ГОСТ 28805—90

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА ОСМОТОЛЕРАНТНЫХ ДРОЖЖЕЙ И ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2010

УДК 663/.664:543.9:006.354 Группа Н09

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Методы выявления и определения количества осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов

Food products. Methods for detection and determination of osmotolerantic yeast and mould quantity

ГОСТ 28805—90

МКС 07.100.30
ОКСТУ 9109

Дата введения 01.01.93

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты и устанавливает методы определения количества осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов посевом пищевого продукта или его разведения в агаризованную среду, определения наиболее вероятного числа (НВЧ) и выявления присутствия (отсутствия) осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов в определенной навеске продукта.

Методы основаны на высеве определенного количества продукта и (или) его разведений в селективную питательную среду, культивировании посевов в оптимальных условиях, подсчете количества или определении присутствия (отсутствия) осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов.

Метод определения количества посевом в агаризованную среду предназначен для пищевых продуктов, содержащих в 1 г более 150 или в 1 $см^3$ более 15 осмотолерантных дрожжей и (или) содержащих в 1 г более 50 или в 1 $см^3$ более 5 осмотолерантных плесневых грибов.

Метод НВЧ предназначен для пищевых продуктов, содержащих в 1 г менее 150, но в 10 г более 3 или в 1 $см^3$ менее 15, но в 100 $см^3$ более 3 осмотолерантных дрожжей и (или) содержащие в 1 г менее 50, но в 10 г более 3 или в 1 $см^3$ менее 5, но в 100 $см^3$ более 3 осмотолерантных плесневых грибов.

1. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

Отбор и подготовка проб пищевых продуктов — по ГОСТ 26668, ГОСТ 26669. Отбор и подготовка проб сгущенных молочных консервов с сахаром — по ГОСТ 9225*.

2. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ И РЕАКТИВЫ

Для проведения испытания применяют аппаратуру, материалы и реактивы по ГОСТ 10444.1 со следующими дополнениями:

весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104** с наибольшим пределом взвешивания до 200 г и пределом допускаемой погрешности ± 2 мг (для взвешивания реактивов);

весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания до 1 кг и пределом допускаемой погрешности ± 10 мг (для взвешивания продукта);

микроскоп световой биологический, обеспечивающий увеличение 90—900×;

стекла предметные по ГОСТ 9284;

стекла покровные по ГОСТ 6672;

---

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53430—2009.

** С 1 июля 2002 г. введен в действие ГОСТ 24104—2001. На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008.

Издание официальное ★ **Перепечатка воспрещена**

© Издательство стандартов, 1991
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

термостат с диапазоном рабочих температур 28—55 °С, позволяющий поддерживать заданную температуру с погрешностью ± 1 °С;

метиленовый синий;

сахар-рафинад по ГОСТ 22*.

3. ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЮ

3.1. Приготовление растворов

3.1.1. Приготовление раствора метиленового синего концентрацией 10 г/дм^3: 1 г метиленового синего переносят в фарфоровую ступку и постепенно растворяют в дистиллированной воде. Раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доливают до метки.

Раствор хранят в закрытом сосуде из темного стекла при комнатной температуре не более 3 мес.

3.1.2. Растворы антибиотиков готовят по ГОСТ 10444.12.

3.2. Приготовление питательных сред

3.2.1. Среда жидкая: 610,0 г сахара-рафинада, 20,0 г глюкозы и 25 см^3 дрожжевого экстракта постепенно при нагревании на водяной бане добавляют к 345 см^3 дистиллированной воды. После расплавления сахаров смесь охлаждают до (50 ± 5) °С. Устанавливают pH среды таким образом, чтобы он составлял 5,8 ± 0,1 (в пересчете на (25 ± 1) °С). Питательную среду разливают в колбы и (или) пробирки и стерилизуют текучим паром в течение 30 мин.

3.2.2. Среда агаризованная: 15,0 г агара добавляют к 345 см^3 дистиллированной воды и оставляют на 30 мин для набухания агара.

Затем расплавляют при нагревании и добавляют 20,0 г глюкозы, 25 см^3 дрожжевого экстракта. В полученной смеси при нагревании на водяной бане постепенно растворяют 610,0 г сахара-рафинада.

После расплавления сахара смесь охлаждают до (50 ± 5) °С.

Устанавливают pH среды таким образом, чтобы он составлял 5,8 ± 0,1 (в пересчете на (25 ± 1) °С). Питательную среду разливают в колбы и стерилизируют текучим паром в течение 30 мин.

3.3. Приготовление питательных сред, применяемых для испытания сгущенных молочных консервов с сахаром

3.3.1. Солодовое агаризованное сусло с сахарозой

Приготовление сусла с сахарозой: к 500 см^3 солодового сусла, приготовленного по ГОСТ 10444.1, добавляют 420,0 г сахара-рафинада, нагревая перемешивают до полного его растворения, фильтруют, охлаждают до (50 ± 5) °С. Устанавливают с помощью молочной кислоты pH таким образом, чтобы он составлял 3,6 ± 0,1 (в пересчете на (25 ± 1) °С). Сусло с сахарозой разливают по 60 см^3 в колбы и стерилизуют текучим паром в течение 30 мин.

Приготовление агаризованного сусла: к 500 см^3 солодового сусла с pH 3,6 ± 0,1 добавляют 30,0 г агара, нагревают, при перемешивании расплавляют агар. Среду фильтруют и разливают по 40 см^3 в колбы, затем стерилизуют текучим паром в течение 30 мин.

Непосредственно перед посевом агаризованное сусло расплавляют на водяной бане, а сусло с сахарозой нагревают до температуры (50 ± 5) °С и две эти части смешивают.

3.3.2. Питательные среды с антибиотиками и сахарозой: к 1 дм^3 дистиллированной воды добавляют 20,0 г агара и оставляют на 30 мин для набухания агара, затем добавляют 10,0 г пептона и, постоянно перемешивая, нагревают до полного расплавления агара, добавляют 40,0 г мальтозы или глюкозы и 450,0 г сахара-рафинада, перемешивают до полного растворения составных частей, при наличии осадка фильтруют. Устанавливают с помощью молочной кислоты pH таким образом, чтобы он составлял 6,5 ± 0,1 (в пересчете на (25 ± 1) °С).

Питательную среду разливают по 100 см^3 в колбы и стерилизуют текучим паром в течение 30 мин.

Непосредственно перед использованием к среде добавляют в соответствии с ГОСТ 10444.12 растворы антибиотиков.

4. ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ

4.1. Из навески продукта готовят исходное и ряд десятикратных разведений по ГОСТ 26669 так, чтобы можно было определить в 1 г (см^3) предполагаемое количество осмотолерантных дрожжей

---

* На территории Российской Федерации с 1 июля 2011 г. будет действовать ГОСТ Р 53396—2009.

и плесневых грибов или количество, указанное в нормативно-технической документации на конкретный продукт.

4.2. При определении количества осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов по методу НВЧ высевают в трехкратной повторности три последовательных навески продукта и (или) разведения продукта, отличающиеся по количеству продукта в 10 раз. Каждую навеску продукта и (или) разведение продукта высевают в колбу или пробирку с питательной средой, приготовленной по п. 3.2.1.

Соотношение количества высеваемого продукта или его разведения и питательной среды 1:9.

4.3. При определении количества осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов методом посева в агаризованные среды по 1 $см^3$ навески продукта или его разведения вносят одновременно в две чашки Петри. Посевы заливают по ГОСТ 26670 агаризованной питательной средой, приготовленной по п. 3.2.2.

4.4. При определении присутствия (отсутствия) осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов в определенной навеске продукта или его эквивалентном разведении, эту навеску или разведение вносят в жидкую питательную среду по п. 3.2.1 (в соотношении 1:9) или высевают по п. 4.3 в агаризованную среду.

При испытании сгущенных молочных консервов с сахаром навеску продукта массой (10,0 ± 0,1) г тщательно перемешивают со 100 $см^3$ охлажденной до (45 ± 2)°С агаризованной питательной средой по п. 3.3.1 или п. 3.3.2. Смесь разливают в 6—7 чашек Петри.

4.5. Посевы инкубируют в течение 7 сут при температуре (30 ± 1) °С.

4.6. Через 3 сут проводят предварительную оценку результатов инкубирования посевов, а через 7 сут — окончательную.

Колонии осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов разделяют визуально.

Рост осмотолерантных дрожжей на агаризованных питательных средах сопровождается образованием выпуклых, блестящих, серовато-белых колоний с гладкой поверхностью и ровным краем. Рост осмотолерантных дрожжей на жидких питательных средах сопровождается появлением мути, запаха брожения и газа.

Рост осмотолерантных плесневых грибов на питательных средах сопровождается появлением мицелия различной окраски.

4.7. Для подсчета количества отбирают чашки, на которых выросло от 15 до 150 колоний дрожжей и (или) от 5 до 50 колоний плесневых грибов.

4.8. При необходимости для разделения дрожжей и плесневых грибов проводят микроскопические исследования. Для этого из культуральной жидкости или отдельных колоний готовят мазки и окрашивают их раствором метиленового синего. На подсушенный мазок наносят раствор метиленового синего, приготовленного по п. 3.1.1, выдерживают 5 мин, сливают краску, высушивают на воздухе и микроскопируют для определения дрожжевых клеток или гифов плесневых грибов.

Допускается проводить микробиологические исследования по ГОСТ 10444.12.

4.9. Колбы (пробирки), в которых обнаружен рост осмотолерантных дрожжей и (или) плесневых грибов, считают положительными.

5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1. Результаты испытания оценивают на каждой пробе отдельно.

5.2. Пересчет количества осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов на 1 г ($см^3$) продукта проводят по ГОСТ 10444.12.

5.3. Наиболее вероятное число (НВЧ) осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов в 1 г ($см^3$) продукта определяют по количеству положительных колб (пробирок), пользуясь таблицей, приведенной в ГОСТ 30425.

5.4. Результаты определения количества осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов записывают по ГОСТ 26670.

5.5. Результаты выявления присутствия (отсутствия) осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов с указанием навески продукта записывают следующим образом:

осмотолерантные дрожжи и (или) плесневые грибы обнаружены или не обнаружены.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН** Всесоюзным научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности (ВНИИКОП), Сибирским филиалом Всесоюзного научно-исследовательского и конструкторского института молочной промышленности, Техническим комитетом по стандартизации ТК 93 «Продукты переработки плодов и овощей»

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Постановлением Государственного комитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 21.12.90 № 3230

3. **ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

4. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер раздела, пункта
ГОСТ 22—94	Разд. 2
ГОСТ 6672—75	Разд. 2
ГОСТ 9225—84	Разд. 1
ГОСТ 9284—75	Разд. 2
ГОСТ 10444.1—84	Разд. 2, 3.3.1
ГОСТ 10444.12—88	3.1.2, 3.3.2, 4.8, 5.2
ГОСТ 24104—88	Разд. 2
ГОСТ 26668—85	Разд. 1
ГОСТ 26669—85	Разд. 1, 4.1
ГОСТ 26670—91	4.3, 5.4
ГОСТ 30425—97	5.3

5. **Ограничение срока действия снято по протоколу № 7—95 Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 11—95)**

6. **ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2010 г.**