 Проведение анализа

Для определения количества спор аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов проводят посев $0,1$ и $0,01 \text{ см}^3$ или г продукта.

Посевной материал (разведения продукта) прогревают в водяной бане при температуре $(88 \pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение (12 ± 2) мин, охлаждают до температуры $(23 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Из каждого подготовленного разведения делают посев по 1 см³ на одну чашку Петри с заранее промаркированной крышкой. Каждую чашку Петри заливают 10—15 см³ питательной среды КМАФАнМ, приготовленной по 6.2.3, охлажденной до (45 ± 1) °С, тщательно перемешивают и оставляют до застывания.

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

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

8.6.3.3 Обработка результатов

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

Количество спор аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 см³ или 1 г сырого молока, сырых сливок или продуктов переработки молока подсчитывают по 8.4.3.

8.6.4 Метод определения спор мезофильных анаэробных бактерий

Определение содержания спор мезофильных анаэробных бактерий проводят по ГОСТ 25102.

8.6.5 Метод определения дрожжей и плесневых грибов

Определение содержания дрожжей и плесневых грибов проводят по ГОСТ 10444.12.

8.7 Методы микроскопических исследований

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

8.7.1 Сущность метода

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

При микроскопическом исследовании учитываются как жизнеспособные, так и нежизнеспособные клетки микроорганизмов, при этом чувствительность метода — не менее 10⁵ клеток в 1 см³ или 1 г исследуемого продукта.

8.7.2 Подготовка к проведению анализа

8.7.2.1 Приготовление микропрепарата

Для приготовления препарата жидкого продукта по 6.3.1 и 6.3.2 на чистое предметное стекло наносят петлей каплю продукта и распределяют на площади 1—2 см².

Для приготовления препарата из творога, творожных продуктов, творожных сырков, сырных и альбуминовых паст на стекло наносят каплю воды, вводят в нее петлей исследуемый материал, тщательно перемешивают и растирают на площади 1—2 см².

Для приготовления препарата из твердых продуктов — сыр, сырные продукты и т. д. их тщательно растирают со стерильной водой в стерильной ступке. Затем полученную массу петлей наносят на чистое предметное стекло и распределяют на площади 1—2 см².

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

Приготовленные микропрепараты высушивают при комнатной температуре на воздухе.

8.7.2.2 Фиксирование микропрепарата

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

8.7.2.3 Окрашивание микропрепарата метиленовым голубым

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

Окрашенный мазок высушивают на воздухе.

8.7.2.4 Окрашивание микропрепарата по Граму

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

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

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

Микропрепарат тщательно промывают водой.

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

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

На предметное стекло в каплю воды с внесенной агаровой культурой вносят петлей каплю реактива 1, приготовленного по 6.2.12.1. Смесь распределяют на площади 1—2 см², просушивают при (20 ± 2) °С и фиксируют по 8.7.2.2. Препарат ополаскивают водой и тщательно просушивают фильтровальной бумагой.

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

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

8.7.3 Проведение анализа

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

8.7.4 Обработка результатов

Ориентировочный состав микрофлоры кисломолочных продуктов в микропрепаратах определяют по таблице 8.

Т а б л и ц а 8

Наименование продуктов	Ориентировочный состав микрофлоры	Характеристика микропрепарата
Творог, творожные продукты, сметана	Лактококки или лактококки и термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков
Простокваша	Лактококки и (или) термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков
Мечниковская простокваша, йогурт	Термофильные молочнокислые стрептококки и болгарская палочка	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков, палочки одиночные, в парах, цепочки палочек
Ряженка	Термофильные молочнокислые стрептококки или термофильные молочнокислые стрептококки и болгарская палочка	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков или кокки, диплококки, длинные цепочки кокков и крупные палочки одиночные, в парах, цепочках
Варенец	Термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков
Кумыс, кумысный продукт	Болгарская и ацидофильная молочнокислые палочки, дрожжи	Крупные палочки одиночные, в парах, в цепочках, единичные дрожжи
Айран	Термофильные молочнокислые стрептококки, болгарская палочка, дрожжи	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков, крупные палочки одиночные, в парах, цепочки, единичные дрожжи не в каждом поле зрения
Кефир	Лактококки, молочнокислые палочки, дрожжи	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, в парах, в цепочках, единичные дрожжи не в каждом поле зрения

Окончание таблицы 8

Наименование продуктов	Ориентировочный состав микрофлоры	Характеристика микропрепарата
Ацидофилин	Ацидофильная молочнокислая палочка, лактококки и дрожжи	Крупные палочки одиночные и в парах, короткие цепочки палочек, кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, возможно наличие дрожжей
Биоигурт, биорженка	Термофильные молочнокислые стрептококки, болгарская палочка, бифидобактерии	Кокки, диплококки, крупные и тонкие палочки
Актифилин, био-сметана	Лактококки, бифидобактерии, <i>L. casei</i>	Кокки, диплококки, цепочки кокков, тонкие палочки
Бифитон	Лактококки, пропионовокислые бактерии, бифидобактерии	Кокки, диплококки, тонкие палочки

8.8 Метод определения промышленной стерильности

8.8.1 Сущность метода

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

8.8.2 Проведение анализа

Отобранную потребительскую тару со стерилизованным продуктом выдерживают в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3—5 сут.

По истечении срока термостатной выдержки потребительскую тару с продуктом охлаждают до $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ и подвергают внешнему осмотру. При наличии вздутия крышки или доньшка, не опадающего при нажатии пальцами, упаковку с продуктом считают бомбажной.

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

8.8.3 Обработка результатов

В стерилизованном продукте после термостатной выдержки не должно происходить органолептических изменений. Допускается изменение титруемой кислотности стерилизованного продукта не более чем на 2°T . Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов не должно превышать 10 КОЕ/см^3 (г), 100 КОЕ/г — для стерилизованного масла и плавленого сыра.

Для стерилизованного сливочного масла взамен титруемой кислотности контролируют кислотность жировой фазы по ГОСТ 3624 с изменением значения показателя не более чем $0,5^\circ\text{K}$.

Продукт считается промышленно стерильным, если отвечает всем вышеперечисленным требованиям.

9 Требования, обеспечивающие безопасность

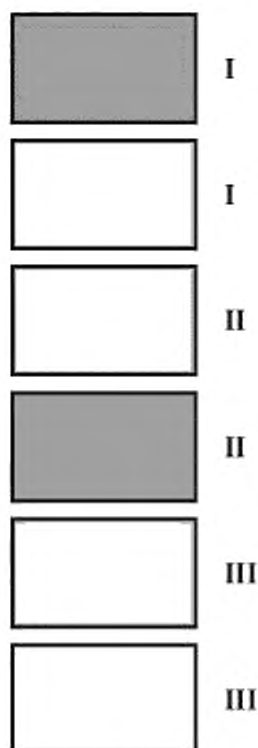
При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования:

- помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021;
 - содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005;
 - безопасность при работе с химическими реактивами в соответствии с ГОСТ 12.1.007;
 - требования безопасности при работе в микробиологической лаборатории с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) по [3];
 - требования техники безопасности при работе с электроустановками в соответствии с ГОСТ 12.1.019.
- Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

Приложение А
(обязательное)

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

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



I — окраска молока I класса; II — окраска молока II класса, III — окраска молока при бактериальной обсемененности свыше 4 млн жизнеспособных клеток

Рисунок А.1 — Цветовая шкала

Библиография

- [1] Федеральный Закон Российской Федерации от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ «Технический Регламент на молоко и молочную продукцию»
- [2] СанПиН 2.1.4.1074—01 Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества
- [3] СП 1.3.2322—08 Санитарно-эпидемиологические правила. Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней

УДК 576.8:006.354

ОКС 67.100.10

Н19

ОКП 92 2000

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

Редактор *М. И. Максимова*
Технический редактор *В. Н. Прусакова*
Корректор *С. И. Фирсова*
Компьютерная верстка *В. Н. Романовой*

Подписано в печать 23.11.2011. Формат 60х84¹/₈. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 3,26. Уч.-изд. л. 2,23. Тираж 45 экз. Зак. 1119.

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

Набрано в Калужской типографии стандартов.

Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.