



НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ

---

**МОЛОКО ТА МОЛОЧНІ ПРОДУКТИ**  
**Методи мікробіологічного контролювання**  
**ДСТУ ХХХХ:200Х**

*Видання офіційне*

**Київ**  
**ДЕРЖСПОЖИВСТАНДАРТ УКРАЇНИ**  
**2007**

## ПЕРЕДМОВА

**1 РОЗРОБЛЕНО:** Технологічний інститут молока та м'яса Української академії аграрних наук (ТІММ УААН)

**РОЗРОБНИКИ:** Г.О.Єресько, докт. техн. наук; С.Г.Даниленко, канд. техн. наук; Н.Ф.Кігель, докт. техн. наук (керівник розробки).

**2 ПРИЙНЯТО ТА НАДАНО ЧИННОСТІ:** наказ Держспоживстандарту України від “ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 200\_ р. № \_\_\_\_\_

**3 УВЕДЕНО ВПЕРШЕ** (зі скасуванням в Україні ГОСТ 9225-84, крім пунктів)

---

**Право власності на цей документ належить державі.  
Відтворювати, тиражувати і розповсюджувати його повністю чи  
частково на будь-яких носіях інформації без офіційного дозволу  
заборонено.**

**Стосовно врегулювання прав власності треба звертатися до  
Держспоживстандарту України**

Держспоживстандарт України, 200\_

## ЗМІСТ

	С.
1 Сфера застосування .....	1
2 Нормативні посилання .....	1
3 Терміни та визначення понять.....	4
4 Обладнання, матеріали та реактиви.....	4
5 Методи відбирання проб.....	7
6 Маркування, транспортування та зберігання проб.....	13
7 Підготування до контролювання.....	14
8 Методи контролювання.....	24
Додаток А (обов'язковий) Шкала кольору для визначання класу молока за редуцтазною пробою	35
Додаток В (інформаційний) Мікрофотографії різних молочних продуктів згідно асортименту, наведеного в ДСТУ 2212:2003	36



---

**НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ**

---

**МОЛОКО ТА МОЛОЧНІ ПРОДУКТИ**  
**Методи мікробіологічного контролювання****МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ**  
**Методы микробиологического контроля****MILK AND MILK PRODUCTS**  
**Methods of microbiological analysis**

---

Чинний від \_\_\_\_\_

**1 СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ**

Цей стандарт установлює методи мікробіологічного контролювання сторонньої мікрофлори у наступних продуктах:

- молоко, рідкі молочні та кисломолочні продукти; маслянку, сироватку, вершки пастеризовані, густі та напівгусті молочні продукти (сметану, десерти, пасти);
- сухе молоко, суху сироватку, суху маслянку, сухі молочні білкові продукти та інші подібні до них продукти, таблетковані продукти та продукти в капсулах, молочний цукор, молочно-овочеve пюре, замітники незбираного молока;
- сир кисломолочний, сиркові вироби, напівфабрикати, масу сирну для плавлення, сир твердий, напівтвердий, м'який, розсільний та свіжий;
- кислотний казеїн, молочний казеїн, сичужний казеїн;
- вершкове масло, подібні до нього продукти, спреди, суміші жирів;
- заморожені молочні продукти, зокрема, морозиво, торти і рулети сиркові та з морозива, молочні коктейлі;
- молоко та вершки згущені з цукром та іншими наповнювачами, молочні концентрати, какао і кава зі згущеним молоком і цукром;
- закваски сухі та рідкі, , бактеріальні концентрати, бактеріальні препарати прямого внесення.

---

Видання офіційне

## 2 НОРМАТИВНІ ПОСИЛАННЯ

**Цей стандарт містить посилання на такі нормативні документи:**

ДСТУ 2636-94 Загальна мікробіологія. Терміни та визначення

ДСТУ 2212:2003 Молочна промисловість. Виробництво молока та кисломолочних продуктів. Терміни та визначення понять

ДСТУ 4273:2003 Молоко та вершки сухі. Загальні технічні умови

ДСТУ ISO 707-2002 Молоко та молочні продукти. Настанови з відбирання проб

ДСТУ ISO 5538:2004 Молоко та молочні продукти. Відбирання проб. Контроль за якісними ознаками

ДСТУ ISO 3696:2003 Вода для застосування в лабораторіях. Вимоги та методи перевірення

ДСТУ IDF 100B-2003 Молоко і молочні продукти. Визначення кількості мікроорганізмів. Метод підрахунку колоній за температури 30 °С

ДСТУ IDF 73A-2003 Молоко і молочні продукти. Підраховування кількості коліформ. Метод підраховування колоній і метод визначання найімовірнішого числа (НІЧ) за температури 30 °С (IDF 73A:1985, IDT)

ДСТУ IDF 122C:2003 Молоко і молочні продукти. Готування проб і розведень для мікробіологічного дослідження.

ГОСТ 545-76 Йод технический. Технические условия. (Йод технічний. Технічні умови)

ГОСТ 975-88 Глюкоза кристаллическая гидратная. Технические условия (Глюкоза кристалічна гідратна. Технічні умови)

ГОСТ 1341-97 Пергамент растительный. Технические условия. (Пергамент рослинний. Технічні умови)

ГОСТ 1770-84 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические требования (Посуд мірний лабораторний скляний. Циліндри, мензурки, колби, пробірки. Загальні технічні вимоги)

ГОСТ 2156-76 Натрий двууглекислый. Технические условия (Натрій двовуглекислий. Технічні умови)

ГОСТ 2874-82 Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством (Вода питна. Гігієнічні вимоги та контроль за якістю).

ГОСТ 3118-77 Кислота соляная. Технические условия (Кислота соляна. Технічні умови).

ГОСТ 3624-92 Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности (Молоко і молочні продукти. Титриметричні методи визначення кислотності)

ГОСТ 4198-75 Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия. (Калій фосфорнокислий однозаміщений. Технічні умови)

ГОСТ 4232-74 Калий йодистый. Технические условия. (Калій йодид. Технічні умови).

ГОСТ 4233-77 Натрий хлористый. Технические условия (Натрій хлористий. Технічні умови).

ГОСТ 4328-77 Натрий гидроксид. Технические условия. (Натрію гідроксид. Технічні умови )

ГОСТ 4523-77 Магний сернокислый 7-водный. Технические условия (Магній сірчанокислий 7-водний. Технічні умови)

ГОСТ 5556-81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия. (Вата медична гігроскопічна. Технічні умови)

ГОСТ 6259-75 Глицерин. Технические условия (Гліцерин. Технічні умови)

ГОСТ 6672-75 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия (Скельця покривні для мікропрепаратів. Технічні умови)

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия. (Вода здистильована. Технічні умови )

ГОСТ 8074-82 Микроскопы инструментальные. Типы, основные параметры и размеры. Технические требования (Мікроскопи інструментальні. Типи, основні параметри і розміри. Технічні вимоги)

ГОСТ 8273-75 Бумага обёрточная. Технические условия (Папір для обгортання. Технічні умови)

ГОСТ 9147-80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия (Посуд та обладнання лабораторні порцелянові. Технічні умови)

ГОСТ 10444.15-94 Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (Продукти харчові. Методи визначення кількості мезофільний аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів)

ГОСТ 10778-83 Шпатели. Технические условия (Шпателі. Технічні умови)

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия (Папір фільтрувальний лабораторний. Технічні умови)

ГОСТ 13739-78 Масло иммерсионное для микроскопии. Технические требования. (Масло імерсійне для мікроскопії. Технічні вимоги)

ГОСТ 13805-76 Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей. Технические условия (Пептон ферментований сухий для бактеріологічного контролювання. Технічні умови)

ГОСТ 13928-84 Молоко и сливки заготавливаемые. Правила приемки, методы отбора проб и подготовка их к анализу. (Молоко та вершки, що заготовляють. Правила приймання, методи відбору проб та підготовка їх до контролювання)

ГОСТ 17151-81 Посуда хозяйственная из листового алюминия. Общие технические условия. (Посуд побутовий з листового алюмінію. Загальні технічні умови)

ГОСТ 17206-96 Агар микробиологический. Технические условия (Агар мікробіологічний. Технічні умови)

ГОСТ 18300-87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия. (Спирт етиловий ректифікований технічний. Технічні умови)

ГОСТ 19569-89 Стерилизаторы паровые медицинские. Общие технические требования и методы испытаний (Стерилізатори парові медичні. Загальні технічні вимоги та методи випробовувань)

ГОСТ 19881-74 Анализаторы потенциометрические для контроля рН молока и молочных продуктов. Общие технические условия (Аналізатори потенціометричні для контролю рН молока та молочних продуктів. Загальні технічні умови)

ГОСТ 20015-88 Хлороформ. Технические условия (Хлороформ. Технічні умови)

ГОСТ 22280-76 Натрий лимоннокислый 5,5-водный. Технические условия (Натрій цитрат 5,5-водний. Технічні умови)

ГОСТ 23932-90 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры. (Посуд та обладнання лабораторне скляне. Типи, основні параметри та розміри)

ГОСТ 24104-1988 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия (Ваги лабораторні загального призначення та взірцеві. Загальні технічні умови)

ГОСТ 24363-80 Калий гидроокись. Технические условия (Калій гідроксид. Технічні умови)

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры (Посуд та обладнання лабораторні скляні. Типи, основні параметри та розміри)

ГОСТ 25706-83 Лупы. Типы, основные параметры. Общие технические требования (Лупи. Типи, основні параметри. Загальні технічні вимоги)

ГОСТ 26809-86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу (Молоко і молочні продукти. Правила приймання, методи відбору та підготовки проб до контролювання)

ГОСТ 28498-90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний (Термометри рідинні скляні. Загальні технічні вимоги. Методи випробовувань)

ГОСТ 28694-90 Автоклавы ротационные. Типы и основные параметры  
(Автоклави ротаційні. Типи та основні параметри)

ГОСТ 29251-91 (ИСО 385-1-84) Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки  
Часть 1. Общие требования. (Посуд лабораторний скляний. Бюретки. Частина 1.  
Загальні вимоги)

### **3 ТЕРМІНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПОНЯТЬ**

Нижче подано терміни, вжиті у цьому стандарті, та визначення позначених ними понять:

#### **3.1 мікробне забруднення (contamination)**

Забруднення молока, молочних продуктів, середовища чи заквасок мікроорганізмами, що потрапили туди випадково.

#### **3.2 КУО**

Одиниця виміру кількості мікроорганізмів, яку визначають за кількістю колоній, що утворилися на певному селективному середовищі за відповідних умов.

#### **3.3 точкова проба**

Проба, яку відбирають одноразово з визначеної частини продукту.

#### **3.4 об'єднана проба**

Проба, що складається з декількох точкових проб.

#### **3.5 проба для контролювання**

Визначена кількість продукту, що відібрана для контролювання.

#### **3.4 промислова стерильність**

Відсутність або наявність у 1 см<sup>3</sup> (1 г) продукту не більш ніж 10 КУО мікроорганізмів.

Для консервованих продуктів – це відсутність мікрофлори, яка здатна рости за температури зберігання, що встановлюється для кожного окремого виду консервів, а також мікроорганізмів та мікробних токсинів, шкідливих для здоров'я людини.

Для бактеріальних препаратів – це наявність сторонньої мікрофлори, але не більше 20 КУО в 1 г препарату.

## **4 ЗАСОБИ ВИМІРЮВАЛЬНОЇ ТЕХНІКИ, ДОПОМІЖНЕ ОБЛАДНАННЯ, РЕАКТИВИ ТА МАТЕРІАЛИ**

### **4.1 Обладнання та посуд**

4.1.1 Баня водяна з терморегулятором за чинними нормативними документами.

4.1.2 Бюретки виконання 1,2 3-го класів точності, ємністю 5, 10, 50 см<sup>3</sup> з ціною поділки 0,1 см<sup>3</sup> згідно з ГОСТ 29251.

4.1.3 Ваги лабораторні 2-го класу точності згідно з ГОСТ 24104 з ціною поділки 0,001 г.

4.1.4 Ваги лабораторні 4-го класу точності згідно з ГОСТ 24104, ціна поділки 0,05 г.

4.1.5 Вата медична гігроскопічна за ГОСТ 5556.

4.1.6 Каструлі різні за ГОСТ 17151.

4.1.7 Колби виконання 1, 2-го класу точності, об'ємом 100, 200, 500, 1000 см<sup>3</sup> за ГОСТ 1770.

4.1.8 Корки гумові конусні згідно з чинними нормативними документами.

4.1.9 Ланцет згідно з чинними нормативними документами.

4.1.10 Лупа складна кишенькова за ГОСТ 25706.

4.1.11 Мікроскоп біологічний за ГОСТ 8074 або інших марок з аналогічними характеристиками.

4.1.12 Папір фільтрувальний за ГОСТ 12026.

4.1.13 Папір для обгортання за ГОСТ 8273.

4.1.14 Пергамент за ГОСТ 1341.

4.1.15 Петлі бактеріологічні згідно з чинними нормативними документами.

4.1.16 Піпетки градуйовані, відкалібровані на  $(1,0 \pm 0,02)$  см<sup>3</sup>,  $(10,0 \pm 0,2)$  см<sup>3</sup> за ГОСТ 23932.

4.1.17 Плитка електрична згідно з чинними нормативними документами

4.1.18 Прилад для підрахування колоній, що містить панель із підсвічуванням на темному фоні, яку обладнано збільшувальною лінзою зі збільшенням 1,5× та механічним або електронним цифровим лічильником згідно з чинними нормативними документами.

4.1.19 Пробійник згідно з чинними нормативними документами.

4.1.20 Поплавки скляні за ГОСТ 1770.

4.1.21 Пробірки типові П1, П2 діаметром 16 мм, висотою 150 мм і діаметром 21 мм, висотою 200 мм за ГОСТ 25336.

4.1.22 рН-метр, з температурною компенсацією, з точністю  $\pm 0,1$  одиниці рН за температури 25 °С за ГОСТ 19881.

4.1.23 Редуктажник, або інше обладнання, яке дозволяє підтримувати температуру 25-55 °С згідно з чинними нормативними документами..

4.1.24 Скельця предметні для мікропрепаратів за ГОСТ 6672.

4.1.25 Спиртівки лабораторні скляні за ГОСТ 23932 або газові пальники.

4.1.26 Стаканчики для зважування (бюкси) типів СВ і СН за чинними нормативними документами.

4.1.27 Стерилізатор паровий медичний за ГОСТ 19569 або автоклав, горизонтальний або вертикальний, що здатний підтримувати температуру  $(121 \pm 1)$  °С, за ГОСТ 28694.

4.1.28 Ступки лабораторні порцелянові за ГОСТ 9147

4.1.29 Термометри скляні рідинні (не ртутні), діапазон вимірювання від 0 °С до 100 °С, ціна поділки шкали 1 °С за ГОСТ 28498

4.1.30 Термостат, що здатний підтримувати температуру від 15 °С до 55 °С. з відхиленням від заданої температури  $\pm 1$  °С згідно з чинними нормативними документами..

4.1.31 Циліндри виконання 1, об'ємом 100, 500 см<sup>3</sup> за ГОСТ 1770.

4.1.32 Шафа сушильна, що дозволяє підтримувати температуру  $(160 \pm 5)$  °С згідно з чинними нормативними документами..

4.1.33 Шпателі металеві або порцелянові (15-20) см за ГОСТ 10778.

4.1.34 Чашки Петрі скляні за ГОСТ 23932 або пластикові згідно з чинними нормативними документами, внутрішнім діаметром дна 90 мм і 140 мм, внутрішньою глибиною не менше ніж 10 мм з рівним дном.

## **4.2 Реактиви**

4.2.1 Агар мікробіологічний за ГОСТ 17206.

4.2.2 Брильянтовий зелений згідно з чинними нормативними документами.

4.2.3 Бульйон поживний згідно з чинними нормативними документами.

4.2.4 Вода здистильована за ДСТУ ISO 3696 або ГОСТ 6709.

4.2.5 Вода питна за ГОСТ 2874.

4.2.6 Генціановий фіолетовий згідно з чинними нормативними документами.

4.2.7 Глюкоза кристалічна гідратна за ГОСТ 975.

4.2.8 Гліцерин за ГОСТ 6259

4.2.9 Дріжджовий екстракт згідно з чинними нормативними документами.

4.2.10 Жовч сільськогосподарських тварин (нативна) згідно з чинними нормативними документами.

4.2.11 Індикатор універсальний згідно з чинними нормативними документами.

4.2.12 Йод кристалічний за ГОСТ 545

4.2.13 Калій гідроксид за ГОСТ 24363.

4.2.14 Калій йодид за ГОСТ 4232

4.2.15 Калій фосфорнокислий однозаміщений за ГОСТ 4198.

4.2.16 Кислота карболова (фенол) згідно з чинними нормативними документами.

4.2.17 Кислота соляна за ГОСТ 3118.

4.2.18 D-Лактоза, 1-водна згідно з чинними нормативними документами.

4.2.19 Магній сірчаноокислий, 7-водний за ГОСТ 4523.

4.2.20 Масло імерсійне для мікроскопії за ГОСТ 13739.

4.2.21 Метиленовий синій згідно з чинними нормативними документами.

4.2.22 Молоко знежирене сухе згідно з ДСТУ 4273

4.2.23 Натрій гідроокис за ГОСТ 4328.

4.2.24 Натрій двовуглекислий за ГОСТ 2156.

4.2.25 Натрію цитрат тризаміщений, 5,5-водний за ГОСТ 22280.

4.2.26 Натрій хлористий (натрію хлорид) за ГОСТ 4233.

4.2.27 Нейтральний червоний згідно з чинними нормативними документами.

4.2.28 Панкреатин згідно з чинними нормативними документами.

4.2.29 Пептон желатиновий згідно з чинними нормативними документами.

4.2.30 Пептон казеїновий згідно з чинними нормативними документами.

4.2.31 Пептон ферментований сухий для бактеріологічних поживних середовищ за ГОСТ 13805 або інших марок, які дозволено для використання у встановленому порядку.

4.2.32 Резазурино-натрієва сіль (резазурин) або резазурин у таблетка згідно з чинними нормативними документами.

4.2.33 Середовище сухе Кесслер згідно з чинними нормативними документами.

4.2.34 Спирт етиловий ректифікований технічний за ГОСТ 18300.

4.2.35 Фіолетовий кристалічний згідно з чинними нормативними документами.

4.2.36 Фуксин основний кристалічний згідно з чинними нормативними документами.

4.2.37 Хлороформ за ГОСТ 20015-88.

Дозволяється використовувати інші засоби вимірювальної техніки, допоміжне обладнання, реактиви та матеріали, які за технічними характеристиками не гірші за наведені і дозволені до використання в Україні.

## **5 МЕТОДИ ВІДБИРАННЯ ПРОБ**

**5.1** Відбирання проб для мікробіологічних досліджень повинна проводити особа, що має досвід у застосуванні методики відбирання проб для

мікробіологічних досліджень. Відібрана проба повинна бути достовірною, без пошкоджень та забруднення.

**5.2** Слід відбирати паралельні проби, а якщо того вимагає законодавство або угода між зацікавленою стороною, і більшу кількість проб.

Якщо існує домовленість між зацікавленою стороною і організацією-виконавцем, рекомендується відбирати і зберігати додаткові проби на випадок проведення арбітражу.

**5.3** Правила приймання та загальні правила відбирання проб молока та молочних продуктів установлюють ДСТУ ISO 707, ДСТУ ISO 2859-1, ГОСТ 26809 та ГОСТ 13928.

**5.4** Для контролювання якості продукту за мікробіологічними показниками незалежно від розміру партії, з неї роблять вибірку обсягом:

- 2 паковальні одиниці транспортної тари з ваговим продуктом або продуктом у спожитковому пакуванні (крім тих продуктів, що зазначені нижче);
- 3 одиниці спожиткового пакування таблетованих продуктів та продуктів в капсулах;
- 4 одиниці спожиткового пакування бактеріальних препаратів прямого внесення;
- 5 одиниць спожиткового пакування стерилізованих продуктів;
- 15 одиниць спожиткового пакування бактеріальних концентратів;
- 100 одиниць спожиткового пакування сухих заквасок;
- 15 одиниць спожиткового пакування рідких заквасок;
- 2 головки сиру (*твердого, напівтвердого, м'якого, розсільного, сиру для плавлення тощо*);
- з кожної цистерни або секції 0,5-1,0 л.

**5.5** Проби для мікробіологічного контролювання завжди відбирають у першу чергу перед відбиранням проб для фізико-хімічних та органолептичних аналізів чітко дотримуючись правил асептики.

**5.6** Проби для мікробіологічного контролювання відбирають у стерильний посуд, використовуючи стерильне приладдя та накривають стерильними накривками. Стерилізацію приладдя повинні проводити такими методами:

**5.6.1** Витримуванням в сушильній шафі (4.1.32) за температури (170-175) °С упродовж (2±0,5) год.

**5.6.2** Витримуванням в автоклаві (4.1.27) за температури (121±1) °С не менше, ніж 20 хв.

**5.6.3** Витримуванням упродовж (1-2) сек усіх робочих поверхонь обладнання в полум'ї спиртівки або газового пальника (4.1.25).

**5.6.4** Зануренням у розчин етанолу концентрацією не менше 70 % (за об'ємом).

**5.6.5** Зануренням у етанол концентрацією 96 % (за об'ємом) та наступним фламбуванням.

**5.7** Приладдя, що використовують для відбирання проб, повинно бути виготовлене з нержавіючої сталі або іншого матеріалу, який не призводить до змін у пробі, що можуть вплинути на результати контролювання. Матеріали повинні бути дозволені до застосування в харчовій промисловості центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я.

Не дозволено застосовувати несправне, забруднене приладдя.

**5.8** Перемішування продукту перед відбиранням та відбирання проб виконують відбірником, черпаком, ложкою, металевою трубкою, щупом, шпателем або іншим відповідним знаряддям, яке кожного разу перед використанням повинне бути простерилізовано фламбуванням або автоклавуванням.

У разі відбирання проб сирого молока для визначання редуктази можна оброблювати металеві трубки або пробник пропарюванням, кип'ятінням або хлоруванням з наступним ополіскуванням питною водою.

**5.9** Відбирання проб продуктів для мікробіологічного контролювання.

**5.9.1** *Відбирання проб молока незбираного, знежиреного, зі смаковими добавками, маслянки, сироватки, заміників незбираного молока та інших, подібних до них продуктів*

**5.9.1.1** Перед відбиранням проб продукт перемішують до онорідного стану. З точкових проб, відібраних з кожної фляги, відра, цистерни, баку, контейнеру або секції, готують об'єднану пробу. Проводять сортування незбираного молока за кислотністю згідно з ГОСТ 3624.

**5.9.1.2** У разі складання об'єднаної проби продукту, який знаходиться у спожитковому пакуванні, продукт перемішують перевертаючи пакування не менш ніж п'ять разів, за наявності відстоювання жиру в продукті його нагрівають до температури  $(32\pm 2)$  °С на водяній бані (4.1.1) та охолоджують до температури  $(20\pm 2)$  °С. Потім продукт зливають у одну ємність, отримуючи об'єднану пробу. Посуд з об'єднаною пробкою закривають стерильною пробкою.

**5.9.1.3** Кількість об'єднаної проби повинна бути не меншою, ніж 100 см<sup>3</sup>.

**5.9.2** *Відбирання проб молока та вершків пастеризованих, густих та напівгустих молочних продуктів (сметани, десертів, паст та інших подібних до них продуктів)*

**5.9.2.1** Перед відбиранням проб вершків їх перемішують мішалкою або колотівкою, чергуючи вертикальні та обертальні рухи з дна контейнера до верхніх шарів впродовж 1 хв.

Щоб уникнути утворення піни, збивання або утворення масла, диск колотівки між зануреннями не піднімають над поверхнею вершків.

**5.9.2.2** Відбирання точкових проб вершків для складання об'єднаної проби проводять відповідно до 5.9.1.1 цього стандарту.

**5.9.2.3** Відбирання проб сметани у флягах, які відібрано у вибірку, проводять залежно від її консистенції трубкою, черпаком або щупом відповідно до 5.9.1.1 цього стандарту.

**5.9.2.4** Об'єднану пробу продуктів у спожитковому пакуванні, яке відібрано у вибірку, готують відповідно до **5.9.1.1** цього стандарту.

**5.9.3** *Відбирання проб рідких кисломолочних продуктів (кефіру, ряжанки, йогуртів та інших подібних до них продуктів)*

**5.9.3.1** Рідкі кисломолочні продукти у спожитковому пакуванні перемішують перевертаючи пакування не менше п'яти раз, а густіші перемішують упродовж 1 хв шпателем, ложкою тощо після відкриття пакування. Порядок відбирання проб із гомогенного продукту викладено в 5.9.1.1. Поверхню спожиткового пакування перед відкриттям необхідно знезаразити .

**5.9.4** *Відбирання проб сиру кисломолочного, виробів сиркових, напівфабрикатів, сирної маси для плавлення і інших подібних до них продуктів*

**5.9.4.1** Перед відбиранням проби з вибірки у транспортному пакуванні верхній шар продукту відкидають. Пробу відбирають стерильним щупом на відстані (3-5) см від краю, спрямовуючи щуп під кутом до протилежного боку і занурюючи на  $\frac{3}{4}$  його довжини. Із стовпчика продукту на щупі відбирають стерильним шпателем (15-20) г сиру кисломолочного або сиркових виробів. Щуп обертають на один повний оберт і виймають разом із стовпчиком продукту. Стовпчик зберігають і використовують пізніше для закриття отвору.

**5.9.4.2** Ножем переносять стовпчик у контейнер для проб. Повторюють цю процедуру до одержання проби масою (100±10) г. Після цього закривають отвір від стовпчика першим з відібраних стовпчиків.

**5.9.4.3** Відібрані проби продукту переносять у ємність і ретельно перемішують, готуючи об'єднану пробу.

**5.9.4.4** Для складання об'єднаної проби продукту у спожитковому пакуванні із сформованої вибірки, відібраний продукт звільняють від пакування.

**5.9.4.5** Брикети замороженого сиру кисломолочного перед відбиранням проб залишають за кімнатної температури до повного розморожування.

**5.9.4.6** Проби сиру кисломолочного, виробів сиркових, напівфабрикатів, сирної маси для плавлення, відібраних як від вагового продукту у транспортній

тарі, так і від продукту у спожитковому пакованні, обов'язково розтирають у ступці до отримання однорідної консистенції.

#### **5.9.5** *Відбирання проб морозива, тортів і рулетів сиркових та з морозива*

**5.9.5.1** Відбирання точкових проб вагового продукту, що включено до вибірки, проводять теплими щупом, ложкою, ножом або шпателем, температура яких повинна бути  $(30 \pm 5)$  °С. Знімають поверхневий шар продукту глибиною 2,5 см з того місця, з якого відбирається проба. За необхідності отримання “поверхневої” проби, рівномірно зішкрібають поверхневий шар продукту, який будуть досліджувати, на мінімальну глибину 0,2 см.

**5.9.5.2** Зі всієї довжини щупа стерильним шпателем знімають шар морозива і переносять його в ємність. Морозиво залишають за температури  $(18 \pm 4)$  °С або витримують на водяній бані до повного відтаювання. Маса проби повинна становити  $(100 \pm 10)$  г.

**5.9.5.3** Морозиво в спожитковому пакованні, яке увійшло у вибірку, звільняють від пакування після чого кладуть у ємність до повного відтаювання за температури  $(18 \pm 4)$  °С.

**5.9.5.4** Проби сухих напівфабрикатів для морозива (концентрати, суміші для морозива та інші подібні до них продукти) відбирають згідно з 5.9.8 цього стандарту.

**5.9.6** *Відбирання проб сиру (твердого, напівтвердого, м'якого, розсільного, сиру для плавлення тощо)*

**5.9.6.1** Точкові проби сиру відбирають щупом із двох протилежних сторін кожної голівки сиру, залученої у вибірку, вводячи його на глибину не менш, ніж  $3/4$  найбільшого розміру голівки.

**5.9.6.2** Під час відбирання точкових проб:

- із великих твердих сирів, що мають форму циліндра або бруска, щуп вводять з торцевої сторони ближче до центру;

и- із дрібних твердих сирів круглої форми, щуп вводять з верхньої частини голівки до центру.

**5.9.6.3** Від вийнятих стовпчиків сиру відрізають  $(1,5\pm 0,2)$  см верхньої частини стовпчика. Нижню частину стовпчиків довжиною  $(4,5\pm 0,2)$  см переносять у посуд для складання об'єднаної проби.

**5.9.6.4** У разі відбирання точкових проб дрібних твердих сирів, що мають форму:

- низького циліндра, щуп вводять зі сторони циліндричної поверхні;
- бруска, щуп вводять за діагоналю з торцевої сторони.

**5.9.6.4.1** В обох випадках щуп вводять, відступивши від однієї з основ голівки сиру на  $1/3$  найбільшого розміру голівки.

**5.9.6.4.2** Від вийнятих стовпчиків сиру відрізають  $(1,0\pm 0,2)$  см верхньої частини стовпчика. Нижню частину стовпчиків переносять у ємність для складання об'єднаної проби.

**5.9.6.5** Верхню частину стовпчиків сиру з поверхневим шаром повертають на колишнє місце, а поверхню сиру заливають розплавленим полімерно-парафіновим сплавом для покриття сирів.

**5.9.6.5.1** Проби розсільного сиру відбирають частинами, маса кожної з яких становить  $(100\pm 10)$  г (без розсолу, олії тощо.).

**5.9.6.5.2** Якщо розсіл входить до складу проби, відбирають достатню кількість розсолу таким чином, щоб сир був повністю ним покритий. Якщо розсіл не залучають до складу проби, тоді сир або куски сиру необхідно висушити фільтрувальним папером і помістити в посуд для проб.

**5.9.6.6** Для складання об'єднаної проби м'яких та розсільних сирів використовують увесь стовпчик сиру, відібраний щупом.

**5.9.6.7** Від батона ковбасного сиру точкові проби відрізають ножем поперек на відстані не менш ніж 5 см від краю батона, знімаючи затверділий шар сиру товщиною  $(0,2-0,3)$  см. Точкові проби кладуть у ємність для складання об'єднаної проби.

**5.9.6.8** Від усіх видів плавлених сирів у спожитковому пакуванні, залучених до вибірки, точкові проби відбирають ножем рівномірно з різних частин кожної одиниці спожиткового пакування і переносять у посуд для

складання об'єднаної проби.

**5.9.6.8.1** Від плавленого сиру в брикетах масою 30 г і менше об'єднану пробу готують із цілих брикетів плавленого сиру, попередньо звільнивши їх від пакування.

*5.9.7 Відбирання проб згущеного молока з цукром, молочних концентратів та інших подібних до них продуктів*

**5.9.7.1** Перед відбиранням проб продукт перемішують: у бочках і флягах мішалкою, а в спожитковому пакуванні - шпателем упродовж (1-2) хв.

**5.9.7.2** Якщо у продукті є осад, то продукт у пакуванні нагрівають за температури  $(55\pm 5)$  °С і знову перемішують до отримання однорідної маси, не допускаючи підвищення температури продукту вище за 30 °С, потім охолоджують його до  $(20\pm 2)$  °С.

**5.9.7.3** Точкові проби відбирають щупом або пробником, занурюючи їх до дна тари.

**5.9.7.4** Від продукту у спожитковому пакуванні точкові проби відбирають пробником, щупом або ложкою, переносять в одну ємність, перемішують, отримуючи у такий спосіб об'єднану пробу.

*5.9.8 Відбирання проб сухого молока, сухих молочних продуктів (сухої сироватки, сухих молочних білкових продуктів та інших подібних до них продуктів), таблеткованих продуктів та продуктів у капсулах, молочного цукру, харчового та технічного казеїну*

**5.9.8.1** Відбирання точкових проб продукту у транспортній тарі, яка складає вибірку, проводять щупом з різних частин кожної одиниці тари. Точкові проби переносять у ємність, ретельно перемішують і отримують об'єднану пробу.

**5.9.8.2** Щуп занурюють у продукт на відстані (2-5) см від стінки пакування за діагоналлю до дна тари протилежної стінки.

**5.9.8.3** Відбирання точкових проб продукту у спожитковому пакуванні, що складає вибірку, проводять пробником, щупом або ложкою, переносять у один

посуд, перемішують і отримують об'єднану пробу (крім таблеткованих, гранульованих продуктів та продуктів в капсулах)

**5.9.8.3.1** Відбирання точкових проб таблеткованих, гранульованих продуктів та продуктів у капсулах проводять пінцетом або ложкою і переносять у один посуд. Продукти в капсулах звільняють від капсул.

**5.9.8.3.2** Точкові проби таблеткованих, гранульованих продуктів та продуктів у капсулах для отримання об'єднаної проби подрібнюють у ступці або лабораторним млином, блендером. З об'єднаної проби відбирають пробу для контролювання.

**5.9.9** *Відбирання проб вершкового масла та подібних до нього продуктів (пластичних вершків, стерилізованого та топленого масла, спредів, сумішей жирових)*

**5.9.9.1** Точкові проби від вагового продукту, що залучено до вибірки, відбирають щупом.

**5.9.9.1.1** Якщо продукт знаходиться в бочці, щуп занурюють похило від краю бочки до центру, якщо в ящику - щуп занурюють за діагоналлю від торцевої стінки до центру моноліту продукту.

**5.9.9.1.2** Для складання об'єднаної проби від нижньої частини стовпчика продукту, взятого щупом з кожної одиниці транспортної тари, відбирають ножем точкову пробу масою  $(50 \pm 5)$  г і переносять у ємність для складання об'єднаної проби.

**5.9.9.1.3** Верхню частину стовпчика продукту, що залишилася у щупі, довжиною біля 1,5 см повертають на колишнє місце і акуратно зарівнюють поверхню продукту.

**Примітка.** За температури продукту нижче ніж 10 °С пробу відбирають щупом, профламованим безпосередньо перед взяттям проби.

**5.9.9.2** Від продукту в спожитковому пакуванні, залученому у вибірку, точкову пробу масою  $(50 \pm 5)$  г відбирають ножем від кожного пакування продукту, попередньо вилучивши це пакування і зовнішній шар продукту

товщиною (0,5-0,7) см. Точкові проби переносять у одну ємність для складання об'єднаної проби.

**5.9.9.3** Від продукту в брикетах масою 50 г і менше об'єднану пробу готують з цілих брикетів продукту без зняття зовнішнього шару, попередньо звільнивши їх від пакування.

**5.9.10** *Відбирання проб заквасок сухих та рідких, бактеріальних концентратів, бактеріальних препаратів прямого внесення*

**5.9.10.1** Вибірку для контролювання якості кожної партії продукту формують за 5.4 цього стандарту.

**5.9.10.2** Об'єднану пробу заквасок сухих, бактеріальних концентратів і бактеріальних препаратів прямого внесення готують змішуючи вміст, (30-50) та (3-5) одиниць спожиткового пакування (контейнерів/пакетів), відповідно.

**5.9.10.3** Для складання об'єднаної проби заквасок рідких точкові проби відбирають стерильною піпеткою не менше ніж 10 см<sup>3</sup> з кожного пакування та переносять у одну ємність.

**5.9.10.4** Маса проби заквасок сухих, бактеріальних концентратів, бактеріальних препаратів прямого внесення повинна бути (30±2) г.

**5.9.10.5** Кожна проба заквасок рідких повинна становити (50±5) см<sup>3</sup>.

## **6 МАРКУВАННЯ, ТРАНСПОРТУВАННЯ ТА ЗБЕРІГАННЯ ПРОБ**

**6.1** Проби продукту, що відібрані лабораторією підприємства-виробника та контролюються на цьому ж підприємстві, забезпечують етикеткою, на якій помічають:

номер проби;

назву та сорт продукту (за наявності);

номер та обсяг партії;

дату та час відбирання проби;

посаду та підпис особи, що відбирала пробу;  
позначення нормативного документу, за яким виготовлено продукт.

**6.2** Проби продукту, що направляють у лабораторію підприємствами-виробниками забезпечують етикеткою (за потреби) та актом відбирання проб із зазначенням:

- місця відбирання проб;
  - найменування підприємства-виробника;
  - назви та дати вироблення продукту;
  - номери та обсягу партії;
  - температури продукту на момент відбирання проби;
  - умов зберігання продукту на момент відбирання проби;
  - дати і часу відбирання проби;
  - показників, які повинні бути визначені в продукті;
  - позначення чинного нормативного документу на продукт;
- посади і підпису осіб, що відібрали пробу.

**6.3** Мікробіологічне контролювання продукту виконують не пізніше, ніж через 4 год з моменту відбирання проби. До початку контролювання пробу зберігають у холодильнику за температури не вище 6 °С.

Проби продукту повинні бути доставлені в лабораторію не пізніше ніж через 2 год після їх відбирання.

**6.4** В окремих випадках термін постачання може бути подовжений до 4 год, але про це необхідно занотувати в акті відбирання проб та пояснити причину затримки.

**6.5** Проби повинні зберігатись та постачатись до лабораторії поза підприємством-виробником з дотриманням таких температурних режимів:

- для продуктів, що швидко псуються - не вище 6 °С, підморожування – не допускається;
- для морозива та напівфабрикатів – не вище мінус 2 °С.

## **7 ПІДГОТУВАННЯ ДО КОНТРОЛЮВАННЯ**

## **7.1 Підготування посуду і матеріалів багаторазового використання**

**7.1.1** Увесь новий посуд для бактеріологічних робіт кип'ятять у підкисленій воді (розчин соляної кислоти з об'ємною часткою 1-2 %) упродовж  $(15 \pm 0,2)$  хв, потім споліскують здистильованою водою.

**7.1.2** Вимитий посуд стерилізують у сушильній шафі за температури  $(170 \pm 5)$  °С не менше 2 год або в автоклаві за температури  $(121 \pm 1)$  °С упродовж  $(25 \pm 5)$  хв з наступним сушінням.

**7.1.3** Чашки Петрі (4.1.34), піпетки (4.1.16) стерилізують загорнутими у папір (4.1.13) або у металічних пеналах. У верхній кінець піпетки попередньо вкладають шматочок вати.

**7.1.4** Гумові корки (4.1.8) перед стерилізацією загортають у папір.

**7.1.5** За відсутності обладнання для стерилізації (апаратура для визначання редуктази, бродильної та сичужної проб) посуд, піпетки і корки безпосередньо перед випробовуванням кип'ятять у здистильованій воді або в конденсаті не менше 30 хв.

**7.1.6** Стерильний посуд зберігають у щільно закритих шафах або ящиках із накривками. Термін зберігання стерильного посуду не більше 30 діб.

**7.1.7** У разі застосування одноразового пластикового посуду (4.1.34) перевіряють цілісність пакування та термін придатності до використання.

## **7.2 Готування розчинників, поживних середовищ та реактивів**

### **7.2.1 Готування розчинників**

Розчинники для десятикратних розведень готують згідно з ДСТУ IDF 122С.

#### **7.2.1.1 Готування розчину хлористого натрію**

Склад:

натрій хлористий	– 8,5 г;
вода здистильована	– 1000 см <sup>3</sup> .

У  $(1000 \pm 0,5)$  см<sup>3</sup> здистильованої води (4.2.4) розчиняють  $(8,5 \pm 0,02)$  г хлористого натрію (4.2.23), розливають розчин у чисті пробірки (4.1.21) по 10 см<sup>3</sup>, а в колби (4.1.7) – по 98 см<sup>3</sup> і стерилізують у стерилізаторі (4.1.27) за температури  $(121 \pm 2)$  °С упродовж  $(20 \pm 1)$  хв. Після стерилізування у пробірках повинно залишитись 9 см<sup>3</sup>, а в колбах – 90 см<sup>3</sup> розчину хлористого натрію (кількість, яка необхідна для приготування розведень посівного матеріалу).

#### **7.2.1.2** *Готування концентрованого розчину фосфатного буферу*

Склад:

калій фосфорнокислий однозаміщений	– 34 г;
вода здистильована	– 1000 см <sup>3</sup> .

У мірну колбу (4.1.7) місткістю  $(100 \pm 0,50)$  см<sup>3</sup> наливають 500 см<sup>3</sup> здистильованої води (4.2.3), розчиняють в ній  $(34 \pm 0,02)$  г калію фосфорнокислого одно заміщеного (4.2.14). За допомогою рН-метра (4.1.22) встановлюють рН 7,2 розчином гідроксиду натрію і додають здистильовану воду до 1000 см<sup>3</sup>.

#### **7.2.1.3** *Готування робочого розчину фосфатного буферу*

$(1,25 \pm 0,01)$  см<sup>3</sup> концентрованого фосфатного буфера (7.2.2), вносять у мірну колбу (4.1.7) ємністю 1000 см<sup>3</sup>, здистильованою водою доводять об'єм до позначки, розливають у пробірки (4.1.21) по 10 см<sup>3</sup> і в колби по 98 см<sup>3</sup>, після чого стерилізують (4.1.27) за температури  $(121 \pm 2)$  °С упродовж  $(15 \pm 1)$  хв і використовують для готування розведень.

#### **7.2.1.4** *Готування розчину цитринового натрію для приготування розведень сиру*

Склад:

натрій цитриновий	– 20 г;
вода здистильована	– 1000 см <sup>3</sup> .

У  $(1000 \pm 0,5)$  см<sup>3</sup> здистильованої води розчиняють  $(20 \pm 0,02)$  г натрію цитринового (4.2.22), розливають у пробірки (4.1.21) по 10 см<sup>3</sup> і в колби (4.1.7)

по 98 см<sup>3</sup>, після чого стерилізують за температури (121±2) °С упродовж (15±1) хв.

**7.2.1.5** *Готування розчину натрію двовуглекислого для нейтралізування проб кисломолочних продуктів і заквасок.*

Склад:

натрій двовуглекислий	- 10 г;
вода здистильована	- 100 см <sup>3</sup> .

У (100±0,05) см<sup>3</sup> здистильованої води розчиняють (10±0,01) г двовуглекислого натрію (4.2.21) отриманий розчин розливають по (10-20) см<sup>3</sup> у пробірки (4.1.21) і стерилізують (4.1.27) за температури (121±2) °С упродовж (15±1) хв.

**7.2.1.6** *Готування пептонно-сольового розчину*

Склад:

пептон	- 1,0 г;
натрію хлорид	- 8,5 г;
вода здистильована	- 1000 см <sup>3</sup> .

Розчиняють компоненти у воді, за потреби нагріваючи до температури (70±0,5) °С, встановлюють рН (4.1.22) так, щоб після стерилізування він становив (7,0±0,1) за температури 25 °С. Розливають у пробірки (4.1.21) по 10 см<sup>3</sup> і в колби (4.1.7) по 98 см<sup>3</sup>, після чого стерилізують за температури (121±2) °С упродовж (15±1) хв.

**7.2.1.6** *Готування розчину пептону*

Склад:

пептон	- 1,0 г;
вода здистильована	- 1000 см <sup>3</sup> .

Розчиняють пептон (4.2.29) у воді (4.1.4), встановлюють рН (4.1.22) так, щоб після стерилізування він становив (7,0±0,1) за температури 25 °С. Розливають у пробірки (4.1.21) по 10 см<sup>3</sup> і в колби (4.1.7) по 98 см<sup>3</sup>, після чого стерилізують за температури (121±2) °С упродовж (15±1) хв.

**7.2.2** *Готування живильних середовищ*

### 7.2.2.1 Готування живильного середовища для визначення кількості мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів.

Склад:

молоко гідролізоване	- 25 г;
агар	- 15 г;
вода питна	- 1000 см <sup>3</sup> .

#### 7.2.2.1.1 Готування із комерційного сухого середовища

Слід дотримуватись настанов виробника. 40 г сухого живильного середовища поміщають у колбу та доливають питною водою (4.2.4) до отримання об'єму 1000 см<sup>3</sup>. Суспензію перемішують, нагрівають до повного розчинення агару (за наявності осаду розчин фільтрують), встановлюють за допомогою рН-метра (4.1.22) рН 6,9±1,0. Розливають у пробірки (4.1.21) чи колби (4.1.7) та стерилізують за температури (121±2) °С упродовж (15±1) хв.

#### 7.2.2.1.2 Готування із основних компонентів

##### 7.2.2.1.2.1 Готування гідролізованого молока

Склад:

Сухе знежирене молоко	- 100 г;
вода здистильована	- 900 см <sup>3</sup> ;
панкреатин	- 0,5-1,0 г;
хлороформ	- 5 см <sup>3</sup> .

Спосіб готування: (100±0,02) г сухого знежиреного молока (4.2.35) розчиняють у 900 см<sup>3</sup> здистильованої води (4.2.3), яку попередньо підігрівають до температури (45±1)°С. Розчином гідроксиду натрію з масовою часткою 20 % встановлюють рН відновленого знежиреного молока, підігрітого до температури (45±1)°С, на рівні (7,6±0,2). До підготовленого у такий спосіб молока додають (0,5-1,0) г панкреатину (4.2.25), який попередньо розчиняють в (20-30) см<sup>3</sup> здистильованої води за температури (45±1)°С, через (3-5) хв додають 5 см<sup>3</sup> хлороформу (4.2.37). Колбу закривають корком і витримують у термостаті

за температури  $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$  18-24 год. Упродовж перших 3 годин молоко декілька разів ретельно перемішують (корок після перемішування відкривають для вилучення парів хлороформу). Через згаданий вище термін колбу виймають з термостату, гідролізоване молоко фільтрують через паперовий фільтр (4.1.12), розбавляють питною водою (4.2.4), додаючи до 1 частини гідролізованого молока 2 частини води, встановлюють рН  $(7,1 \pm 0,1)$  та стерилізують в автоклаві (4.1.27) за температури  $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$  упродовж  $(20 \pm 5)$  хв.

До  $1000\text{ см}^3$  гідролізованого молока додають  $(15 \pm 0,02)$  г агару (4.2.1). Середовище нагрівають до повного розчинення агару (за наявності осаду розчин фільтрують), установлюють за допомогою рН-метру (4.1.22) рН на рівні  $(6,9 \pm 0,1)$ . Розливають у пробірки (4.1.21) чи колби (4.1.7) та стерилізують в автоклаві за температури  $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$  упродовж  $(15 \pm 1)$  хв. Стерильність середовища має бути перевірена під час використання за (8.5.2.2).

*7.2.2.2 Готування живильного середовища для визначення кількості мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів.*

#### **Склад**

Пептон казеїновий	- 7,5 г;
Пептон желатиновий	- 7,5 г;
Натрію хлорид (NaCl)	- 5,0 г;
Агар	- від 10 г до 15 г <sup>1)</sup> ;
Вода здистильована	- $1000\text{ см}^3$ .

<sup>1)</sup> залежно від щільності утвореного гелю.

#### **7.2.2.2.1 Готування з комерційного сухого середовища**

Слід дотримуватись настанов виробника зазначеного середовища. Якщо необхідно, доводять рН, до такого рівня, щоб після стерилізування він становив  $(7,5 \pm 0,1)$  за температури  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Якщо необхідно, для кисломолочних

продуктів доводять рН за допомогою рН-метра (4.1.22), щоб після стерилізування він становив  $(8,0 \pm 0,1)$  за температури  $(25 \pm 1)$  °С.

#### 7.2.2.2.2 Готування із сухих основних компонентів

У воді розчиняють, безперервно перемішуючи, складники в такій послідовності: казеїновий пептон (4.2.28), желатиновий пептон (4.2.28) і натрію хлорид (4.2.23). Додають агар (4.2.1) та нагрівають до кипіння, ретельно збовтуючи до повного розчинення агару, або кип'ятять  $(30 \pm 5)$  хв. За необхідності фільтрують, застосовуючи фільтрувальний папір (4.1.12). Доводять рН за допомогою (4.1.22), щоб після стерилізування його значення було  $(7,5 \pm 0,1)$  за температури  $(25 \pm 1)$  °С. Для кисломолочних продуктів доводять рН до такого рівня, щоб після стерилізування значення рН середовища становило  $(8,0 \pm 0,1)$  за температури  $(25 \pm 1)$  °С.

Живильне середовище розливають по  $(12-15)$  см<sup>3</sup> у пробірки (4.1.21), або в колби (4.1.7) від 100 см<sup>3</sup> до 150 см<sup>3</sup>. Стерилізують в автоклаві за температури  $(121 \pm 1)$  °С упродовж  $(15 \pm 2)$  хв.

Стерильність середовища має бути перевірена під час використання за (8.5.2.3)

Якщо живильне середовище використовують одразу, то перед використанням його охолоджують на водяній бані (4.1.1) до температури  $(44-47)$  °С, або зберігають у темному місці за температури  $(1-5)$  °С не більше трьох місяців. Перед початком мікробіологічного досліджування, щоб уникнути будь-яких затримок, пов'язаних з розливанням середовища, перед використанням його повністю розплавляють на водяній бані, після чого охолоджують на іншій водяній бані за температури від  $(44-47)$  °С.

#### 7.2.2.3 *Готування середовища Кеслер (модифікованого)*

Склад:

пептон	– 10 г;
жовч стерильна	– 50 см <sup>3</sup> ;
лактоза	– 2,5 г;

розчин кристалічного фіолетового	
з масовою концентрацією 10 г/дм <sup>3</sup>	– 2 см <sup>3</sup> ;
вода здистильована	– до 1000 см <sup>3</sup> .

#### 7.2.2.3.1 Готування із комерційного сухого середовища

Слід дотримуватись настанов виробника. 16 г сухого середовища Кеслер поміщають у колбу і доливають здистильованою водою до 1000 см<sup>3</sup>. Суміш перемішують і кип'ятять, перемішуючи впродовж (25±5) хв. Об'єм доводять здистильованою водою до 1000 см<sup>3</sup> і фільтрують через вату (4.1.2). Розчин розливають у пробірки з поплавками (4.1.21) по 5 см<sup>3</sup> чи в колбочки з поплавками (4.1.7) по (40-50) см<sup>3</sup> та стерилізують за температури (121±2) °С упродовж (10±1) хв. Поплавки після стерилізування не повинні містити повітряних бульбашок.

#### 7.2.2.3.2 Готування середовища із сухих основних компонентів

У цьому разі до 1000 см<sup>3</sup> здистильованої води (4.2.3) додають 10 г пептону (4.2.29) і 50 см<sup>3</sup> стерильної жовчі (жовч бичача чи інших сільськогосподарських тварин) (4.2.9), кип'ятять суміш безперервно перемішуючи впродовж (25±5) хв і фільтрують через вату (4.2.2). В отриманому фільтраті розчиняють 2,5 г лактози (4.2.19) і доводять об'єм здистильованою водою (4.2.3) до 1000 см<sup>3</sup>, установлюють рН (7,4-7,6), потім додають 2 см<sup>3</sup> розчину кристалічного фіолетового (4.2.36) з масовою концентрацією 10 г/дм<sup>3</sup>, розливають у пробірки з поплавками по 5 см<sup>3</sup> чи в колбочки з поплавками (40-50) см<sup>3</sup> та стерилізують за температури (121±2) °С упродовж (10±1) хв. Готове середовище повинно мати темно-фіолетовий колір.

#### 7.2.2.4 Готування розчину фіолетового червоного жовчного агару з лактозою.

Тверде селективне середовище.

Склад:

пептон	- 7 г;
дріжджовий екстракт	- 3 г;

лактоза	- 10 г;
натрію хлорид	- 5 г;
солі жовчних кислот	- 1,5 г;
нейтральний червоний	- 0,03 г;
кристалічний фіолетовий	- 0,002 г;
агар	- 10-15 г <sup>1)</sup> ;
вода питна	- 1000 см <sup>3</sup> .

<sup>1)</sup> залежно від желювальних властивостей агар, що використовується.

Компоненти розчиняють у воді, залишають для відстоювання на (10-15) хв, після чого енергійно перемішують.

Установлюють рН на рівні (7,4±0,2) за температури (25±1) °С, використовуючи розчин (не менше 0,1 моль/м<sup>3</sup>) гідроксиду натрію або соляної кислоти. Доводять до кипіння, час від часу перемішують і негайно вносять по (100-150) см<sup>3</sup> розчину в колби (4.1.7). Регулюють температуру середовища на водяній бані (4.1.1) за температури (45±3) °С. Середовище можна використовувати протягом 3 год.

**7.2.2.5 Приготування розчину брильянтового зеленого лактозо-жовчного бульйону.**

Підтверджувальне середовище.

Склад:

пептон	- 10 г;
лактоза	- 10 г;
жовч дегідратована окислена	- 20 г;
брильянтовий зелений	- 0,0133 г;
вода здистильвана	- 1000 см <sup>3</sup> .

**7.2.2.5.1 Готування із комерційного сухого середовища**

Поживне середовище (7.2.2.4 та 7.2.2.5) може бути виготовлене із товарного зневодненого середовища. Приготування здійснюється за

інструкцією виробника. Регулюють рН, розподіляють, кип'ятять або стерилізують та зберігають середовище як описано в 7.2.2.4 та 7.2.2.5.

#### 7.2.2.5.2 Готування із сухих основних компонентів

Розчиняють компоненти у воді шляхом кип'ятіння. Встановлюють рН таким, щоб після стерилізації значення становило  $(7,2 \pm 0,1)$  за температури  $(25 \pm 1)$  °С, використовуючи розчин об'ємом не менше  $0,1$  моль/м<sup>3</sup> гідроксиду натрію або соляної кислоти. Розливають середовище в кількостях по  $10$  см<sup>3</sup> у пробірки (4.1.21), що містять трубки Дарема. Закривають пробірки корками. Стерилізують в автоклаві (4.1.27) за температури  $(120 \pm 1)$  °С упродовж  $(15 \pm 2)$  хв. Трубки Дарема не повинні містити повітряних бульбашок після стерилізування. Перевіряють рН середовища. Якщо середовище не використовують негайно, зберігають його в темному місці за температури  $(0-5)$  °С, але не довше одного місяця після виготовлення.

#### 7.2.2.6 Приготування середовища Ендо

7.2.2.6.1 Приготування суміші розчинів фуксину основного та натрію сірчаноокислого.

$0,5$  г натрію сірчаноокислого розчиняють у  $5$  см<sup>3</sup> стерильної здистильованої води, кип'ятять упродовж  $(5 \pm 2)$  хв і додають  $1$  см<sup>3</sup> спиртового розчину фуксину основного виготовленого відповідно до 7.2.3.5.1. розчин ретельно перемішують.

#### 7.2.2.6.2 Приготування м'ясо-пептонного агару (МПА)

Склад:

м'ясо-пептонний бульйон  $1000$  см<sup>3</sup>;

Агар мікробіологічний  $20$  г;

У  $1000$  см<sup>3</sup> м'ясо-пептонного бульйону додають  $20$  г агару мікробіологічного. Кип'ятять за постійного перемішування до повного розчинення агару. Встановлюють рН середовища  $(7,0-7,2)$ . Гарячий розчин фільтрують. Розливають середовище в кількостях по  $(100-150)$  см<sup>3</sup> у колби.

Стерилізують в автоклаві (4.1.27) за температури  $(120 \pm 1)$  °С упродовж  $(20 \pm 2)$  хв.

#### 7.2.2.6.3 Готування середовища Ендо

Середовище Ендо готують на основі м'ясо-пептонного агару (МПА) з додаванням суміші розчинів фуксину основного та натрію сірчаноокислого.

У  $100 \text{ см}^3$  розплавленого МПА виготовленого відповідно до 7.2.2.6.2 додають 1 г лактози, розчиненої в  $5 \text{ см}^3$  попередньо прокип'яченої упродовж  $(5 \pm 2)$  хв здистильованої води. МПА охолоджують до температури  $(60-70)$  °С і додають до нього суміш розчинів фуксину основного та натрію сірчаноокислого виготовлених відповідно до 7.2.2.6.1. Ретельно перемішують та розливають у чашки Петрі. Середовище Ендо повинно бути блідо-рожевого кольору.

**Увага!** Середовище Ендо необхідно готувати безпосередньо перед використанням.

#### 7.2.2.6.4 Готування з комерційного сухого середовища

Розчин (7.2.2.6) може бути виготовлений із комерційного середовища. Приготування здійснюється за інструкцією виробника зазначеного середовища.

### 7.2.3 Готування реактивів

#### 7.2.3.1 Готування барвників

7.2.3.1.1 Готування спиртового розчину метиленового синього для фарбування препаратів

Склад:

метиленовий синій	- 10 г;
96 %-вий розчин етилового спирту	- $100 \text{ см}^3$ .

##### 7.2.3.1.1.1 Готування із комерційного середовища

Розчин (7.2.3.1.1) може бути виготовлений із комерційного середовища. Приготування здійснюється за інструкцією виробника.

##### 7.2.3.1.1.2 Готування із сухих основних компонентів

10 г порошку метиленового синього (4.2.18) змішують зі  $100 \text{ см}^3$  96%-вого розчину етилового спирту (4.2.34). Розчин поміщають у термостат

(4.1.29) за температури  $(37 \pm 1)$  °С і витримують протягом 24 год, після чого фільтрують у термостаті за цієї ж температури.

Термін зберігання розчину метиленового синього не повинен перевищувати 3 місяці.

#### **7.2.3.1.2** *Готування робочого розчину*

До 30 см<sup>3</sup> спиртового розчину метиленового синього, виготовленого відповідно до 7.2.3.1.1, додають 100 см<sup>3</sup> здистильованої води і 1 см<sup>3</sup> розчину гідроксиду калію з масовою часткою 10 г/дм<sup>3</sup>.

Термін зберігання робочого розчину метиленового синього не більше 1 місяця.

#### **7.2.3.1.3** *Готування розчину метиленового синього для редуктазної проби*

**7.2.3.1.3.1** Готування водного розчину з масовою концентрацією метиленового синього 0,005 г/см<sup>3</sup>.

0,5 г метиленового синього (4.2.18) переносять у мірну колбу (4.1.7) ємністю 100 см<sup>3</sup> і доводять до мітки кип'яченою та охолодженою до  $(25 \pm 2)$  °С здистильованою водою. Суміш ретельно перемішують до повного розчинення. Термін зберігання готового розчину – не довше ніж 12 місяців у ємностях, захищених від світла.

**7.2.3.1.3.2** Приготування розчину метиленового синього з масовою концентрацією 0,00015 г/см<sup>3</sup>

6 см<sup>3</sup> розчину за виготовленого відповідно до 7.2.3.1.3.1 і змішують зі 194 см<sup>3</sup> здистильованої води (4.2.3). Термін зберігання готового розчину – не більше ніж 30 діб у холодильнику за температури  $(2-4)$  °С.

Розчини барвників зберігають у ємностях, захищених від світла.

#### **7.2.3.2** *Готування розчину резазурину*

##### **7.2.3.2.1** *Готування основного розчину*

100 мг резазурину-натрієвої солі (4.2.31) вносять у мірну колбу (4.1.27) ємністю 200 см<sup>3</sup> і доводять до мітки. Суміш ретельно перемішують.

Термін зберігання основного розчину резазурину-натрієвої солі не повинна перевищувати 30 діб за температури (8-10) °С.

#### 7.2.3.2.2 Готування робочого розчину

Робочий розчин резазурину-натрієвої солі готують шляхом розведення основного розчину виготовленого відповідно до 7.2.3.2.1 попередньо кип'яченою і охолодженою до  $(25 \pm 2)$  °С здистильованою водою у співвідношенні 1:2,5 (наприклад, до 10 см<sup>3</sup> маточного розчину додають 25 см<sup>3</sup> води). Масова частка резазурину у робочому розчині становить 0,014%.

#### 7.2.3.2.3 Приготування розчину з резазурину у таблетках

Коли застосовують резазурин у таблетках (4.2.26), то для приготування робочого розчину 1 таблетку розчиняють у 50 см<sup>3</sup> попередньо кип'яченої та охолодженої до  $(25 \pm 2)$  °С здистильованої води. Масова частка резазурину у цьому розчині становить 0,01%.

Термін зберігання робочого розчину резазурину - не довше 3 діб за температури від (0-5) °С.

Основний та робочий розчини зберігають у ємностях, захищених від світла.

### **7.2.3.3 Готування розчинів для фарбування за Грамом**

#### 7.2.3.3.1 Готування насиченого розчину фуксину основного

Склад:

фуксин основний кристалічний	- 10 г;
96 %-ний розчин етилового спирту	- 100 см <sup>3</sup> .

10 г порошку фуксину основного кристалічного (4.2.26) змішують зі 100 см<sup>3</sup> 96 %-вого розчину етилового спирту (4.2.34). Розчин ставлять у термостат (4.1.29) і витримують за температури  $(37 \pm 1)$  °С протягом  $(20 \pm 2)$  год. Розчин періодично перемішують. Упродовж зазначеного часу значна частина фарби розчиняється, і на дні колби лишається осад, який свідчить про насичення розчину.

Насичений розчин зберігають у колбах з темного скла. З насиченого спиртового розчину готують водно-спиртовий розчин фуксину. Для цього до 1 см<sup>3</sup> насиченого розчину додають 9 см<sup>3</sup> здистильованої води.

#### **7.2.3.3.2** Готування розчину карболового фуксину Ціля

##### **Склад:**

фуксин основний кристалічний	- 1 г;
карболова кислота(фенол)	- 5 г;
гліцерин	- 0,5 см <sup>3</sup> ;
96 %-вий розчин етилового спирту	- 10 см <sup>3</sup> ;
вода здистильована	- 100 см <sup>3</sup> .

1 г основного кристалічного фуксину (4.2.26) розтирають у ступці (4.1.28) з 5 г кристалічної карболової кислоти (4.2.15) та 0,5 см<sup>3</sup> гліцерину (4.2.7). Під час розтирання невеликими порціями додають 10 см<sup>3</sup> 96 %-вого розчину етилового спирту (4.2.34). Після того, як фарбу повністю розтерли, додають за постійного перемішування 100 см<sup>3</sup> здистильованої води (4.2.3). Розчин фарби фільтрують. Фуксин Ціля є стійким розчином і його зберігають у колбах з темного скла.

#### **7.2.3.3.3** Готування розчину карболового генціанового фіолетового

##### **Склад:**

генціановий фіолетовий	- 1 г;
карболова кислота кристалічна	- 2 г;
96 %-вий розчин етилового спирту	- 10 см <sup>3</sup> ;
вода здистильована	- 100 см <sup>3</sup> .

1 г генціанового фіолетового (4.2.5) розтирають у ступці з 2 г кристалічної карболової кислоти (4.2.15). Невеликими порціями додають 10 см<sup>3</sup> 96 %-вого розчину етилового спирту (4.2.34). Після того, як фарбу повністю розтерли, додають за постійного перемішування 100 см<sup>3</sup> здистильованої води (4.2.3). Розчин фарби фільтрують через паперовий фільтр (4.1.12)..

Розчин є нестійким, зберігають у ємностях, захищених від світла.

Термін зберігання розчину - не довше 3 місяців за температури від (0-5) °С.

#### 7.2.3.3.4 Готування паперу для фарбування за Синьовим

У 100 см<sup>3</sup> 96 %-вого розчину етилового спирту (4.2.34) розчиняють 1 г кристалічного фіолетового (4.2.36) та 1 см<sup>3</sup> гліцерину (4.2.7). Фарбу наливають в ємність. Папір фільтрувальний (4.1.12) нарізають смужками шириною (2,0-2,5) см та довжиною (30-50) см. Смужку занурюють на (30-40) секунд у фарбу так, щоб він пофарбувався з обох боків. Папірці висушують, розрізають на шматочки шириною 2 см та довжиною 4 см. Зберігають необмежений час у банках з темного скла з притертими корками.

#### 7.2.3.3.5 Готування розчину Люголя

##### Склад:

йод кристалічний	- 1 г;
калію йодид	- 2 г;
вода здистильована	- 300 см <sup>3</sup> .

У фарфоровій ступці (4.1.28) розтирають 1 г йоду кристалічного(4.2.11) і 2 г йодиду калію (4.2.12) і порціями по 5 см<sup>3</sup> додають здистильовану воду (4.2.3) до повного розчинення кристалічного йоду в йодиді калію. Зберігають у темній склянці.

### 7.3 Готування проб до контролювання

**7.3.1** Молоко незбиране, знежирене, зі смаковими добавками, маслянка, сироватка, замінники незбираного молока, вершки пастеризовані, густі та напівгусті молочні продукти та інші подібних до них продукти

Відібрані проби перед дослідженням ретельно перемішують. Відбирають стерильною піпеткою (4.1.16) 10 см<sup>3</sup> продукту, у стерильну пробірку або колбочку (7.1.3).

#### 7.3.2 Кисломолочні напої і продукти, рідкі закваски

Відібрані проби перед дослідженням перемішують та нейтралізують. Для цього відбирають стерильною піпеткою (4.1.16) 10 см<sup>3</sup> продукту або закваски, що аналізують, у стерильну пробірку або колбочку (7.1.3) та додають 1 см<sup>3</sup>

стерильного розчину двовуглекислого натрію (7.2.1.5) з масовою концентрацією 100 г/дм<sup>3</sup>, вміст ємності перемішують.

### **7.3.3 Морозиво, торти і рулети сиркові та з морозива**

Перед дослідженням посуд з пробою нагрівають на водяній бані за температури (40-45) °С до розплавлення проби.

**7.3.4 Сир, сир кисломолочний, сиркові вироби, напівфабрикати, сирна маса для плавлення і інші подібні до них продукти**

10 г сиру, сиру кисломолочного або сиркових виробів зважують на стерильному годинниковому скельці, чашці Петрі, в бюксі тощо, переносять у стерильну або профламбовану ступку, яку прикривають кришкою від чашки Петрі, та ретельно розтирають товкачиком.

### **7.3.5 Масло**

Перед випробовуванням пробу розплавляють на водяній бані за температури (40-45) °С і перемішують до отримання однорідної емульсії.

**7.3.6 Згущене молоко з цукром, молочні концентрати та інші подібні продукти**

Пакування з продуктом ретельно миють щіткою в чистій теплій воді і витирають.

Перед відкриванням кришку банок, верхню поверхню пакувань, корок бочки та частину поверхні навколо корка протирають спиртом та фламбують.

Відкривають банки стерильним консервним ножем, а корок бочки та поверхні пакувань – пробійником. Після відкриття отвори, що утворилися, відразу закривають стерильним пергаментом, профламбованою жерстяною накривною або накривкою чашки Петрі. Вміст пакування ретельно перемішують стерильною ложкою. Зважують стерильний сухий посуд і вносять туди 10 г продукту.

**7.3.7 Сухі молочні продукти, сухі закваски, бактеріальні концентрати, бактеріальні препарати прямого внесення**

Відібрану пробу ретельно перемішують стерильною ложкою або шпателем, зважують 10 г продукту на стерильному пергаменті, чи в чашці Петрі, чи в бюксі, переносять у стерильну колбу або інший стерильний посуд.

#### **7.4 Готування розведень продуктів для посіву**

**7.4.1** Безпосередньо перед посівом готують десятикратні розведення продукту в стерильних розчинах хлористого натрію (7.2.1.1), пептонно-сольового розчину (7.2.1.6) розчину з пептоном (7.2.1.7), цитринового натрію (7.2.1.4) (для сирів) або фосфатного буферу (7.2.1.2). Для того, щоб приготувати розведення, готують всі необхідні стерильні матеріали і посуд відповідно до особливостей контролювання продукту, який досліджують - пробірки з 9 см<sup>3</sup> або колби з 90 см<sup>3</sup> розчинів хлористого натрію, хлористого натрію з пептоном чи фосфатного буферу.

**7.4.2** Із проб молока, вершків, сметани, кисломолочних напоїв і продуктів, морозива, масла відбирають стерильною піпеткою 10 см<sup>3</sup> і вносять у 90 см<sup>3</sup> стерильних розчинів хлористого натрію, хлористого натрію з пептоном чи фосфатного буферу. Отримують розведення 1:10.

Масло та морозиво вносять у розчини хлористого натрію, хлористого натрію з пептоном чи фосфатного буферу у попередньо підігрітому до (40-45) °С стані.

**7.4.3** До підготовлених наважок сиру кисломолочного, сиркових виробів, згущених молочних консервів і сухих молочних продуктів додають 90 см<sup>3</sup> стерильних розчинів для розведення відповідних до 7.4.2, підігрітих до температури (40-45) °С, збовтують упродовж (3-5) хв до емульгування. Отримують розведення 1:10.

З першого розведення 1:10 готують такі – 1:100 і т.д.

Для приготування кожного розведення беруть нову стерильну піпетку, або у разі застосування автоматичної піпетки – стерильний наконечник. Під час посіву у чашки Петрі посівний матеріал вносять, починаючи від вищого розведення. У цьому разі користуються однією піпеткою.

## **8 МЕТОДИ КОНТРОЛЮВАННЯ**

### **8.1 Метод визначення редуктази з метиленовим синім**

#### **8.1.1 Суть методу**

Метод базується на відновленні метиленового синього окислювально-відновлювальними ферментами мікроорганізмів, що присутні у продукті. За тривалістю знебарвлення метиленового синього оцінюють бактеріальне забруднення сирого молока.

#### **8.1.2 Проведення контролювання**

**8.1.2.1** У пробірки (4.1.21) наливають по 1 см<sup>3</sup> робочого розчину метиленового синього відповідно до 7.2.3.1.3.2 і по 20 см<sup>3</sup> випробної проби молока, закривають гумовими корками (4.1.8) і перемішують, перевертаючи пробірки тричі.

**8.1.2.2** Пробірки поміщають у редуктазник (4.1.23) з температурою води (37±1) °С на 4 год.

За відсутності редуктазника можна використовувати водяну баню (4.1.1), яку поміщають у термостат з температурою (37±1) °С або водяний термостат, здатний підтримувати температуру (37±1) °С.

**8.1.2.3** Вода у редуктазнику, водяній бані, водяному термостаті після занурення пробірок з молоком повинна доходити до рівня рідини в пробірці, або бути дещо вищою. Температура води повинна бути (37±1) °С упродовж всього терміну дослідження. Пробірки з пробами упродовж всього контролювання повинні бути захищеними від прямих сонячних променів. Для цього редуктазник щільно закривають накривкою.

**8.1.2.4** Момент занурення пробірок у редуктазник чи інший прилад вважають початком процесу контролювання.

**8.1.2.5** Як закінчення контролювання розглядають момент знебарвлення випробної проби. Водночас, слід зауважити, що незначний забарвлений кільцеподібний шар зверху (шириною не більше 1 см) або невелика забарвлена частина знизу пробірки, які спостерігають за знебарвлення проби, не

враховують. Появу забарвлення проби у цих пробірках під час струшування не беруть до уваги.

### 8.1.3 Опрацювання результатів

Залежно від тривалості знебарвлення молоко відносять до одного із 4 гатунків, означених у табл. 1

**Таблиця 1** – Ступінь бактеріального забруднення за тривалістю знебарвлення метиленового синього та відповідний гатунок молока

Гатунок молока	Тривалість знебарвлення, год	Орієнтовна кількість бактерій в 1 см <sup>3</sup> молока, КУО
екстра	більше 3,5	До 100 тис.
вищий	3,5	до 300 тис.
перший	2,5	до 500 тис.
другий	40 хв.	до 3 млн

## 8.2 Метод визначення редуктази з резазурином

### 8.2.1 Суть методу

Метод базується на відновленні резазурину окислювально-відновлювальними ферментами мікроорганізмів, які присутні у молоці. За тривалістю знебарвлення резазурину оцінюють бактеріальне забруднення сирого молока.

### 8.2.2 Проведення контролювання

**8.2.2.1** Дослідження за резазуриною пробою слід виконувати не раніше, ніж через 2 год після доїння.

У пробірки наливають по 1 см<sup>3</sup> робочого розчину резазурину відповідно до 7.2.3.2.2 і по 10 см<sup>3</sup> випробної проби молока, закривають гумовими корками і змішують, повільно перевертаючи пробірки тричі.

**8.2.2.2** Дослідження проводять згідно з 8.1.1.2-8.1.1.4.

**8.2.2.3** Показники реєструють через 1 год. та 1,5 год.

**8.2.2.4** Появу забарвлення молока в цих пробірках при струшуванні не враховують.

**8.2.2.5** Через 1 год пробірки дістають із редуクタзника або іншого обладнання. Пробірки з молоком, які мають забарвлення від сіро-бузкового до бузкового зі слабким сірим відтінком, залишають у редуクタзнику ще на 30 хв.

### 8.2.3 Опрацювання результатів

Залежно від тривалості знебарвлення або зміни кольору молоко відносять до одного із 4 гатунків, зазначених у табл. 2, та додатку А.

Молоко, яке через 1,5 год має забарвлення, що відповідає вищому класу (відповідно до додатку А) відносять до класу екстра.

**Таблиця 2** - Рівень бактеріального забруднення молока за резазуриною пробою

Гатунок молока	Тривалість знебарвлення або зміни кольору, год	Забарвлення молока	Орієнтовна кількість бактерій в 1 см <sup>3</sup> молока, КУО
екстра	більше 3,5	Сіро-бузкове до бузкового зі слабким сірим відтінком	До 100 тис.
вищий	3,5	Сіро-бузкове до бузкового зі слабким сірим відтінком	до 300 тис.
перший	2,5	Бузкове з рожевим відтінком або яскраво-рожеве	до 500 тис.
другий	0,40	Рожеве бліде або біле	до 3 млн

## 8.3 Визначання кількості мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів (КМАФАМ)

### 8.3.1 Суть методу

Метод базується на здатності мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів розмножуватися на селективних твердих живильних середовищах за температури (30±1) °С упродовж 72 год.

### 8.3.2 Проведення контролювання

#### 8.3.2.1 Вибір розведень для посіву

Кількість продукту, який використовують для посіву, визначають шляхом урахування найвірогіднішого мікробного забруднення відповідно до даних поданих у табл. 3.

**Таблиця 3** – Обсяги проб для контролювання вмісту КМАФАМ

Назва продукту	Кількість продукту, яку висівають, у 1 см <sup>3</sup> або 1 г		
Молоко та вершки сирі	0,0001	0,00001	0,000001
Всі види вершкового масла та спредів	0,01	0,001	0,0001
Молоко та вершки пастеризовані	0,1	0,01	0,001
Молоко та вершки згущені з цукром, какао і кава зі згущеним молоком і цукром, згущене молоко з цукром та іншими наповнювачами	0,1	0,01	0,001
Молоко сухе, вершки сухі, сухі молочні продукти в порошковій таблеткованій та капсульній формі, молочно-овочеve пюре, замітник незбираного молока	0,01	0,001	0,0001
Закваски, бактеріальні препарати	1	0,1	
Морозиво, молочні коктейлі	0,01	0,001	0,0001
Плавлений сир	0,1	0,01	0,001
Лактоза	0,1	0,01	
Казеїн, казеїнати, концентрати молочні білкові	0,1	0,01	0,001

### 8.3.2.2 Посів

Для того, щоб визначити КМАФАМ, вибирають ті розведення, у яких за посіву на чашках виростає не менш ніж 30 і не більш ніж 300 колоній.

Із кожної проби висівають у чашки матеріал із розведень, які вказано у табл. 3.

Кожне із розведень повинне засіватися у кількості 1 см<sup>3</sup> в одну чашку Петрі, яку перед посівом маркують.

Після внесення посівного матеріалу у кожну чашку Петрі наливають по (10-15) см<sup>3</sup> розплавленого і охолодженого до температури (40-45) °С живильного середовища (7.2.2.1, 7.2.2.2) для визначання загальної кількості мікроорганізмів, ретельно перемішуючи легкими коловими покачуваннями для рівномірного розподілу посівного матеріалу у середовищі.

Дозволено висівати випробну пробу на чашки Петрі із одного і того ж розведення у кількості 1 см<sup>3</sup> або 0,1 см<sup>3</sup>.

### 8.3.2.3 Вирощування

Після застигання агару чашки Петрі перевертають накривками донизу і ставлять у такому положенні в термостат та витримують за температури (30±1) °С протягом 72 год.

Для перевірки стерильності живильного середовища готують як контрольну чашку з 12 мл агару (7.2.2.2) без посівного матеріалу.

### **8.3.3 Опрацювання результатів**

Кількість колоній, які вирости, підраховують на кожній чашці, помістивши її догори дном на темному фоні та за допомогою лупи зі збільшенням у (4-10) разів (4.1.10). Кожну підраховану колонію помічають на дні чашки маркером. Для підрахування колоній рекомендовано застосовувати спеціальні лічильники (4.1.18).

За великої кількості колоній і їхнього рівномірного розташування дно чашки Петрі умовно ділять на 4 або більше однакових секторів, рахують кількість колоній у двох-трьох секторах (але не менше, ніж на 1/3 поверхні чашки), знаходять середнє арифметичне числа колоній і множать на загальну кількість секторів на одній чашці.

Кількість (КМАФАМ) у 1 см<sup>3</sup> або 1 г продукту (X) в КУО вираховують за формулою

$$X = n \cdot 10^m, \quad (1)$$

де: n – кількість колоній, підрахованих на одній чашці Петрі;

m – порядок десятикратного розведення.

За остаточний результат приймають середнє арифметичне кількості колоній, підрахованих у всіх чашках.

### **8.3.4 Точність**

#### **8.3.4.1 Загальні положення**

Детально викладених точних даних, отриманих шляхом міжлабораторного випробовування, немає. Отримані кількісні дані є експериментальними.

#### **8.3.4.2 Збіжність**

Абсолютна різниця між двома окремими результатами одного дослідження, отриманих з використанням одного методу, на ідентичному

досліджуваному матеріалі, у тій самій лабораторії, тим самим оператором, з використанням того ж самого обладнання, упродовж короткого проміжку часу повинно бути не більше, ніж 50 % за вмісту 100000 мікроорганізмів у 1 см<sup>3</sup>, тобто найвищий результат не повинен перевищувати найменший більш ніж на 50 %.

**Примітка.** Досвід свідчить, що повторюваність за вмісту 100000 мікроорганізмів у 1 см<sup>3</sup> становить приблизно 50 %. Зі зменшенням кількості мікроорганізмів показники повторності зростають, тобто, поступово погіршуються.

### **8.3.5 Протокол контролювання**

Протокол контролювання повинен містити:

- а) усю інформацію, необхідну для повної характеристики проби;
- б) використаний метод відбирання, якщо відомий;
- в) використаний метод дослідження, із посиланням на цей стандарт;
- г) усі деталі, що відносяться до даного дослідження, але не зазначені у цьому стандарті, або розглядаються, як додаткові, разом із детальним зазначенням усіх побічних обставин, що могли б вплинути на результат дослідження;
- д) отриманий результат дослідження.

**8.3.6** У разі отримання незадовільних результатів хоча б за одним із показників якості, проводять повторне відбирання та контролювання подвійної вибірки продукту від тієї ж партії.

У разі отримання незадовільних результатів повторного контролювання подвійної вибірки продукту всю партію бракують.

## **8.4 Визначання бактерій групи кишкових паличок**

Дослідження можна проводити згідно ДСТУ IDF 73A

### **8.4.1 Суть методу**

Метод базується на здатності бактерій групи кишкових паличок (БГКП) (неспорові, грамнегативні, аеробні і факультативно анаеробні палички, переважно представники родів *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*,

Seratia) зброджувати лактозу з утворенням кислоти і газу за  $(37\pm 1)$  °C упродовж 24 год.

## 8.4.2 Проведення контролювання

### 8.4.2.1 Посів у середовище Кеслера

Кількість посівного матеріалу, який засівають у середовище, вказано у табл.4.

**Таблиця 4** – Обсяги проб для контролювання вмісту БГКП у продуктах

Назва продукту	Кількість посівного матеріалу, см <sup>3</sup> чи г	Кількість пробірок чи колбочок, які засівають із кожного розведення
Молоко та вершки сирі	Від 0,1 до 0,00001	1
Молоко та вершки, відібрані після пастеризації	10	1
Молоко, сироватка, маслянка та вершки пастеризовані, молоко з наповнювачами, кисломолочні продукти і напої з та без наповнювачів, ЗНМ рідкий	1; 0,1; 0,01	1
Морозиво, молочні десерти, молочні коктейлі	0,1	1
Масло, спреди	1; 0,1; 0,01	1
Сир після пресування	Від 0,001 до 0,00001	1
Сир зрілий (або наприкінці визрівання)	Від 0,1 до 0,001	1
Сир кисломолочний, сир домашній, сиркові вироби, альбумінні вироби	Від 0,1 до 0,0001	1
Сметана, паста ацидофільна, вершкові продукти	Від 0,1 до 0,0001	1
Закваска на чистих культурах рідка	2;	1
Бактеріальні концентрати	1; 0,1	
Молоко і вершки згущені з цукром, какао і кава зі згущеним молоком і цукром:		
у спожитковій тарі	1	1
у транспортній тарі	0,1	1
Молоко сухе, вершки сухі, лактоза, ЗНМ і інші сухі продукти	0,1	1

По 1 см<sup>3</sup> означених у табл. 4 розведень продукту засівають у пробірки з 5 см<sup>3</sup> середовища Кеслера (7.2.2.3). Засівання 10 см<sup>3</sup> пастеризованого молока, відібраного після пастеризатора, 10 см<sup>3</sup> рідкої закваски на чистих культурах, 3 см<sup>3</sup> кефірної закваски або 10 см<sup>3</sup> розведення 1:10 згущеного молока і вершків із цукром, какао і кави зі згущеними молоком та цукром у спожитковій тарі, здійснюють у колби з (40-50) см<sup>3</sup> середовища Кеслера.

#### **8.4.2.2 Вирощування проб**

Пробірки або колби з посівами поміщають у термостат за температури  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  і витримують протягом (18-24) год.

При дослідженні морозива засіяні пробірки витримують у термостаті за температури  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  упродовж 48 год.

#### **8.4.2.3 Опрацювання результатів**

Переглядають пробірки або колби з посівами. Висновок щодо відсутності БГКП роблять на підставі відсутності газоутворення у найменшому із використаних розведень.

За наявності у найменшому із розведень газу у поплавку, вважають, що у цьому розведенні присутні БГКП.

### **8.4.3 Визначення БГКП на середовищі Ендо**

#### **8.4.3.1 Суть методу**

Суть методу полягає у здатності БГКП утворювати колонії темно-червоні колонії з металевим блиском або рожево-червоні без металевого блиску. Це дослідження застосовують для остаточного підтвердження присутності БГКП у пробі.

#### **8.4.3.1 Посів на середовище Ендо**

Беруть посівний матеріал із позитивних проб, отриманих на середовищі Кеслера відповідно до 8.4.2 та висівають на підготовлені чашки Петрі з середовищем Ендо відповідно до 7.2.2.6.

#### **8.4.3.2 Вирощування проб**

Чашки Петрі з посівами поміщають у термостат за температури  $37^\circ\text{C}$  і витримують упродовж (18-20) год.

#### **8.4.3.3 Опрацювання результатів**

Переглядають утворені колонії. Наявність грампозитивних паличок, які утворюють характерні колонії відповідно до 8.4.3.1 на середовищі Ендо, свідчить про наявність БГКП.

**8.4.4 Посів у середовище фіолетового червоного жовчного агару з лактозою на тверде середовище .**

**8.4.4.1** Використовують середовище, готування якого описано в 7.2.2.4

**8.4.4.2** Кількість посівного матеріалу, який засівають у середовище, вказано у табл.4.

**8.4.4.3** *Інокулювання чашок Петрі*

Інокулюють 3 мл дослідної проби (7.3) шляхом перенесення стерильною піпеткою (7.1.3) по 1 см<sup>3</sup> проби в кожну з трьох чашок (7.1.3)

**8.4.4.4** *Посів*

Наливають по (12-15) см<sup>3</sup> агару (7.2.2.4) в кожну інокульовану чашку. Після посіву негайно перемішують, обертаючи чашку Петрі до одержання рівномірно розсіяних колоній після термостатування. Час від закінчення підготовлення проби і до змішування випробної порції з середовищем становить (12±3) хв.

Для перевірки стерильності одну чашку готують контрольною.

Залишають застигати на чистій, горизонтальній поверхні доти, поки середовище не застигне. Після повного застигання наливають (4±2) см<sup>3</sup> агару (7.2.2.4) на поверхню інокульованого середовища. Залишають застигати. Для перевірки стерильності підготовляють контрольну неінокульовану чашку.

**8.4.4.5** *Термостатування чашок Петрі*

Переносять чашки в термостат (4.1.30). Чашки термостатують у перевернутому стані. Ставити одна на одну слід не більше ніж шість чашок.

Термостатування здійснюють за температури (30±2) °С упродовж (24±2) год.

**8.4.4.6** *Підрахунок колоній*

Підраховують колонії в чашках Петрі, що містять не більш ніж 150 колоній. Підраховують темно-червоні колонії діаметром не менш ніж 0,5 мм з (чи без) оточуючого преципітату, характерного для коліформ.

Якщо всі або деякі колонії мають нехарактерний вигляд (наприклад, відрізняються кольором, розміром або формуванням преципітату, відмінного від типових колоній) проводять підтверджувальне контролювання .

**8.4.4.7** *Підтверджувальне контролювання*

Відповідно до ознак, наведених в 8.6.3.6, проводять підтверджувальне контролювання на відповідній кількості (наприклад, від трьох до п'яти) нехарактерних колоній шляхом інокуляції в пробірки брильянтового зеленого лактозо-жовчного бульйону (7.2.2.5), використовуючи бактеріологічну петлю (4.1.14). Термостатують пробірки за температури  $(30 \pm 1)$  °C упродовж  $(24 \pm 2)$  год. Колонії, які утворюють газ у трубці Дарема, вважають підтвердженими коліформами. Наявність газу у трубці Дарема встановлюють візуально.

#### **8.4.4.8 Обчислення та вираження результатів**

Використовують підрахунки з чашок, що містять не більш ніж 150 колоній. Якщо проводилося підтверджувальне контролювання, обчислюють кількість колоній коліформ залежно від відсотка підтверджених колоній.

Кількість коліформ у  $1 \text{ см}^3$  пастеризованого молока обчислюють за формулою:

$$\frac{\sum C}{n}, \quad (2)$$

де:  $\sum C$  - загальна кількість колоній коліформ, знайдена шляхом дослідження проби ( $3 \text{ см}^3$ );

$n$  – величина дослідної проби ( $3 \text{ см}^3$ ).

При наявності більш ніж 100 колоній підрахунок береться з точністю до двох значущих цифр. Якщо наявні тільки підрахунки, що перевищують 150 колоній, результат подають як “оцінена кількість коліформ в  $1 \text{ см}^3$ ”.

#### **8.4.4.9 Точність**

##### **8.4.4.9.1 Загальні положення**

Детально викладених точних даних, отриманих шляхом міжлабораторного контролювання, немає.

##### **8.4.4.9.2 Збіжність**

Абсолютна різниця між двома окремими результатами одного дослідження, отриманих з використанням одного методу, на ідентичному досліджуваному

матеріалі, у тій самій лабораторії, тим самим оператором, з використанням того ж самого обладнання упродовж короткого проміжку часу повинне бути не більш, ніж 50 % за вмісту 100000 мікроорганізмів у 1 см<sup>3</sup>, тобто найвищий результат не повинен перевищувати найменший більш ніж на 50 %.

**Примітка.** Досвід свідчить, що повторність за вмісту 100000 мікроорганізмів у 1 см<sup>3</sup> становить приблизно 50 %. Із зменшенням кількостей мікроорганізмів показники повторності зростають, тобто поступово погіршуються.

#### **8.4.4.10 Протокол випробовування**

Протокол випробовування повинен містити:

- а) усю інформацію, необхідну для повної характеристики проби;
- б) використаний метод відбирання, якщо відомий;
- в) використаний метод дослідження, із посиланням на цей стандарт;
- г) усі деталі, що відносяться до даного дослідження, але не зазначені у цьому стандарті, або розглядаються, як додаткові, разом із детальним зазначенням усіх побічних обставин, що могли б вплинути на результат дослідження.
- д) отриманий результат дослідження

**8.4.4.11** У разі отримання незадовільних результатів хоча б за одним із показників якості, проводять повторне відбирання та контролювання подвійної вибірки продукту від тієї ж партії.

У разі отримання незадовільних результатів повторного контролювання подвійної вибірки продукту всю партію бракують.

### **8.5 Метод мікроскопіювання**

#### **8.5.1 Суть методу**

Метод базується на перегляданні мікроскопічних препаратів, пофарбованих спеціальними фарбниками, для орієнтовної характеристики мікрофлори кисломолочних продуктів. За відношенням до фарбування за

Грамом мікроорганізми розподіляють за різною морфологією клітинної стінки на грампозитивні та грамнегативні.

### **8.5.2 Проведення мікроскопіювання**

Для приготування мікроскопічного препарату на чисте знежирене предметне скло (4.1.26) петлею (4.1.14) наносять невелику краплю випробного матеріалу і розподіляють на ділянці площею  $(1 \pm 0,2)$  см<sup>2</sup>. Препарат сушать за температури  $(20 \pm 2)$ , °С фіксують над полум'ям спиртівки і фарбують метиленовим синім (7.2.3.1.2).

### **8.5.3 Склад мікрофлори продуктів подано у ДСТУ 2212:2003.**

Мікроскопічну характеристику мікрофлори подано у додатку В.

## **8.5.4 Фарбування препаратів за Грамом**

### **8.5.4.1 Суть методу**

Згідно з методикою фарбування мікроскопічних препаратів за Грамом, фіксовані бактеріальні клітини спочатку обробляють розчином кришталевого фіолетового, а далі – розчином йоду. Забарвлений комплекс, що утворився, утримується клітинною стінкою грампозитивних бактерій, і вони залишаються синіми; клітинні стінки грамнегативних бактерій знебарвлюються, оскільки комплекс барвник-йод з них вимивається. Для того, щоб побачити грамнегативні бактерії, їх додатково забарвлюють фуксином, який надає їм червоного забарвлення.

### **8.5.4.2 Особливості фарбування**

Мазок має бути тонким. Знебарвлення слід проводити дуже швидко (щоб не вимити фарбу з грампозитивних клітин). Додаткове контрастне фарбування розчином фуксину має бути короткотривалим (щоб не замаскувати попередню фарбу).

### **8.5.4.3 Уживана модифікація**

8.5.4.3.1 Фіксований мазок покривають клаптиком фільтрувального паперу (4.1.12) і зверху наносять розчин карболового генціанового фіолетового (7.2.3.5.3) зафарбовуючи препарат упродовж (1-2) хв.

8.5.4.3.2 Знімають папір, зливають фарбу, мазок промивають водою (4.2.4) и наливають на нього розчин Люголю відповідно до (7.2.3.5.5) (мазок чорніє).

8.5.4.3.3 Через (1-2) хв розчин зливають і наливають етиловий спирт (4.2.34) і витримують протягом (0,5-1) хв., поки з мазка не перестане стікати фарба.

8.5.4.3.4 Мазок промивають під слабким струменем водопровідної води та додатково наносять на нього водний фуксин відповідно до (7.2.3.5.1) і витримують упродовж (1-2) хв.

8.5.4.3.5 Мазок промивають водою (4.2.4) та висушують.

#### **8.5.4.4 Модифікація Синьова**

**8.5.4.4.1** На фіксований мазок кладуть папірець, виготовлений за методом Синьова (7.2.3.5.4) наносять на папірець (2-3) краплі води, яка повністю убирається папером, і фарбують упродовж 2 хв.

**8.5.4.4.2** Знімають папірець пінцетом.

**8.5.4.4.3** Проводять фарбування, як зазначено у 8.5.4.3.2

### **8.6 Метод визначення промислової стерильності**

#### **8.6.1 Суть методу**

Метод базується на здатності мікроорганізмів, які не загинули під час стерилізування, розмножуватися у молоці, молочних продуктах або бактеріальних препаратах за оптимального режиму термостатування і призводити до відчутних змін органолептичних, фізико-хімічних та санітарно-гігієнічних показників.

#### **8.6.2 Проведення контролювання для згущеного стерилізованого молока та вершків**

**8.6.2.1** Відібрані продукти у спожитковому пакуванні (банки, пакети тощо) зі згущеним молоком або іншим продуктом витримують у термостаті за  $(37\pm 1)$  °C упродовж 6 діб. Після цього пакування з випробним продуктом охолоджують до  $(20\pm 5)$  °C і піддають поверхневому огляду. У разі встановлення

здуття накривки або дна, яке не зникає за притискання, пакування вважають бомбажним і занотовують це у протоколі.

**8.6.2.2** Пакування без зовнішніх дефектів відкривають, продукт досліджують органолептично, за фізико-хімічними (титрова кислотність) та мікробіологічними показниками – готують мікроскопічний препарат та, за необхідності, роблять посіви відповідно до 8.5 цього стандарту або згідно з ДСТУ IDF 100B.

#### **8.6.2.3** Опрацювання результатів

У випробуваних стерилізованих продуктах після термостатування не повинно бути органолептичних та фізико-хімічних змін. Мікроскопічний препарат не повинен показувати присутність клітин мікроорганізмів. На чашках з посівом випробного матеріалу кількість колоній бактерій не повинна перевищувати 100 у 1 г продукту.

**8.6.3** *Проведення контролювання питного стерилізованого молока та вершків*

**8.6.3.1** Відібрані пакування зі стерилізованим молоком витримують у термостаті за температури  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  упродовж 3 діб, а вершки 5 діб.

Зразки молока, які вироблені двохстадійним способом, додатково витримують за температури  $(55\pm 1)^\circ\text{C}$  ще упродовж 5 діб.

**8.6.3.2** Після цього пакування з випробним продуктом охолоджують до температури  $(20\pm 5)^\circ\text{C}$  і піддають поверхневому огляду. У разі встановлення здуття пакування або зміни зовнішнього вигляду молока в пляшках (наявність згустків, сироватки тощо) пакування з продуктом вважають таким, що не відповідає вимогам промислової стерильності, і занотовують це у протоколі.

**8.6.3.3** Пакування без зовнішніх дефектів відкривають, стерилізоване молоко або вершки досліджують органолептично. Продукт відповідає вимогам промислової стерильності, якщо не встановлено зміни консистенції та смаку продукту.

**8.6.3.4** В арбітражних випадках або для встановлення причини псування стерилізованого молока визначають кислотність та проводять мікробіологічне

контролювання, застосовуючи мікроскопіювання та посів 1 см<sup>3</sup> проби. Для визначення чисельності бактерій роблять посіви відповідно до 8.5 цього стандарту або згідно з ДСТУ IDF 100В.

#### **8.6.3.5** *Опрацювання результатів*

Продукт відповідає вимогам промислової стерильності, якщо кислотність молока збільшується не більш ніж на 2 °Т, в мікроскопічному препараті відсутні клітини мікроорганізмів, а загальна чисельність бактерій в 1 см<sup>3</sup> не перевищує 10 КУО.

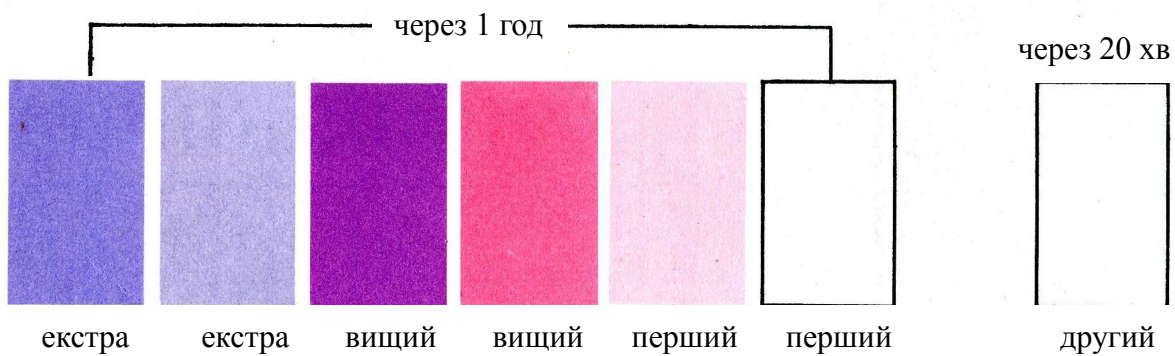
**8.6.3.6** У разі отримання незадовільних результатів хоча б за одним із показників якості, проводять повторне відбирання та контролювання подвійної вибірки продукту від тієї ж партії.

У разі отримання незадовільних результатів повторного контролювання подвійної вибірки продукту всю партію бракують.

Додаток А  
Обов'язковий

Шкала кольору для визначання класу молока за редуцтазною пробою

забарвлення молока



Додаток В  
Інформаційний

Мікрофотографії різних молочних продуктів згідно асортименту  
наведеного в ДСТУ 2212:2003

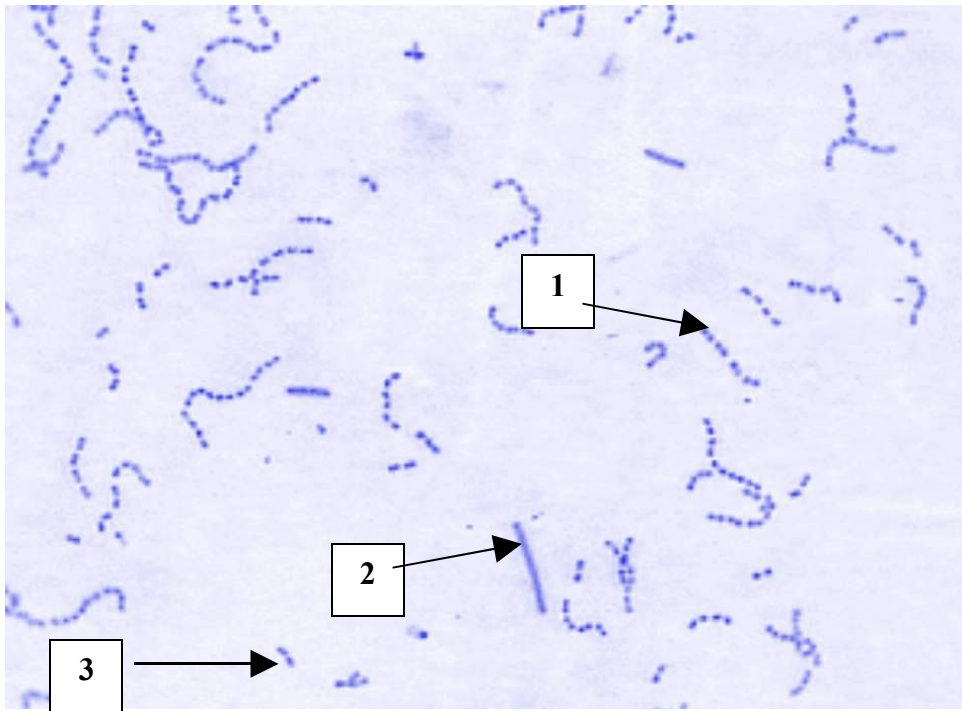


Рис.1 Морфологічна картина продукту “Біоряжанка”  
1-молочнокислі бактерії; 2-ацидофільна паличка; 3-біфідобактерії

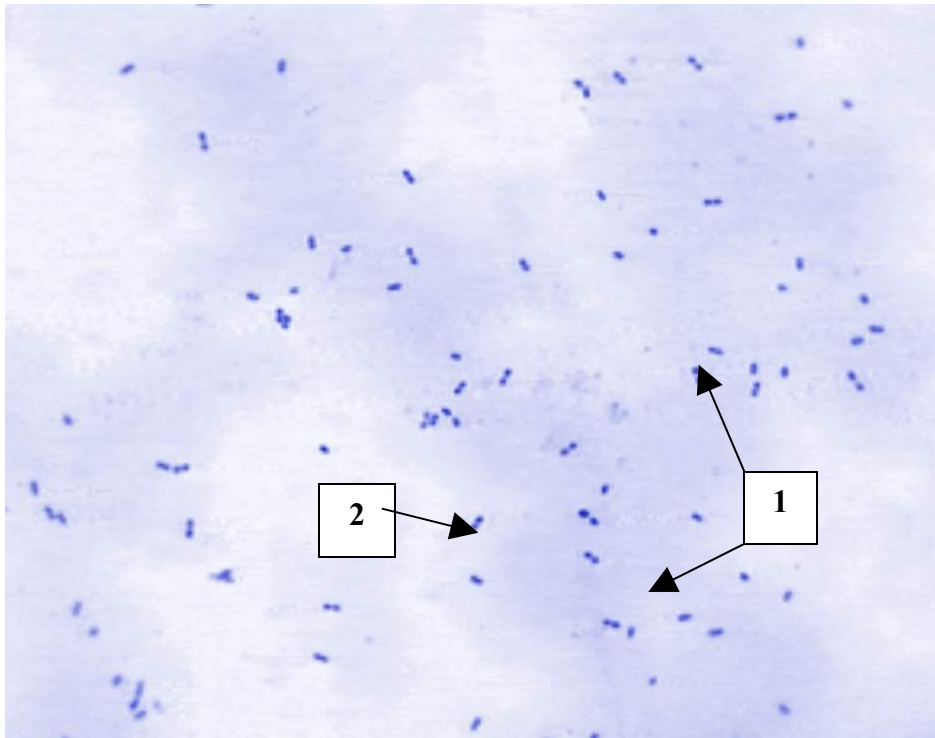


Рис.2 Морфологічна картина продукту “**Біосметана**”  
світловий мікроскоп, збільшення 10x100  
1-молочнокислі бактерії; 2 -біфідобактерії

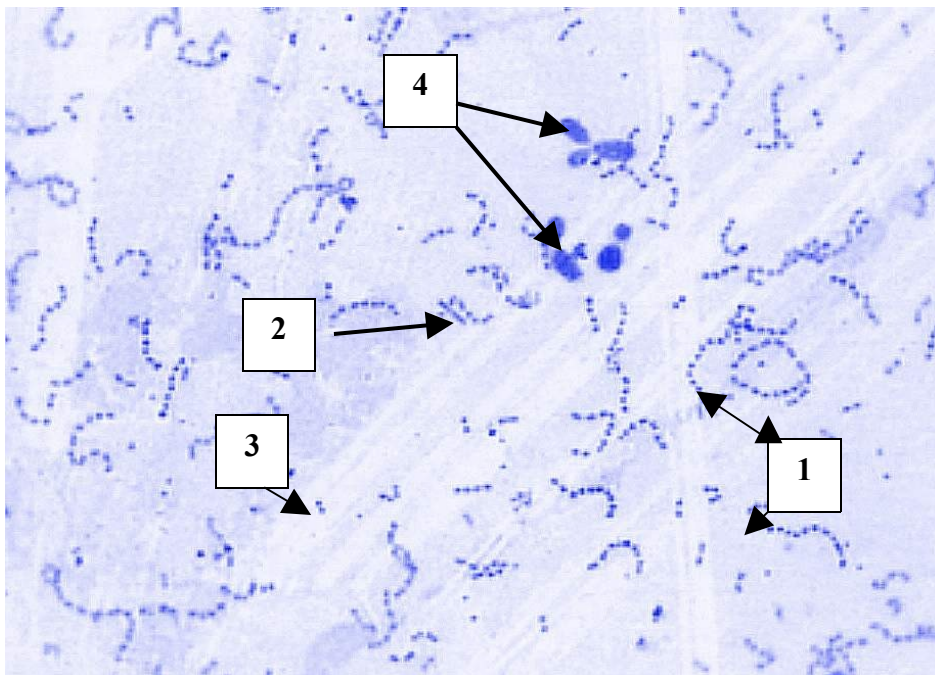


Рис. 3 Морфологічна картина продукту “**Біокефір**”  
світловий мікроскоп, збільшення 10x100  
1-молочнокислі бактерії; 2- ацидофільна паличка; 3-біфідобактерії; 4 - дріжджі

67.100.10

---

**Ключові слова:** бактерії групи кишкових паличок, метод, мікробіологія, мікробне забруднення, мікроорганізми, мікроскопіювання, молоко, молочні продукти, проба, промислова стерильність,

---

Директор ТІММ УААН

Г.О.ЄРЕСЬКО

Керівник розробки  
зав. відділом біотехнології

Н.Ф.КІГЕЛЬ

Відповідальний виконавець

С.Г.ДАНИЛЕНКО