



СОВЕТ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ВЗАИМОПОМОЩИ

**СТАНДАРТ СЭВ
СТ СЭВ 4251—83**

ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА ДРОЖЖЕЙ
И ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ**

Цена 3 коп.

1985

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 26 апреля 1984 г. № 1440 стандарт Совета Экономической Взаимопомощи СТ СЭВ 4251—83 «Пищевые продукты. Метод определения количества дрожжей и плесневых грибов» введен в действие непосредственно в качестве государственного стандарта СССР

в договорно-правовых отношениях по сотрудничеству

с 01.07.85

СОВЕТ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ВЗАИМОПОМОЩИ	СТАНДАРТ СЭВ	СТ СЭВ 4251—83
	ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ	Взамен РС 4869—75 и РС 4870—75
	Метод определения количества дрожжей и плесневых грибов	Группа Н09

1. СУЩНОСТЬ МЕТОДА

Метод основан на высеве определенного количества продукта или его разведений в селективную агаризованную среду, культивировании посевов при $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 5 д, подсчете всех видимых колоний дрожжей и плесневых грибов, типичных по макро- (или) микроскопической морфологии.

2. ПРОБЫ

2.1. Пробы отбирают и подготавливают к анализу по СТ СЭВ 3013—81 и СТ СЭВ 3014—81.

2.2. Масса (объем) навески, предназначенной для приготовления разведения, должна составлять не менее $(10 \pm 1) \text{ g (cm}^3\text{)}$, а предназначенной для непосредственного посева в питательные среды — не менее $1 \text{ g (cm}^3\text{)}$.

3. АППАРАТУРА

Для проведения анализа применяют аппаратуру по СТ СЭВ 3014—81 со следующим дополнением:

- 1) микроскоп;
- 2) термостат на $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- 3) чашки бактериологические с внутренним диаметром (90 ± 2) или $(100 \pm 2) \text{ mm}$;
- 4) пипетки вместимостью 1 и 10 cm^3 ;
- 5) стекла предметные;
- 6) петли бактериологические;
- 7) фильтры мембранные со средним диаметром пор $0,5—0,8 \text{ }\mu\text{m}$;
- 8) палочки стеклянные с загнутым концом.

Утвержден Постоянной Комиссией по сотрудничеству
в области стандартизации
Дрезден, декабрь 1983 г.

4. РЕАКТИВЫ, РАСТВОРЫ, ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

- 4.1. Для проведения анализа применяют:
- 1) дрожжевой экстракт в порошке сухой;
 - 2) глюкозу;
 - 3) агар;
 - 4) сусло солодовое неохмеленное или виноградное, с массовой долей сухих веществ 7—8%;
 - 5) кислоту лимонную, 20%-ный водный раствор;
 - 6) бенгальскую красную, 0,15%-ный раствор; готовят следующим образом: 0,15 g бенгальской красной растворяют в 100 см³ дистиллированной воды и стерилизуют в течение 15 min при температуре (121±1) °C. Стерильный раствор хранят в герметически закрытом сосуде не более двух недель при температуре (4±1) °C;
 - 7) основу для агаризованных питательных сред с антибиотиками; готовят следующим образом: 5g дрожжевого экстракта, 20 g глюкозы, 20 g агара добавляют к 1000 см³ дистиллированной воды. Смесь подогревают, периодически помешивая, до расплавления составных частей, охлаждают до 45—55 °C, устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации он составлял при 25 °C 6,5±0,1, стерилизуют в течение 15 min при (121±1) °C. Основу среды хранят при температуре (4±1) °C не более 14 d;
 - 8) среду агаризованную с хлортетрациклином и хлорамфениколом; готовят следующим образом: к 950 см³ расплавленной и охлажденной до 45—47 °C основы добавляют по 25 см³ свежеприготовленных и стерилизованных путем мембранной фильтрации растворов хлорамфеникола и хлортетрациклина;
 - 9) среду агаризованную с окситетрациклином; готовят следующим образом: к 900 см³ расплавленной и охлажденной до 45—47 °C основы добавляют 100 см³ свежеприготовленного и стерилизованного путем мембранной фильтрации раствора окситетрациклина;
 - 10) среду агаризованную с хлорамфениколом; готовят следующим образом: к 975 см³ расплавленной и охлажденной до 45—47 °C основы добавляют 25 см³ свежеприготовленного и стерилизованного путем мембранной фильтрации раствора хлорамфеникола (допускается хлорамфеникол стерилизовать вместе с основой в течение 15 min при (121±1) °C);
 - 11) среду агаризованную с окситетрациклином и гентамицином, готовят следующим образом: перед применением к 1000 см³ расплавленной и охлажденной до 45—47 °C основы добавляют 100 см³ раствора окситетрациклина и 10 см³ раствора гентамицина свежеприготовленных и стерилизованных путем мембранной фильтрации.

Среды с антибиотиками хранению не подлежат. В случае необходимости для ингибирования развития воздушного мицелия плесневых грибов, к среде с антибиотиками добавляют раствор

красной бенгальской так, чтобы ее окончательная концентрация была 150 мг на 1000 см³ готовой среды;

12) солодовое неохмеленное сусло; готовят следующим образом: к 1000 см³ водопроводной воды, подогретой до $(50 \pm 1)^\circ\text{C}$, прибавляют 200 г молотого ячменного солода. Смесь тщательно перемешивают в течение 30 мин, подогревают на водяной бане со скоростью 1°C в мин до $(55 \pm 1)^\circ\text{C}$, выдерживают паузу 15 мин, затем вновь с той же скоростью поднимают температуру до $63\text{—}65^\circ\text{C}$ и удерживают ее на этом уровне в течение 1 ч. Температуру поднимают со скоростью 1°C в 1 мин до $(72 \pm 1)^\circ\text{C}$ и выдерживают сусло при этой температуре до полного осахаривания. Степень осахаривания сусла проверяют раствором Люголя. Для этого каплю сусла переносят в фарфоровую чашку и осторожно прибавляют к нему каплю раствора Люголя. Окончательно осахаренное сусло не должно менять окраску в присутствии индикатора. Полученное сусло фильтруют через полотно или фильтровальную бумагу, доливают до 1000 см³ и стерилизуют 30 мин в автоклаве при $107\text{—}110^\circ\text{C}$. Затем сусло декантируют. Прозрачное сусло разбавляют водой до получения раствора с массовой долей сухих веществ $7\text{—}8\%$, разливают в стерильную посуду, стерилизуют в течение 20 мин при $(116 \pm 1)^\circ\text{C}$. Солодовое сусло можно заменить виноградным суслом, доводя массовую долю сухих веществ в растворе до $7\text{—}8\%$;

13) сусло солодовое агаризованное; готовят следующим образом: к 1000 см³ солодового неохмеленного или виноградного сусла с массовой долей сухих веществ $7\text{—}8\%$ прибавляют 20 г агара. Среду нагревают на водяной бане до полного расплавления агара и фильтруют через гигроскопическую вату или фильтровальную бумагу. Фильтрат разливают в стерильные колбы или пробирки и стерилизуют в течение $15\text{—}20$ мин при $(116 \pm 1)^\circ\text{C}$. Охлаждают до $(45\text{—}55)^\circ\text{C}$ и устанавливают рН $3,6 \pm 0,1$, добавляя $2\text{—}3$ см³ стерильного 20%-ного раствора лимонной кислоты. Готовую среду хранят в холодильнике при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ не более 7д;

14) гентамицин, 0,5%-ный водный раствор;

15) окситетрациклин, основание или гидрохлорид, 0,1%-ный водный раствор;

16) хлортетрациклин, гидрохлорид, 0,4%-ный водный раствор;

17) хлорамфеникол (левомицетин), 0,4%-ный водный раствор.

4.2. Для приготовления растворов антибиотиков, перечисленных в позициях 14, 15, 16, 17, используют дистиллированную или бидистиллированную воду с рН от 6,8 до 7,0.

4.3. Перед применением растворы антибиотиков, перечисленных в позициях 14, 15, 16, 17, стерилизуют методом мембранной фильтрации.

Стерильные растворы антибиотиков для инъекций допускается использовать без предварительной мембранной фильтрации.

5. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

5.1. Из навески продукта готовят исходное и ряд десятикратных разведений до такой степени, чтобы можно было определить предполагаемое количество дрожжей и плесневых грибов в 1 г (см^3) исследуемого продукта.

5.2. Высевают по 1 см^3 продукта и (или) его соответствующих разведений параллельно в две стерильные чашки Петри. В каждую чашку Петри, содержащую инокулум, добавляют не позднее чем через 15 мин (14 ± 1) см^3 агаризованной среды, охлажденной до (45 ± 1) °С. Среду немедленно тщательно перемешивают и оставляют для застывания.

5.3. Для ориентировочных исследований пищевых продуктов допускается посев на поверхность плотных питательных сред по СТ СЭВ 3015—81, п. 2.4.

5.4. Для пищевых продуктов, в которых предполагают содержание небольшого количества дрожжей, допускается использовать метод мембранной фильтрации по СТ СЭВ 3015—81, п. 2.6.

5.5. При разногласии в оценке качества продукта используют агаризованную среду с хлорамфениколом и (или) хлорамфениколом и хлортетрациклином. Инокуляция проводится глубинным методом по п. 5.2.

5.6. После застывания сред посевы инкубируют крышкой вверх при (24 ± 1) °С в течение 5 d. Через 3 d инкубирования проводят предварительный учет типичных колоний, а через 5 d — окончательный, наблюдая за ростом дрожжей и плесневых грибов визуально, а при необходимости и микроскопически (методом нативной микроскопии).

6. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

6.1. Результат оценивают по каждой пробе отдельно.

6.2. Для подсчета отбирают чашки с посевами, где выросло от 15 до 150 колоний дрожжей и (или) от 5 до 50 колоний плесневых грибов.

6.3. Результаты обрабатывают, пересчитывают и записывают в соответствии с СТ СЭВ 3015—81 отдельно для дрожжей и плесневых грибов.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. Автор — Делегация НРБ и ЧССР в Постоянной Комиссии по сотрудничеству в области легкой промышленности.
2. Темы 20.010.09—81 и 20.010.10—81.
3. Стандарт СЭВ утвержден на 54-м заседании ПКС.
4. Сроки начала применения стандарта СЭВ:

Страны — члены СЭВ	Сроки начала применения стандарта СЭВ	
	в договорно-правовых отношениях по экономическому и научно-техническому сотрудничеству	в народном хозяйстве
НРБ	Июль 1986 г.	
ВНР	Июль 1986 г.	—
СРВ		
ГДР	Июль 1985 г.	Июль 1985 г.
Республика Куба	Июль 1986 г.	Июль 1986 г.
МНР		
ПНР		
ОРР	Январь 1985 г.	—
СССР	Июль 1985 г.	
ЧССР	Июль 1986 г.	Июль 1986 г.

б. Срок проверки — 1988 г.

Сдано в наб. 29.01.85 Подп. в печ. 25.03.85 0,5 усл. п.³л. 0,5 усл. кр.-отт. 0,32 уч.-изд. л.
Тир. 4000 Цена 3 коп

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123840, Москва, ГСП, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник», Москва, Лялин пер., 6. Зак. 168