
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р
50396.1—
2010

МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И ПОЛУФАБРИКАТЫ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ

**Метод определения количества мезофильных
аэробных и факультативно-анаэробных
микроорганизмов**

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 Всероссийским научно-исследовательским институтом птицеперерабатывающей промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИПП Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 116 «Продукты переработки птицы, яиц и сублимационной сушки»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 сентября 2010 г. № 273-ст

4 ВЗАМЕН ГОСТ Р 50396.1—92

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, 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

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И ПОЛУФАБРИКАТЫ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ

Метод определения количества мезофильных аэробных
и факультативно-анаэробных микроорганизмов

Poultry meat, edible offal and ready-to-cook poultry meat. Method for quantity determination of mesophilic aerobic and facultative-anaerobic microorganisms

Дата введения — 2011—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы (далее — продукт) и устанавливает метод определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 7218—2008 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ Р ИСО 11133-1—2008 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культуральных сред в лаборатории

ГОСТ Р 50396.0—92 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птицы. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям

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

ГОСТ Р 53597—2009 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям

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

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

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

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

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.

3 Сущность метода

Метод основан на высеве определенного количества продукта в агаризованную культуральную среду, аэробном культивировании посевов при температуре $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (72 ± 3) ч, подсчете всех выросших видимых колоний и определении количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 г продукта.

4 Общие положения

4.1 Общие требования к проведению микробиологических исследований — по ГОСТ Р ИСО 7218.

4.2 Требования безопасности

Требования безопасности при работе с микроорганизмами — по [1], [2]; с химическими реактивами — по ГОСТ 12.1.007; с электрооборудованием — по ГОСТ 12.1.019.

Требования пожарной безопасности — по ГОСТ 12.1.004.

4.3 Требования к персоналу — по ГОСТ Р ИСО 7218.

5 Средства измерений, аппаратура, реактивы, материалы

5.1 Средства измерений, аппаратура, реактивы и материалы — по ГОСТ Р 50396.0 со следующими дополнениями:

- посуда одноразовая для микробиологических исследований;
- пипетки градуированные или автоматические вместимостью 10, 2, 1 см³ по ГОСТ 29227;
- pH-метр по ГОСТ Р ИСО 7218;
- печь микроволновая для расплавления питательных сред по ГОСТ Р ИСО 7218;
- прибор для подсчета колоний по ГОСТ Р ИСО 7218;
- материалы для упаковки посуды при стерилизации;
- спирт этиловый ректификованный по ГОСТ Р 51652;
- лупа по ГОСТ 25706.

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

6 Подготовка к проведению исследования

6.1 Отбор и подготовку проб к исследованиям проводят по ГОСТ Р 53597, ГОСТ Р 50396.0.

6.2 Приготовление разведений проводят по ГОСТ 26669.

6.3 Подготовка посуды и материалов — по ГОСТ Р ИСО 7218, контроль посуды на стерильность проводят по [3].

6.4 Приготовление культуральных сред

Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления культуральных сред — по ГОСТ Р ИСО 11133-1.

6.4.1 Глюкозо-триптонный (агар) бульон по ГОСТ 10444.1.

6.4.2 Мясо-пептонный агар по ГОСТ Р 50396.0.

6.4.3 Мясо-пептонный агар с глюкозой по ГОСТ Р 50396.0.

6.4.4 Мясо-пептонный агар с глюкозой и дрожжевым экстрактом по ГОСТ Р 50396.0.

6.4.5 Допускается использование других готовых и сухих дегидратированных, культуральных сред отечественного и зарубежного производства, предназначенных для выявления и определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

6.4.6 Приготовление и правила использования сухих культуральных сред промышленного производства проводят по техническому документу.

6.4.7 Каждое опытное употребление культуральных сред должно давать гарантию их годности.

Контроль культуральных сред — по ГОСТ Р ИСО 11133-1, [4].

Сроки и условия хранения культуральных сред — по ГОСТ Р ИСО 11133-1, [4].

7 Проведение исследования

7.1 Из навески подготовленной пробы продукта (см. 6.1.1) готовят исходное и ряд 10-кратных разведений (см. 6.1.2) до такой степени, чтобы можно было определить предполагаемое количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 г исследуемого продукта.

Для определения общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов выбирают те разведения, при посеве которых на чашках вырастает не более 300 колоний.

7.2 Посевы проводят глубинным агаровым методом. Перед посевом чашки маркируют. На дне чашки Петри маркером ставят номер исследуемого образца продукта, разведение и дату.

Высевают одновременно в две чашки Петри (параллельные определения) по 1 см³ соответствующих последовательных разведений. Пипетку с посевным материалом держат под углом 45°, не касаясь концом пипетки дна чашки.

В каждую чашку Петри с посевным материалом не позднее чем через 15 мин добавляют (18 ± 2) см³ одну из агаризованных расплавленных и охлажденных до температуры (45 ± 1) °С культуральных сред (см. 6.3). Чашки с посевами, залитыми культуральной средой, осторожно покачивают или вращают для равномерного распределения посевного материала во всей культуральной среде.

Чашки Петри с посевами расставляют на горизонтальной поверхности до полного застывания культуральной среды.

7.3 Для предотвращения роста микроорганизмов, образующих налеты на поверхности среды (ползучий рост), в чашки Петри с посевным материалом наливают (13 ± 2) см³ выбранной культуральной среды, перемешивают и после застывания на нее наливают без перемешивания второй слой (5 ± 2) см³ этой же разогретой и охлажденной до температуры (45 ± 1) °С культуральной среды.

7.4 После застывания среды чашки с посевами, перевернутые дном вверх, культивируют в термостате при температуре (30 ± 1) °С в течение (72 ± 3) ч. Допускается предварительный учет количества выросших колоний через (48 ± 1) ч с последующим окончательным учетом еще через (24 ± 1) ч. Чашки Петри с посевами распределяют в термостате по ГОСТ Р ИСО 7218.

8 Обработка результатов исследований

8.1 Результаты исследований оценивают по каждой пробе отдельно.

8.2 Подсчет микроорганизмов

8.2.1 Для подсчета количества микроорганизмов учитывают все выросшие колонии. Подсчет проводят невооруженным глазом или с помощью лупы по ГОСТ 25706 или специально предназначенного для подсчета колоний прибора по ГОСТ Р ИСО 7218.

Подсчет проводят в посевах того разведения, количество колоний в котором не более 300.

Для получения достоверных результатов при подсчете количества колоний необходимо, чтобы хотя бы в одной чашке содержалось не менее 15 колоний.

8.2.2 Количество микроорганизмов N в 1 г продукта вычисляют как средневзвешенное значение из подсчетов двух последовательных разведений по формуле

$$N = \frac{\Sigma C}{V(n_1 + 0,1n_2)d}, \quad (1)$$

где ΣC — сумма колоний, подсчитанных на всех чашках в двух последовательных разведениях, из которых хотя бы в одной из них содержалось не менее 15 колоний;

V — объем посевного материала, внесенного в чашку, см³;

n_1 — число отобранных для подсчета чашек первого выбранного разведения;

n_2 — число отобранных для подсчета чашек последующего разведения;

d — коэффициент разбавления, соответствующий первому выбранному разведению.

Пример

$$N = \frac{\Sigma C}{V(n_1 + 0,1n_2)d} = \frac{210 + 172 + 26 + 29}{1 \cdot (2 + 0,1 \cdot 2) \cdot 10^{-3}} = \frac{437}{0,0022} = 198636 = 1,9 \cdot 10^5.$$

Результаты вычисления округляют. Для этого, если последняя цифра меньше пяти, предшествующую цифру не изменяют; если последняя цифра равна или больше пяти, предшествующую цифру увеличивают на единицу. Округление проводят поэтапно, до двух значащих цифр.

8.2.3 Результаты вычисления количества микроорганизмов в 1 г продукта выражают числом колониеобразующих единиц (КОЕ) от 1,0 до 9,9, умноженным на 10^n и записывают «КМАФАНМ $N \times 10^n$ КОЕ/г продукта».

В случае, если в каждой из двух чашек исходной суспензии продукта не содержится ни одной колонии, результаты выражают следующим образом:

менее $\frac{1}{d}$ микроорганизма в 1 г продукта и записывают «КМАФАНМ < 10 КОЕ/г».

8.2.4 Допускается для целей экспрессного выявления и определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов использовать следующее:

- подложки или пластины в виде подготовленной тест-системы, содержащей набор питательных веществ;

- бактериологические анализаторы, основанные на оптико-электронном принципе;

- другие методы, зарегистрированные и разрешенные к применению в Российской Федерации.

Проведение анализа и учет результатов с использованием таких методов проводят по методическим инструкциям, утвержденным в установленном порядке.

Библиография

- | | |
|------------------------|--|
| [1] СП 1.3.2322—2008 | Санитарно-эпидемиологические правила. Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней |
| [2] СП 1.2.036—95 | Санитарные правила. Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмами III—IV групп патогенности |
| [3] МУ 2.1.4.1057—2001 | Методические указания. Организация внутреннего контроля качества санитарно-микробиологических исследований воды |
| [4] МУК 4.2.2316—2008 | Методы контроля бактериологических питательных сред |

