

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

**ИНСТРУКЦИЯ  
ПО ПОДГОТОВКЕ ПРОБ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ  
ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

МИНСК  
1996

Учреждения - разработчики: Республиканский научно - практический центр по экспертной оценке качества и безопасности продуктов питания, научно-практическая лаборатория по индикации возбудителей инфекционных и паразитарных заболеваний Республиканского центра гигиены и эпидемиологии МЗ Республики Беларусь.

Авторы: Федоренко Е.В, Коломиец Н.Д., Антипенко В.П., Черновецкий М.А.,  
Мурох В.И. \*

Рецензенты : Лукашевич Н.А., Егорова З.Е., Кукулянский А.А.

Ответственный за выпуск: зам. директора по науке РНПЦ по ЭОК и БПН Коломиец Н.Д.

Инструкция утверждена МЗ Республики Беларусь в качестве официального документа.

В настоящем документе обобщены и унифицированы методы и способы подготовки проб продуктов питания для микробиологических исследований классическими методами и с помощью импедансной технологии (аппарат Bactometer, Biomerieux). Предлагаемые методы являются официальными и могут быть использованы для работы в аккредитованных учреждениях.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

«СОГЛАСОВАНО»

Начальник отдела науки

и внедрений



И.И. Доста

« 13 » августа 1997 г.

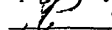
«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель министра

здравоохранения Республики

Беларусь, главный санитарный

врач Республики Беларусь

 В.П. Филонов

« 14 » августа 1997 г.

Решение № 96-9612

ИНСТРУКЦИЯ  
ПО ПОДГОТОВКЕ ПРОБ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ  
ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ .....	5
2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ МЕТОДА .....	5
3. ПОНЯТИЯ .....	5
4. РЕАКТИВЫ .....	6
5. ОБОРУДОВАНИЕ .....	7
6 ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ	
6.1. Жидкие молочные продукты .....	8
6.2. Сухие молочные продукты .....	9
6.3. Масло .....	9
6.4. Мороженое .....	10
6.5. Сыр .....	10
6.6. Мясо и изделия из мяса .....	11
6.7. Рыба, изделия из рыбы и морских беспозвоночных .....	12
6.8. Кондитерские изделия .....	12
6.9. Специи и сухие продукты с добавлением специй .....	13
6.10. Майонезы, эмульгированные соусы, холодные готовые соусы .....	14
6.11. Прохладительные напитки, минеральные воды, фруктовые и овощные соки, пиво .....	14
6.12. Пищевые добавки и специи ( растворы, эмульсии, порошки) .....	15
6.13. Продукты глубокой заморозки .....	15
6.14. Консервы .....	16
ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА .....	18

## **1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ**

Данная инструкция устанавливает методы подготовки проб продуктов питания для микробиологических исследований в лабораториях системы здравоохранения, промышленных и ведомственных лабораториях, а также при проведении научных исследований.

## **2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ МЕТОДА**

Подготовку проб проводят в боксе (ламинарном боксе) с соблюдением правил асептики.

Масса (объем) навески продукта, предназначенной для посева в питательные среды и (или) приготовления ее разведений, должна быть установлена в нормативной документации на конкретный вид продукции или методы анализа.

Вскрытие упаковки проводят в условиях, исключающих загрязнение продукта микроорганизмами, в непосредственной близости от пламени горелки стерильными инструментами.

Обработку проб перед исследованием и вскрытие упаковки проводят по ГОСТ 26669-85.

Метод подготовки проб для пищевых продуктов основан на гомогенизации и, в случае необходимости, смешивании определенного количества пробы с разводящей жидкостью в асептических условиях. Подготовленный таким образом материал может быть использован непосредственно или в разведенном виде для микробиологических исследований.

## **3. ПОНЯТИЯ**

### **3.1. Предварительное измельчение**

Под предварительным измельчением понимают первичное измельчение и перемешивание пробы, достигаемое с помощью простейших средств или аппаратуры.

### **3.2. Гомогенизация**

Гомогенизация это измельчение и гомогенное распределение составных частей клеток и тканей в жидкой фазе.

### **3.3. Первичное разведение - первое 10-ти кратное ( десятичное) разведение**

Первичное разведение это разведение, полученное в результате гомогенизации определенного количества исследуемой пробы с 9-ти кратным количеством разводящей жидкости.

### **3.4. Последующие 10-ти кратные ( десятичные) разведения.**

Последующие десятичные разведения это разведения, полученные в результате смешивания части первичного разведения с 9-ти кратным количеством разводящей жидкости и повторение этого процесса, постоянно начиная с предшествующего разведения, до получения количества продукта, необходимых для посева в питательные среды по действующей НТД.

### 3.5. Разводящая жидкость

Специфический солевой стерильный раствор, используемый для приготовления суспензии пробы.

## 4. РЕАКТИВЫ И РАСТВОРЫ РЕАКТИВОВ

Реактивы должны быть чистыми для анализа (ЧДА) или химически чистыми (ХЧ). Используется дистиллированная или бидистиллированная вода. Она не должна содержать примесей, влияющих на рост микроорганизмов. В качестве разводящей жидкости может быть использован один из нижеперечисленных растворов:

- \* раствор Рингера ( п.4.1.),
- \* пептонно-солевой раствор ( п.4.2.),
- \* раствор хлорида натрия ( п.4.3.),
- \* раствор фосфатного буфера ( п.4.4.),
- \* цитратный раствор ( п.4.6.),
- \* фосфатный раствор ( п.4.7.)

Разводящая жидкость помещается в сосуды в таких количествах, чтобы после стерилизации ее объем в 9 раз превышал объем пробы  $\pm 2\%$

Температура разводящей жидкости перед использованием должна быть от 10 до 20 °C, если нет специальных указаний на температуру.

### 4.1. Раствор Рингера

Состав:

- \* 2.25 г хлорида натрия  $\text{NaCl}$  .
- \* 0.105 г хлорида калия  $\text{KCl}$
- \* 0.06 г хлорида кальция  $\text{CaCl}_2$
- \* 0.05 г гидрокарбоната натрия  $\text{NaHCO}_3$
- \* 1000 мл воды

Составные части растворяют в 200 мл воды, доводят объем до 1000 мл. Разливают в посуду в необходимых количествах, стерилизуют при  $121 \pm 1$  °C 15 минут.

### 4.2. Пептонно-солевой раствор

Состав:

- \* 8.5 г хлорида натрия  $\text{NaCl}$
- \* 1.0 г казеина триптического разложения (Триптон) или пептон в том же количестве
- \* 1000 мл воды

Устанавливается pH  $7.0 \pm 0.1$  при 25 °C.

Составные части растворяют в 200 мл воды, доводят объем до 1000 мл. Разливают в посуду в необходимых количествах, стерилизуют при  $121 \pm 1$  °C 15 минут.

### 4.3. Раствор хлорида натрия

Состав:

- \* 8.5 г хлорида натрия  $\text{NaCl}$
- \* 1000 мл воды

Составные части растворяют в 200 мл воды, доводят объем до 1000 мл. Разливают в посуду в необходимых количествах, стерилизуют при  $121 \pm 1$  °C 15 минут.

#### 4.4. Раствор фосфатного буфера

##### 4.4.1. Концентрированный раствор

\* 34 г однозамещенного фосфорнокислого калия  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

\* 1000 мл воды Устанавливают pH 7.2.  $\pm$  0.1 при 25° С

##### 4.4.2. Разбавленный раствор

\* 1.25 см<sup>3</sup> концентрированного раствора

\* 1000 мл воды

Составные части раствора по п. 4.4.1. растворяют в 200 мл воды, доводят объем до 1000 мл. Раствор по п. 4.4.2. Разливают в посуду в необходимых количествах, стерилизуют при 121  $\pm$  1 °С 15 минут.

#### 4.5. Нейтрализующий раствор

Состав:

\* 10 г двууглекислого натрия  $\text{NaHCO}_3$

\* 100 мл воды

Составные части растворяют в 20 мл воды, доводят объем до 100 мл.

Разливают в посуду в необходимых количествах, стерилизуют при 121  $\pm$  1°С 15 минут.

#### 4.6. Цитратный раствор.

Состав:

\* 17.0 г цитрата натрия 2-х водного  $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

\* 1000 мл воды

Составные части растворяют в 200 мл воды, доводят объем до 1000 мл. Разливают в посуду в необходимых количествах, стерилизуют при 121  $\pm$  1 °С 15 минут.

#### 4.7. Фосфатный раствор

Состав:

\* 20.0 калия фосфорнокислого двузамещенного,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$

\* 1000 мл воды

Составные части растворяют в 200 мл воды, доводят объем до 1000 мл. Разливают в посуду в необходимых количествах, стерилизуют при 121  $\pm$  1 °С 15 минут.

### 5. ОБОРУДОВАНИЕ

5.1. Аналитические весы ГОСТ 24104-80

5.2. Весы рычажные настольные с наибольшим пределом взвешивания 1 кг ГОСТ 24104-80

5.3. Паровой стерилизатор (автоклав), регулируемый до 121  $\pm$  1 °С ГОСТ 9586-75

5.4. Сухожаровой стерилизатор, регулируемый до 180 °С.

5.5. Посуда для разведений объемом 15-2000 мл( пробирки, колбы), с пробками ГОСТ 25336-82

5.6. Шпатель или ложка

5.7. pH-метр с температурной коррекцией ГОСТ 9245-79.

5.8. Водяная баня , регулируемая до 45  $\pm$  2 °С

5.9. Фарфоровая ступка с пестиком

5.10. Режущий смеситель, предназначенный для микробиологических целей Части, соприкасающиеся с пробой должны быть пригодными для стерилизации.

5.11. Мешочный смеситель ( напр Stomacher) , предназначенный для микробиологических целей

5.12. Механический смеситель, предназначенный для смешивания жидкостей в пробирках, работающий на принципе эксцентрического вращения содержимого пробирок.

5.13. Градуированные пипетки объемом 1 и 10 мл ГОСТ 20292-74

5.14. Механический измельчитель, например мясорубка с диаметром отверстий 4 мм

5.15. Автоматические дозаторы

Перед использованием вся стеклянная посуда, инструменты и поверхность приборов, соприкасающаяся с продуктом должна быть тщательно вымыта и простерилизована одним из способов, указанных в ГОСТ 26668-85. Посуда из искусственных материалов должна быть стерильной.

## **6. ПОДГОТОВКА ПРОБ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ**

### **6.1. Жидкие и густые молочные продукты**

Метод применим для всех видов молока, сливок и сыворотки, сгущенных молочных консервов, кисломолочных продуктов, творога и продуктов из творога.

#### **6.1.1. Подготовка пробы**

Проба тщательно перемешивается и оставляется при комнатной температуре до исчезновения пузырьков воздуха (не более 15 минут). В случае исследования густых, желированных или кислых молочных продуктов емкость с пробой открывается непосредственно перед проведением исследования и проба перемешивается с помощью шпателя или ложки.

#### **6.1.2. Приготовление первичного разведения**

10 мл пробы, приготовленной по п.6.1.1., отбираются с помощью пипетки в стерильную посуду. При этом пипетка не погружается ниже 1-2 см от поверхности, избегая захвата воздуха.

Кисломолочные продукты нейтрализуются. Для этого 10 мл пробы смешиваются с 1 см<sup>3</sup> раствора двууглекислого натрия по п. 4.5.

В соответствии со спецификой анализа исследуемого продукта готовятся разведения. При этом отобранная проба переносится в емкость с 90 мл разводящей жидкости по п. 4.1.-4.4. Пипетка не должна касаться поверхности разводящей жидкости.

В случае исследования продуктов вязкой консистенции, которые трудно пипетируются, 10 г пробы, подготовленной по п. 6.1.1. переносится в емкость и смешиваются с 90 мл разводящей жидкости по п. 4.1.-4.4.

Содержимое емкости немедленно подвергается смешиванию путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**Примечание:** В отдельных случаях процедура перемешивания может быть удлинена до получения необходимой степени гомогенности пробы.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта.

#### **6.1.3. Последующие десятичные разведения**

В случае необходимости готовятся последующие десятичные разведения. Для этого пипеткой отбирается 1 мл первичного разведения по п. 6.1.2. вносится в пробирку или колбу с 9 мл разводящей жидкости по п. 4.1-4.4. При этом контролируется, чтобы пипетка была освобождена полностью и не соприкасалась со стенками сосудов и поверхностью разводящей жидкости. Содержимое пробирки перемешивается осторож-



ным 10-ти разовым пипетированием или с помощью прибора для перемешивания содержимого пробирок по п.5.12. 3-5 секунд.

При использовании смесительного прибора по п.5.12. скорость вращения выбирается так, чтобы содержимое не поднималось выше 2-3 см от верхнего края пробирки.

В 1 мл раствора содержится 0.01 г продукта.

Описанная в п. 6.1.3. операция повторяется необходимое количество раз до получения необходимого ряда разведений.

Для предупреждения седиментации проба и (или) ее разведения должны быть использованы для посева не позднее 15 минут с момента приготовления. Непосредственно перед посевом проба и (или) ее разведения перемешиваются осторожным 10-ти кратным пипетированием или с помощью прибора для перемешивания по п.5.12. в течение 3-5 минут.

## **6.2. Сухие молочные продукты**

Данный метод применим для сухого обезжиренного и цельного молока, сливок, сухой сыворотки, лактозы, сухих порошков для приготовления мороженого, сухих молочных продуктов для детского питания и других сухих молочных продуктов, приготовленных на основе таких порошков.

### **6.2.1. Подготовка пробы**

Проба хорошо перемешивается. Если емкость, содержащая пробу слишком полная, то вся упаковка переносится в больший смесительный сосуд и перемешивается многократным встряхиванием.

### **6.2.2. Приготовление первичного разведения**

10 г пробы, подготовленной по п.6.2.1. помещают в емкость для смешивания с 90 мл нагретой до  $45 \pm 2$  °С разводящей жидкости по п.4.1.-4.3., 4.4.2. Осторожным помешиванием порошок смачивается. Затем он тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта.

### **6.2.3. Последующие десятичные разведения**

Приготовление- см. п. 6.1.3.

## **6.3. Масло**

Метод применим для всех видов масла животного происхождения, в том числе топленого масла, смеси растительного и животного масел, молочного белка ( типа казеината натрия, гидролизата молочного белка и т.п.) и схожих изделий.

### **6.3.1. Подготовка пробы**

Пробу расплавляют на водяной бане при  $45 \pm 2$  °С, тщательно перемешивают.

### **6.3.2. Приготовление первичного разведения**

10 г пробы, подготовленной по п.6.3.1 помещают в емкость для смешивания. К пробе добавляется 90 мл нагретой до  $45 \pm 2$  °С разводящей жидкости по п. 4.1-4.4. Непосредственно перед дальнейшей обработкой пробы она тщательно перемешивается

путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта.

### **6.3.3. Последующие десятичные разведения**

Приготовление см. п. 6.1.3.

## **6.4. Мороженое**

Метод применим для всех видов мороженого, тортов из мороженого.

### **6.4.1. Подготовка пробы**

Пробу расплавляют на водяной бане при  $45 \pm 2^{\circ} \text{C}$ , тщательно перемешивают.

### **6.4.2. Приготовление первичного разведения**

10 г пробы, подготовленной по п. 6.4.1. помещают в емкость для смешивания. К пробе добавляется 90 мл нагретой до  $45 \pm 2^{\circ} \text{C}$  разводящей жидкости по п. 4.1.-4.4. Непосредственно перед дальнейшей обработкой пробы она тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта.

### **6.4.3. Последующие десятичные разведения**

Приготовление см. п. 6.1.3.

## **6.5. Сыр**

Метод применим для всех видов сычужного сыра

### **6.5.1. Подготовка пробы**

Проба измельчается и тщательно перемешивается

### **6.5.2. Приготовление первичного разведения.**

#### **6.5.2.1. Метод для пастообразных продуктов**

10 г пробы, подготовленной по п. 6.5.1. помещают в емкость с 90 мл нагретой  $45 \pm 2^{\circ} \text{C}$  разводящей жидкости по п. 4.1.-4.4., 4.6., 4.7. Непосредственно перед дальнейшей обработкой пробы она тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

#### **6.5.2.2. Метод для ломких и рассыпчатых продуктов.**

При исследовании ломких или рассыпчатых продуктов отбирается 10 г пробы и перемешивается с 90 мл нагретой  $45 \pm 2^{\circ} \text{C}$  разводящей жидкости по п. 4.1.-4.4., 4.6., 4.7. по методам, представленным ниже в п. 6.5.2.2.1.- п. 6.5.2.2.3.

##### **6.5.2.2.1**

10 г пробы по возможности гомогенно перемешиваются пестиком в чашке с 10-15 мл нагретой до  $45 \pm 2^{\circ} \text{C}$  разводящей жидкости по п. 4.1.-4.4., 4.6., 4.7. Суспензия помещается в пустую емкость. Оставшейся разводящей жидкостью ополаскиваются пестик и чашка и жидкость сливается в емкость. Непосредственно перед исследованием проба тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**6.5.2.2.2.** 10 г пробы помещаются в смеситель по п.5.10. с 90 мл нагретой до  $45 \pm 2$  ° С разводящей жидкости по п. 4.1.-4.4.,4.6.,4.7. Смешивание происходит до достижения однородной суспензии исследуемой пробы ( общее число оборотов гомогенизатора - 15000 - 20000 , длительность гомогенизации не более 2.5 минут). Затем суспензия помещается в пустую емкость. Непосредственно перед дальнейшей обработкой пробы она тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**6.5.2.2.3.** 10 г пробы помещаются в мешок мешочного смесителя по п.5.11., добавляется 90 мл нагретой до  $45 \pm 2$  ° С разводящей жидкости по п.4.1.-4.4.,4.6.,4.7. Смешивание происходит до достижения однородной суспензии исследуемой пробы ( около 2 минут). Затем суспензия помещается в пустую емкость. Непосредственно перед дальнейшей обработкой пробы она тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта.

### **6.5.3. Последующие десятичные разведения**

Используется разводящая жидкость по п. 4.1-4.4, 4.6.,4.7. Приготовление см. п.6.1.3.

## **6.6. Мясо и изделия из мяса**

Метод применим для мяса и мясных продуктов, а также изделий с добавлением мяса и мясных продуктов, кроме консервов

### **6.6.1. Подготовка пробы**

Проба измельчается и перемешивается с помощью механического прибора по п. 5.14. таким образом, чтобы гомогенно распределить составные и отдельные части. Предварительно измельченная проба в кратчайшие сроки подвергается дальнейшей обработке. При необходимости проба хранится при температуре от 0 до 5 °С не более 1 часа.

**Примечание:** Для нетвердых или уже измельченных проб предварительное измельчение не проводится, но проводится перемешивание.

### **6.6.2. Приготовление первичного разведения.**

20 г пробы перемешиваются с 80 мл разводящей жидкости по п. 4.1- 4.3. по методам, представленным ниже в п. 6.6.2.1. или 6.6.2.2.

**6.6.2.1** 20 г пробы по возможности гомогенно перемешиваются пестиком в чашке с 15 -20 мл разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. Суспензия помещается в пустую емкость. Оставшейся разводящей жидкостью ополаскиваются пестик и чашка и жидкость сливается в емкость. Непосредственно перед исследованием проба тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**6.6.2.2.** 20 г пробы, подготовленной по п. 6.6.1. помещаются в смесительный сосуд по п. 5.10. или смесительный мешок по п. 5.11. К исследуемой пробе в смесительном сосуде или мешке добавляется 80 мл разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. и перемешивается. При использовании механического режущего смесителя по п. 5.10. общее число оборотов гомогенизатора должно составлять 15000-20000, а длительность гомогенизации 2.5 минуты. При использовании мешочного смесителя по п. 5.11. длительность процесса обработки составляет 2 минуты.

**Примечание:** Жидкие пробы, которые могут быть исследованы без разведений, подвергаются только гомогенизации.

Проба, подготовленная по п. 6.6.2.1., 6.6.2.2. помещается в стерильную емкость. Затем пипеткой отбираются 5 мл гомогенизированной пробы и вносятся в пробирку или колбу с 5 мл разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. При этом контролируется, чтобы пипетка была опорожнена полностью и не соприкасалась со стенками сосудов и поверхностью разводящей жидкости. Содержимое пробирки перемешивается осторожным 10-ти разовым пипетированием или с помощью прибора для перемешивания содержимого пробирок по п. 5.12. 3-5 секунд.

При использовании смесительного прибора по п. 5.12. скорость вращения выбирается так, чтобы содержимое пробирки не поднималось выше 2-3 см от верхнего ее края.

В 1 мл раствора содержится 0,1 г продукта.

### **6.6.3. Последующие десятичные разведения**

Используется разводящая жидкость по п. 4.1.-4.3. Приготовление - см. п. 6.1.3.

## **6.7. Рыба и рыбные продукты**

Метод применим для рыбы, рыбных продуктов, изделий из рыбы и морских беспозвоночных, а также изделий с добавлением рыбы и рыбных продуктов, кроме консервов.

### **6.7.1. Подготовка пробы**

Продукты, содержащие жир(масло) обрабатывают по п. 6.3.1.-6.3.3.

Проба измельчается и перемешивается с помощью механического прибора по п. 5.14. таким образом, чтобы по возможности гомогенно распределить составные и отдельные части. Предварительно измельченная проба должна быть подвергнута дальнейшей обработке по возможности быстро. Если необходимо, то она может храниться не более 1 часа при температуре от 0 до 5 °С.

**Примечание:** Для нетвердых или уже измельченных проб предварительное измельчение не проводится, однако необходимо перемешивание.

### **6.7.2. Приготовление кервичного разведения.**

10 г пробы и перемешивается с 90 мл разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3 по методам, представленным ниже в п.6.7.2.1.- п. 6.7.2.2.

**6.7.2.1.** 10 г пробы по возможности гомогенно перемешиваются пестиком в чашке с 10 -15 мл разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. Суспензия помещается в пустую емкость. Оставшейся разводящей жидкостью ополаскиваются пестик и чашка и жидкость сливается в емкость. Непосредственно перед исследованием проба тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**6.7.2.2.** 10 г пробы, подготовленной по п. 6.7.1. помешаются в смесительный сосуд по п. 5.10. или смесительный мешок по п. 5.11. К исследуемой пробе в смесительном сосуде или мешке добавляется 90 мл разводящего раствора по п. 4.1.-4.3. и перемешивается. При использовании механического режущего смесителя по п. 5.10. общее число оборотов гомогенизатора должно составлять 15000 - 20000, длительность гомогенизации - не более 2.5 минут. При использовании мешочного смесителя по п. 5.11. длительность процесса обработки составляет 2 минуты.

**Примечание:** Жидкие пробы, которые могут быть исследованы без разведений, подвергаются только гомогенизации.

Проба помещается в стерильный сосуд.

В 1 мл раствора содержится 0,1 г продукта.

### 6.7.3. Последующие десятичные разведения

Используется разводящая жидкость по п. 4.1.-4.3. Приготовление-см. п. 6.1.3.

## 6.8. Кондитерские изделия

Метод применим для всех видов сахаристых и мучных кондитерских изделий.

### 6.8.1. Подготовка пробы

Пробы, содержащие шоколад, шоколадную глазурь, жировую глазурь, различные кремы расплавляют на водяной бане при  $45 \pm 2$  °С, тщательно перемешивают.

Остальные пробы измельчают и тщательно перемешивают

### 6.8.2. Приготовление первичного разведения

**6.8.2.1. Метод для проб однородной сухой консистенции (например - какао-порошок)**

10 г пробы, подготовленной по п.6.8.1. помещают в емкость для смешивания. К пробе добавляется 90 мл нагретой до  $45 \pm 2$  °С разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. Непосредственно перед дальнейшей обработкой пробы она тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта.

**6.8.2.2. Метод для проб твердой, пастообразной консистенции, а также проб, содержащих различные включения (орехи, фрукты, мучная основа и т.д.)**

При исследовании ломких или рассыпчатых продуктов отбирается 10 г пробы и перемешивается с 90 мл нагретой  $45 \pm 2$  °С разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. по методам, представленным ниже в п.6.8.2.2.1. - п. 6.8.2.2.3.

**6.8.2.2.1.** 10 г пробы по возможности гомогенно перемешивается пестиком в чашке с 10-15 мл нагретой до  $45 \pm 2$  °С разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. Суспензия помещается в пустую емкость. Оставшейся разводящей жидкостью ополаскиваются пестик и чашка и жидкость сливается в емкость. Непосредственно перед исследованием проба

тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**6.8.2.2.2.** 10 г пробы помещается в смеситель по п. 5.10. с 90 мл нагретой до  $45 \pm 2$  °С разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. Смешивание происходит до достижения однородной суспензии исследуемой пробы (общее число оборотов гомогенизатора - 15000- 20000, длительность гомогенизации - не более 2.5 минут). Затем суспензия помещается в пустую емкость. Непосредственно перед дальнейшей обработкой пробы она тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**6.8.2.2.3.** 10 г пробы помещается в мешок мешочного смесителя по п. 5.11., добавляется 9-ти кратное количество нагретой до  $45 \pm 2$  °С разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. Смешивание происходит до достижения однородной суспензии исследуемой пробы (около 2 минут). Затем суспензия помещается в пустую емкость. Непосредственно перед дальнейшей обработкой пробы она тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта

### 6.8.3. Последующие десятичные разведения

Используется разводящая жидкость по п. 4.1.-4.3. Приготовление -см. п. 6.1.3.

#### **6.9. Специи, пряности и их смеси, сухие продукты с добавлением специй и пряностей.**

Метод применим для всех видов специй, пряностей и их смесей и сухих продуктов с их добавлением ( концентраты бульонов, супов)

##### **6.9.1. Подготовка пробы**

Проба хорошо перемешивается . Если емкость, содержащая пробу слишком полная, то вся упаковка переносится в больший смесительный сосуд и перемешивается многократным встряхиванием. В случае необходимости проба измельчается.

##### **6.9.2. Приготовление первичного разведения**

10 г пробы, подготовленной по п.6.9.1. помещают в емкость для смешивания 90 мл ( в случае, если проба содержит жир- нагретой до  $45 \pm 2^{\circ} \text{C}$  ) разводящей жидкости по п.4.1.-4.3. Осторожным помешиванием порошок смачивается. Затем он тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта.

##### **6.9.3. Последующие десятичные разведения**

Используется разводящая жидкость по п. 4.1.-4.3.Приготовление-см. п. 6.1.3.

#### **6.10. Майонезы, эмульгированные соусы, холодные готовые соусы**

Метод применим для всех видов майонеза, эмульгированных соусов, готовых холодных соусов.

##### **6.10.1. Подготовка пробы**

Проба тщательно перемешивается и оставляется на время до исчезновения пузырьков воздуха.

##### **6.10.2. Приготовление первичного разведения**

10 г пробы, приготовленной по п.6.10.1., отбираются с помощью пипетки в стерильную посуду. При этом пипетка не должна погружаться ниже 1-2 см от поверхности, избегая захвата воздуха.

Кислые продукты нейтрализуются. Для этого 10 г пробы перемешиваются с 1 см<sup>3</sup> раствора двууглекислого натрия по п. 4.5.

В соответствии со спецификой анализа исследуемого продукта готовятся разведения. При этом отобранная проба переносится в емкость с 90 мл разводящей жидкости по п. 4.1.- 4.3. Пипетка при этом не должна касаться поверхности разводящей жидкости. Емкость с пробой и разводящей жидкостью немедленно подвергается смешиванию путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**Примечание:** В отдельных случаях процедура смешивания может быть удлинена до получения необходимой степени гомогенности пробы.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта.

##### **6.10.3. Последующие десятичные разведения**

Используется разводящая жидкость по п. 4.1.-4.3. Приготовление-см. п.6.1.3.

### **6.11. Прохладительные напитки, минеральные воды, фруктовые и овощные соки, пиво, сиропы**

Метод применим для всех видов прохладительных напитков, минеральных вод, фруктовых и овощных соков, пива, сиропов.

#### **6.11.1. Подготовка пробы**

Проба тщательно перемешивается и оставляется на некоторое время для исчезновения пузырьков воздуха. Газированные напитки дегазируются путем выдерживания бутылки со стерильной ватно-марлевой пробкой 1 час при температуре  $+43^{\circ}\text{C}$  либо продукт помещается в стерильную посуду, закрытую ватной пробкой и подогревается при частом перемешивании круговыми движениями на водяной бане при температуре от  $30^{\circ}\text{C}$  до  $37^{\circ}\text{C}$  до тех пор, пока из него не перестанут выделяться пузырьки газа.

Сиропы разводятся 9-ти кратным количеством стерильной дистиллированной воды.

Напитки с кислой реакцией нейтрализуются. Для этого 10 мл пробы смешиваются с  $1\text{ см}^3$  раствора двууглекислого натрия по п. 4.5.

### **6.12. Пищевые добавки и специи (растворы, эмульсии, порошки)**

Метод применим для всех видов пищевых добавок, растворов и эмульсий специй, а также смесей пищевых добавок и специй.

#### **6.12.1. Подготовка пробы**

Проба хорошо перемешивается. Если емкость, содержащая пробу слишком полная, то вся упаковка переносится в больший смесительный сосуд и перемешивается многократным встряхиванием. В случае необходимости проба измельчается.

#### **6.12.2. Приготовление первичного разведения**

##### **6.12.2.1. Метод для жидких и пастообразных продуктов**

10 г отобранная проба переносится в емкость с 90 мл нагретой до  $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$  разводящей жидкости по п. 4.1.- 4.3. Пипетка при этом не должна касаться поверхности разводящей жидкости. Содержимое емкости немедленно подвергается смешиванию путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**Примечание:** В отдельных случаях процедура перемешивания может быть удлинена до получения необходимой степени гомогенности пробы.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта

##### **6.12.2.2. Метод для сухих продуктов**

10 г пробы, подготовленной по п.6.9.1. помещают в емкость для смешивания с 90 мл (если проба содержит жир - нагретой до  $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) разводящей жидкости по п.4.1.-4.3. Осторожным помешиванием порошок смачивается. Затем он тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта.

#### **6.12.3. Последующие десятичные разведения**

Используется разводящая жидкость по п. 4.1.- 4.3 Приготовление-см. п.6.1.3.

### **6.13. Продукты глубокой заморозки**

Метод применим для замороженных мясных, рыбных, кондитерских продуктов, овощей, фруктов, кулинарных изделий, пищевого льда.

#### **6.13.1. Подготовка пробы**

Пробы продуктов освобождаются от упаковки (при необходимости), затем помещают в стерильную посуду и дефростируют при  $5^{\circ}\text{C}$  10 - 12 часов либо при комнатной температуре 2-3 часа. При исследовании многокомпонентных продуктов необходимо, чтобы в пробу попали различные составные части продукта.

#### **6.13.2. Приготовление первичного разведения**

20 г пробы, подготовленной по п. 6.13.1. смешивают со 180 мл нагретой до  $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$  разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. и гомогенизируются по методам, представленным ниже в п.6.8.2.2.1. - п. 6.8.2.2.3.

##### **6.13.2.1. Метод для проб твердой консистенции, а также проб, содержащих различные включения**

**6.13.2.1.1.** 20 г пробы по возможности гомогенно перемешивается пестиком в чашке с 20-22 мл нагретой до  $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$  разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. Суспензия помещается в пустую емкость. Оставшейся разводящей жидкостью ополаскиваются пестик и чашка и жидкость сливается в емкость. Непосредственно перед исследованием проба тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**6.13.2.1.2.** 20 г пробы помещается в смеситель по п. 5.10.с 180 мл нагретой до  $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$  разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. Смешивание происходит до достижения однородной суспензии исследуемой пробы (общее число оборотов гомогенизатора - 15000 - 20000, длительность гомогенизации - не более 2.5 минут). Затем суспензия помещается в пустую емкость. Непосредственно перед дальнейшей обработкой пробы она тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см и оставляется для удаления пузырьков воздуха.

**6.13.2.1.3.** 20 г пробы помещается в мешок мешочного смесителя по п. 5.11., добавляется 180 мл нагретой до  $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$  разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3. Смешивание происходит до достижения однородной суспензии исследуемой пробы (около 2 минут). Затем суспензия помещается в пустую емкость. Непосредственно перед дальнейшей обработкой пробы она тщательно перемешивается путем циркулярного вращения в течение 10 секунд 25 раз по кругу диаметром 10-12 см.

В 1 мл раствора содержится 0.1 г продукта.

##### **6.13.2. Метод для проб однородной консистенции**

20 г пробы, подготовленной по п. 6.13.1. переносятся в емкость и смешиваются с 180 мл разводящей жидкости по п. 4.1.-4.3.

#### **6.13.3. Последующие десятичные разведения**

Используется разводящая жидкость по п. 4.1.-4.3. Приготовление - см. п. 6.1.3.

### **6.14. Консервы**

Метод применим для всех видов мясных, рыбный, мясо- и рыборастворительных, овощных, фруктовых консервов.



#### 6.14.1. Подготовка пробы

Предварительная подготовка проб - по ГОСТ 26669-85 п.2.1-2.3.

Перед вскрытием ( кроме бомбажных банок ) продукт перемешивается десятикратным переворачиванием с доньшка на крышку. Вскрытие производят по ГОСТ 26669-85 п. 2.5.1.,2.5.4,2.5.5

Отбор пробы производят по п. 2.6 1 -2 6.8 ,2 6 12. ГОСТ 26669-85

#### 6.14.1 Подготовка проб продуктов для анализа на промышленную стерильность, состоящих из твердой или твердой и жидкой фаз.

К 10 г продукта добавляют 10 мл разводящей жидкости по п 4.1- 4.3 и гомогенизируют по п.6.14 1.1. либо 6.14.1.2.

6.14.1.1. 10 г пробы, подготовленной по п. 6.14 1. помешаются в смесительный сосуд по п. 5.10. или смесительный мешок по п. 5.11. К исследуемой пробе в смесительном сосуде или мешке добавляется 10 мл разводящей жидкости по п. 4 1.-4.3. и перемешивается. При использовании механического режущего смесителя по п. 5 10. общее число оборотов гомогенизатора должно составлять 15000-20000, а длительность гомогенизации 2.5 минуты. При использовании мешочного смесителя по п. 5.11. длительность процесса обработки составляет 2 минуты.

**Примечание:** Жидкие пробы, которые могут быть исследованы без разведений, подвергаются только гомогенизации

#### 6.14.2. Последующие десятичные разведения

Используется разводящая жидкость по п 4.1.-4.3. Приготовление -см. п 6 1 3.

### *ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА*

1. ГОСТ 9925-84 Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа
2. ГОСТ 9958-81 Изделия колбасные и продукты из мяса Методы микробиологического анализа.
3. МУ 2657-82 Методические указания по микробиологическому контролю на предприятиях общественного питания и торговли пищевыми продуктами.
4. ИК 10-04-06-140-87 Инструкция санитарно-микробиологического контроля пивоваренного и безалкогольного производства.
5. СанПиН 42-123-4940-88 Микробиологические нормативы и методы анализа продуктов детского, лечебного и диетического питания и их компонентов.
6. Инс. 5319;91 Инструкция по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных.
7. Инс. 123-12/411-10-88 Инструкция по санитарно-бактериологическому контролю производства маргарина и майонеза на предприятиях маргариновой промышленности.
8. ГОСТ 26669-85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов.
- 9.. DIN- Methods - German Standards Institute
10. Microbiological quality control of foodstuffs . Merck.1994
11. Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Jurgen Baumgart. Behr's Verlag .1994.