

ГОСТ 26968—86

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

САХАР

МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Издание официальное

ИПК ИЗДАТЕЛЬСТВО СТАНДАРТОВ
Москва

САХАР

Методы микробиологического анализа

Sugar.
Methods of microbiological analysisГОСТ
26968—86

ОКСТУ 9109*

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 1 августа 1986 г. № 2321 дата введения установлена

с 01.07.87

Ограничение срока действия снято по протоколу Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 2—93)

Настоящий стандарт распространяется на сахар-песок, сахар-рафинад, рафинированный сахар-песок и жидкий сахар и устанавливает методы определения общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, количества дрожжей и плесневых грибов.

Методы основаны на высеве определенного количества раствора сахара в агаризованную питательную среду, выращивании посевов, подсчете всех выросших видимых колоний, а для дрожжей и плесневых грибов — колоний, типичных по макро- или микроскопической морфологии и определении микроорганизмов в 1 г сахара.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

1. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

1.1*. Отбор проб сахара для микробиологического анализа проводят по ГОСТ 12569—85 и ГОСТ 26668—85.

Пробы от продуктов отбирают асептическим способом, исключая микробное загрязнение продукта из окружающей среды.

При отборе проб жидкого сахара из резервуара, оснащенного краном, кран сначала промывают, вытирают ватой, пропитанной этиловым спиртом, и обжигают в пламени. Затем выпускают до 500 см³ жидкого сахара (в зависимости от вместимости резервуара и диаметра крана) и только после этого отбирают пробы в посуду, заполняя 3/4 ее объема.

Широкогорлую посуду закрывают ватными пробками, сверху пробки накладывают чистую бумагу и плотно прижимают ее к горлу посуды. Банки закрывают крышками, предварительно обработанными этиловым спиртом, маркируют этикетками с указанием номера резервуара и крана, даты отбора проб и доставляют на анализ.

1.2. Пробы отбирают стерильным пробоотборником в стерильную посуду (банки, полиэтиленовые пакеты).

Посуду, инструменты и материалы, соприкасающиеся с продуктами во время отбора проб, предварительно стерилизуют одним из следующих способов:

насыщенным паром в стерилизаторе при температуре $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$ 30 мин;

горячим воздухом в стерилизаторе: с принудительной циркуляцией воздуха при температуре 170—175 °C в течение 60 мин;

Издание официальное

Перепечатка воспрещена

Издание (март 1998 г.) с Изменением № 1, утвержденным в апреле 1995 г. (ИУС 7—95)

* См. примечания ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» (с. 5).

© Издательство стандартов, 1987
© ИПК Издательство стандартов, 1998
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2008

Переиздание (по состоянию на сентябрь 2008 г.)

без принудительной циркуляции воздуха при температуре 180—185 °С в течение 15 мин, при температуре 165—170 °С в течение 120 мин.

Допускается инструменты обрабатывать погружением в этиловый спирт с последующим обжиганием.

1.3. Отобранные пробы, предназначенные для анализа вне предприятия-изготовителя, пломбируют и опечатывают печатью организации, отвечающей за контролируемую продукцию, и транспортируют в лабораторию. Пробы снабжают актом отбора проб, в котором указывают наименования продукта, предприятия-изготовителя, номер партии, дату отбора проб, цель микробиологического анализа, подписи лиц, отбравших пробу. Время перевозки до 12 ч с момента отбора проб.

Отбор, транспортирование в лабораторию и вскрытие проб проводят в условиях, исключающих вторичную микробиальную обсеменность сахара, в соответствии с методами, утвержденными в установленном порядке.

1.1—1.3. (Измененная редакция, Изм. № 1).

1.4. Анализ проводят сразу же после доставки сахара в лабораторию.

1.5. Перед вскрытием полиэтиленового пакета с сахаром его перемешивают 10-кратным переворачиванием или круговым движением.

Пробы сахара в полиэтиленовых пакетах вскрывают на столе, предварительно обработанном раствором этилового спирта.

Полиэтиленовые пакеты вскрывают стерильными ножницами, скальпелем или другим инструментом в месте, предварительно обработанном тампоном, смоченным раствором этилового спирта, горлышко банки до и после вскрытия обжигают в пламени спиртовой горелки.

1.6. После вскрытия пакета или банки с сахаром содержимое перемешивают, стерильными ложкой или шпателем отбирают навеску и переносят ее в предварительно взвешенную стерильную посуду.

Навески сахара отбирают немедленно после вскрытия упаковки, в непосредственной близости от огня.

1.5, 1.6. (Измененная редакция, Изм. № 1).

2. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ

2.1*. Для проведения анализа используют следующие аппаратуру, материалы и реактивы:

микроскоп;

термостат;

шкаф сушильный с терморегулятором, обеспечивающим нагрев до 190 °С;

баню водяную;

весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104—88;

рефрактометр;

pH-метр;

колбы 2—100—2 по ГОСТ 1770—74 и колбы Кн-2—250—34 ТС и Кн-2—1000—42 ТС по ГОСТ 25336—82;

палочки стеклянные;

пипетки вместимостью 1, 2 или 5 см³;

пробирки П1—16—150 ХС по ГОСТ 25336—82;

стекла покровные по ГОСТ 6672—75;

стекла предметные по ГОСТ 9284—75;

термометры стеклянные ртутные от 0 до 50 °С и от 50 до 100 °С по ГОСТ 28498—90 и нормативным документам;

цилиндры 1(3)—100 по ГОСТ 1770—74;

чашки ЦБН-2 (Петри) по ГОСТ 25336—82;

бумагу фильтровальную по ГОСТ 12026—76;

вату медицинскую гигроскопическую по ГОСТ 5556—81;

марлю медицинскую по ГОСТ 9412—93;

лупу складную карманную по ГОСТ 25706—83;

ножи и скальпели медицинские по ГОСТ 21240—89;

пинцеты по ГОСТ 21241—89;

спиртовку по ГОСТ 25336—82 или газовую горелку;

мясо-пептонный бульон (МПБ);

агар микробиологический по ГОСТ 17206—96;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72;

* См. примечания ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» (с. 5).

спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962—67;
 спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300—87;
 сусло солодовое неохмеленное;

кислоту лимонную по ГОСТ 908—79, раствор с массовой долей 20 %; готовят следующим образом: 20 г лимонной кислоты переносят в мерную колбу, доводят объем водой до 100 см³, разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение 20 мин;

пробоотборник или шуп из нержавеющей стали;

чашка нейзильберовая вместимостью 150 см³.

Допускается применение другой аппаратуры, лабораторной посуды с метрологическими и техническими характеристиками не ниже установленных в настоящем стандарте.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

3.1. Подготовка посуды и материалов

3.1.1. Посуду, предназначенную для микробиологического анализа, моют, а новую — дополнительно кипятят в подкисленной воде (раствор соляной кислоты массовой долей 1—2 %) в течение 15 мин, затем ополаскивают дистиллированной водой и стерилизуют.

Посуду стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 170 °С в течение 2 ч или в стерилизаторе при температуре (121 ± 2) °С в течение 30 мин с последующим подсушиванием.

Чашки Петри, пипетки стерилизуют завернутыми в бумагу или в металлических пеналах. В конец пипетки предварительно вкладывают кусочек ваты. Резиновые пробки стерилизуют в стерилизаторе, завернутыми в бумагу.

Стерильную посуду хранят в плотно закрывающихся шкафах.

3.1, 3.1.1. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

3.2. Приготовление питательных сред

3.2.1. Приготовление мясо-пептонного агара

К 1000 см³ мясо-пептонного бульона прибавляют 20 г агара, нагревают на водяной бане до растворения, фильтруют через вату, разливают в колбы и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °С в течение 15 мин.

3.2.2. Приготовление солодового сусло-агара

1000 см³ неохмеленного солодового сусла, разбавленного питьевой водой до массовой доли сухих веществ 8—10 %, фильтруют через вату, прибавляют 20 г агара, нагревают на водяной бане до расплавления агара, затем разливают в стерильные колбочки и стерилизуют 15 мин при температуре (115 ± 1) °С.

Среду охлаждают до (45—55) °С и устанавливают рН 3,6 ± 0,1, добавляя 2—3 см³ раствора лимонной кислоты с массовой долей 20 %. Готовую среду хранят в холодильнике при температуре (4 ± 1) °С не более 7 сут. Если по истечении 7 сут среда остается стерильной, то допускается хранение ее в течение 1 мес.

3.3. Проведение серии десятикратных разведений

В нейзильберовой чашке, предварительно обработанной этиловым спиртом и обожженной над спиртовкой, взвешивают 10 г сахара, записывая результат взвешивания до второго десятичного знака.

Навеску переносят в плоскодонную колбу с 90 см³ стерильной воды, взбалтывают до полного растворения и получают первое (исходное) разведение.

Второе разведение готовят из одной части первого разведения и девяти частей стерильной воды путем смешивания в стерильной колбе или пробирке.

Разведения готовят до такой степени, чтобы можно было определить предполагаемое количество микроорганизмов в 1 г сахара.

При приготовлении разведений растворы перемешивают стерильной пипеткой путем десятикратного насыпания и выдувания из нее содержимого.

Интервал между приготовлением навесок или их разбавлений и высевом в питательные среды не должен превышать 30 мин.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

4.1. Метод определения общего количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов

4.1.1. Из разведений, приготовленных по п. 3.3, стерильной пипеткой отбирают по 1 или 2 см³

исследуемого раствора сахара и высевают параллельно в две чашки Петри для каждого разведения. При посеве крышку чашки Петри слегка приоткрывают и посевной материал вносят на дно чашки.

В каждую чашку Петри не позднее чем через 15 мин добавляют 15—20 см³ питательной среды (мясо-пептонного агара). Чашки осторожно вращают круговыми движениями, чтобы посевной материал равномерно распределился по всей питательной среде и оставляют в горизонтальном положении до полного застывания. После застывания среды чашки помещают в термостат вверх дном на (72±3) ч при температуре (30±1) °С.

4.2. Метод определения количества дрожжей и плесневых грибов

Из разведений, приготовленных по п. 3.3, стерильной пипеткой отбирают по 1 или 2 см³ исследуемого раствора сахара и высевают параллельно в две чашки Петри для каждого разведения. При посеве крышку чашки Петри слегка приоткрывают и посевной материал вносят на дно чашки. Пробу заливают 15—20 см³ питательной среды (солодовое сусло-агар). Чашки осторожно вращают круговыми движениями, чтобы посевной материал равномерно распределился по всей питательной среде, и оставляют в горизонтальном положении до полного застывания. После застывания среды чашки помещают в термостат вверх дном на 120 ч при температуре 24—30 °С.

4.3. Бактерии группы кишечных палочек и патогенных микроорганизмов определяют по методам, утвержденным органами государственного санитарно-эпидемиологического надзора.

4.2, 4.3. (Измененная редакция, Изм. № 1).

5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1. После термостатирования через 24 ч для мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов и через 72 ч для дрожжей и плесневых грибов проводят предварительный подсчет колоний.

5.2. Окончательный подсчет колоний проводят через (72±3) ч для мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов и через 120 ч для дрожжей и плесневых грибов.

При окончательном подсчете дрожжевых колоний допускается их микроскопировать.

Если колоний немного, количество определяют визуально; если много, то подсчет ведут на 1/4 или 1/8 площади чашки при помощи лупы, делая затем пересчет на всю чашку и на количество засеянного сахара.

Колонии микроорганизмов подсчитывают в каждом из параллельных посевов одного разведения. По результатам подсчета вычисляют среднее арифметическое значение количества колоний во всех посевах одного разведения.

Если имеются колонии, выросшие не из одного, а из следующих друг за другом разведений, то подсчитывают количество микроорганизмов в сахаре по результатам подсчета колоний в каждом из этих разведений отдельно и вычисляют среднее арифметическое значение.

Количество микроорганизмов в 1 г сахара (X) вычисляют по формуле

$$X = \frac{a \cdot 10^n}{V},$$

где a — среднее арифметическое значение количества микроорганизмов в одном разведении;

n — степень разведения продукта;

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

Полученные результаты округляют:

до числа, кратного 5 — если среднее арифметическое значение количества микроорганизмов менее 100 (например, 71 до 75; 83 до 85);

до числа, кратного 20 — если среднее арифметическое значение количества микроорганизмов более 100 и оканчивается цифрой 5 (например, 115 до 120; 125 до 140);

до числа, кратного 10 — если среднее арифметическое значение количества микроорганизмов более 100 и не оканчивается цифрой 5 (например, 116 до 110; 111 до 110; 121 до 120).

Результат вычислений выражают числом — от 1,0 до 9,9, умноженным на 10ⁿ,

где n — соответствующая степень разведения продукта.

Пример: 75—0,75 × 10²; 1110—1,11 × 10³.

ПРИМЕЧАНИЯ ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

1 На первой странице дополнить кодом: МКС 67.180.10 (указатель «Национальные стандарты», 2008).

2 Пункт 1.1

ГОСТ 12569—85 заменен на ГОСТ 12569—99;

Пункт 2.1

ГОСТ 24104—88. С 1 июля 2002 г. действует ГОСТ 24104—2001;

ГОСТ 5962—67. На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000;

ГОСТ 908—79 заменен на ГОСТ 908—2004.

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *В.И. Прусакова*
Корректор *М.С. Кабакова*
Компьютерная верстка *А.И. Золотаревой*

Подписано в печать 02.09.2008. Формат 60x84^{1/8}. Бумага офсетная. Гарнитура Тайме. Печать офсетная. Усл.печ.л. 0,93.
Уч.-изд.л. 0,47. Тираж 84 экз. Зак. 1110.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.

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