

## ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

## Методы выявления и определения количества осмоотолерантных дрожжей и плесневых грибов

ГОСТ  
28805—90Food products. Methods for detection and determination  
of osmotolerant yeast and mould quantityМКС 07.100.30  
ОКСТУ 9109Дата введения 01.01.93

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты и устанавливает методы определения количества осмоотолерантных дрожжей и плесневых грибов посевом пищевого продукта или его разведения в агаризованную среду, определения наиболее вероятного числа (НВЧ) и выявления присутствия (отсутствия) осмоотолерантных 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) осмоотолерантных 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<sup>3</sup> более 15 осмоотолерантных дрожжей и (или) содержащих в 1 г более 50 или в 1 см<sup>3</sup> более 5 осмоотолерантных плесневых грибов.

Метод НВЧ предназначен для пищевых продуктов, содержащих в 1 г менее 150, но в 10 г более 3 или 1 см<sup>3</sup> менее 15, но в 100 см<sup>3</sup> более 3 осмоотолерантных дрожжей и (или) содержащие в 1 г менее 50, но в 10 г более 3 или в 1 см<sup>3</sup> менее 5, но в 100 см<sup>3</sup> более 3 осмоотолерантных 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  $\pm 2$  мг (для взвешивания реактивов);

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

микроскоп световой биологический, обеспечивающий увеличение 90—900 $\times$ ;

стекла предметные по ГОСТ 9284;

стекла покровные по ГОСТ 6672;

\* С 1 июля 2002 г. введен в действие ГОСТ 24104—2001.

термостат с диапазоном рабочих температур 28 °С—55 °С, позволяющий поддерживать заданную температуру с погрешностью  $\pm 1^\circ\text{C}$ ;  
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<sup>3</sup>: 1 г метиленового синего переносят в фарфоровую ступку и постепенно растворяют в дистиллированной воде. Раствор переносят к мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> дрожжевого экстракта постепенно при нагревании на водяной бане добавляют к 345 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. После расплавления сахаров смесь охлаждают до  $(50\pm 5)^\circ\text{C}$ . Устанавливают рН среды таким образом, чтобы он составлял  $5,8\pm 0,1$  (в пересчете на  $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ ). Питательную среду разливают в колбы и (или) пробирки и стерилизуют текущим паром в течение 30 мин.

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

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

После расплавления сахара смесь охлаждают до  $(50\pm 5)^\circ\text{C}$ .

Устанавливают рН среды таким образом, чтобы он составлял  $5,8\pm 0,1$  (в пересчете на  $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ ).

Питательную среду разливают в колбы и стерилизуют текущим 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<sup>3</sup> солодового сусла, приготовленного по ГОСТ 10444.1, добавляют 420,0 г сахара-рафинада, нагревая перемешивают до полного его растворения, фильтруют, охлаждают до  $(50\pm 5)^\circ\text{C}$ . Устанавливают с помощью молочной кислоты рН таким образом, чтобы он составлял  $3,6\pm 0,1$  (в пересчете на  $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ ). Сусло с сахарозой разливают по 60 см<sup>3</sup> в колбы и стерилизуют текущим паром в течение 30 мин.

Приготовление агаризованного сусла: к 500 см<sup>3</sup> солодового сусла с рН  $3,6\pm 0,1$  добавляют 30,0 г агара, нагревают, при перемешивании расплавляют агар. Среду фильтруют и разливают по 40 см<sup>3</sup> в колбы, затем стерилизуют текущим паром в течение 30 мин.

Непосредственно перед посевом агаризованное сусло расплавляют на водяной бане, а сусло с сахарозой нагревают до температуры  $(50\pm 5)^\circ\text{C}$  и две эти части смешивают.

3.3.2. Питательные среды с антибиотиками и сахарозой: к 1 дм<sup>3</sup> 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 рН таким образом, чтобы он составлял  $6,5\pm 0,1$  (в пересчете на  $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ ).

Питательную среду разливают по 100 см<sup>3</sup> в колбы и стерилизуют текущим 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<sup>3</sup>) предполагаемое количество осмоотolerантных дрожжей и плесневых грибов или количество, указанное в нормативно-технической документации на конкретный продукт.

4.2. При определении количества осмоотолерантных 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 осмоотолерантных дрожжей и плесневых грибов методом посева в агаризованные среды по 1 см<sup>3</sup> 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) осмоотолерантных 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<sup>3</sup> 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 осмоотолерантных дрожжей и плесневых грибов разделяют визуально.

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

Рост осмоотолерантных 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 осмоотолерантных дрожжей и (или) плесневых грибов, считают положительными.

## 5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1. Результаты испытания оценивают на каждой пробе отдельно.

5.2. Пересчет количества осмоотолерантных дрожжей и плесневых грибов на 1 г (см<sup>3</sup>) продукта проводят по ГОСТ 10444.12.

5.3. Наиболее вероятное число (НВЧ) осмоотолерантных дрожжей и плесневых грибов в 1 г (см<sup>3</sup>) продукта определяют по количеству положительных колб (пробирок), пользуясь таблицей, приведенной в ГОСТ 30425.

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

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

осмоотолерантные 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 и 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, подпункта
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