

ГОСТ 26968—86

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

САХАР

МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Издание официальное



**Москва
Стандартинформ
2012**

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

САХАР

Методы микробиологического анализа

ГОСТ

26968—86

Sugar.

Methods of microbiological analysis

МКС 67.180.10
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 № 2—92 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—99* и ГОСТ 26668—85**.

Пробы от продуктов отбирают асептическим способом, исключающим 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±2) °С 30 мин;

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

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

* Утратил силу на территории РФ, с 01.01.2013 пользоваться ГОСТ Р 54640—2011.

** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 54004—2010.

Издание официальное

Издание (март 2012 г.) с Изменением № 1, утвержденным в апреле 1995 г. (ИУС 7—95)

Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1986

© СТАНДАРТИНФОРМ, 2012

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, отбиравших 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 водянную;
 весы лабораторные 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104—2001*;
 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);

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008.

C. 3 ГОСТ 26968—86

агар микробиологический по ГОСТ 17206—96;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72;

спирт этиловый ректифицированный по ГОСТ 5962—67*;

спирт этиловый ректифицированный 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) °C в течение 20 мин;

пробоотборник или щуп 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 °C в течение 2 ч или в стерилизаторе при температуре (121 ± 2) °C 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 мяса-пептонного бульона прибавляют 20 г агара, нагревают на водяной бане до растворения, фильтруют через вату, разливают в колбы и стерилизуют при температуре (121 ± 1) °C в течение 15 мин.

3.2.2. Приготовление солодового сусла-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) °C.

Среду охлаждают до (45—55) °C и устанавливают pH 3,6±0,1, добавляя 2—3 см³ раствора лимонной кислоты с массовой долей 20 %. Готовую среду хранят в холодильнике при температуре (4±1) °C 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 смещивания 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 насасывания 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).

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000.

4. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

4.1. Метод определения общего количества мезофильных аэробных и факультативно-аэробных 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 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 среднеарифметическое 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 раздельно и вычисляют среднеарифметическое значение.

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

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

где a — среднеарифметическое 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 среднеарифметическое значение количества микроорганизмов менее 100 (например, 71 до 75; 83 до 85);

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

до числа, кратного 10 — если среднеарифметическое 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.

С О Д Е Р Ж А Н И Е

ГОСТ 21—94 Сахар-песок. Технические условия	3
ГОСТ Р 53396—2009 Сахар белый. Технические условия	15
ГОСТ Р 52305—2005 Сахар-сырец. Технические условия	31
ГОСТ Р 53035—2008 Сахар жидкий. Технические условия	39
ГОСТ 12569—99 Сахар. Правила приемки и методы отбора проб	55
ГОСТ 12570—98 Сахар. Метод определения влаги и сухих веществ	63
ГОСТ 12571—98 Сахар. Метод определения сахарозы	69
ГОСТ 12572—93 Сахар-песок и сахар-рафинад. Методы определения цветности	77
ГОСТ 12573—67 Сахар. Метод определения ферропримесей	85
ГОСТ 12574—93 Сахар-песок и сахар-рафинад. Методы определения золы	89
ГОСТ 12575—2001 Сахар. Методы определения редуцирующих веществ	95
ГОСТ 12576—89 Сахар. Методы определения внешнего вида, запаха, вкуса и чистоты раствора	109
ГОСТ 12577—67 Сахар-рафинад. Методы определения крепости и продолжительности растворения в воде	113
ГОСТ 12578—67 Сахар-рафинад. Метод определения мелочи (осколков, кристаллов и пудры)	117
ГОСТ 12579—67 Сахар-песок и сахар-рафинад. Метод определения гранулометрического состава	121
ГОСТ 26521—85 Сахар. Метод определения массы нетто	125
ГОСТ 26884—2002 Продукты сахарной промышленности. Термины и определения	131
ГОСТ 26907—86 Сахар. Условия длительного хранения	143
ГОСТ 26968—86 Сахар. Методы микробиологического анализа	147

САХАР

Технические условия

Правила приемки

Методы анализа

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.Е. Нестерова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 23.03.2012. Подписано в печать 04.05.2012. Формат 60×84 1/8.
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 17,67. Уч.-изд. л. 16,15. Тираж 300 экз.
Изд. № 4086/2. Зак. 785.

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

www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ

Отпечатано в Калужской типографии стандартов, 248021 Калуга, ул. Московская, 256