

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
7702.2.6—
2015

МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ И ПОЛУФАБРИКАТЫ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ

Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих кластридий

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2016

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности» (ВНИИПП)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 18 июня 2015 г. № 47)

За принятие стандарта проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 21 августа 2015 г. № 1182-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 7702.2.6—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2016 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 7702.2.6—93

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартиформ, 2016

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Поправка к ГОСТ 7702.2.6—2015 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Предисловие. Пункт 3. Таблица согласования	—	Азербайджан AZ Азстандарт

(ИУС № 3 2016 г.)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ
И ПОЛУФАБРИКАТЫ ИЗ МЯСА ПТИЦЫ

Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий

Poultry meat, edible offal and ready-to-cook products.

Methods for detection and quantity determination of sulfite-reducing clostridium

Дата введения — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо птицы, субпродукты, полуфабрикаты, колбасные изделия и продукты (кулинарные изделия и кулинарные полуфабрикаты) из мяса птицы, в т. ч. паштеты, готовые быстрозамороженные блюда, зельцы, студни, заливные, продукты сублимационной сушки из мяса птицы, также пищевой жир-сырец птицы (далее — продукты) и устанавливает методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий.

Примечание — Допускается использовать методы, предусматриваемые настоящим стандартом, для испытаний проб, отобранных из зон производства и переработки пищевых продуктов.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79* Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ ISO 7218—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ 7702.2.0—95 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты птицы. Методы отбора проб и подготовка к микробиологическим исследованиям

ГОСТ 10444.1—84 Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе

ГОСТ 10929—76 (СТ СЭВ 5768—86) Реактивы. Водорода пероксид. Технические условия

ГОСТ ISO/TS 11133-1—2014 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории

ГОСТ ISO 11133-2—2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям питательных сред

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

ГОСТ 26669—85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов

ГОСТ 26670—91 Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов

ГОСТ 30425—97 Консервы. Метод определения промышленной стерильности

ГОСТ 31467—2012 Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы отбора проб и подготовка их к испытаниям

ГОСТ 31904—2012 Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических испытаний

П р и м е ч а н и е — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины, определения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1.1 **сульфитредуцирующие клостридии**: Сульфитредуцирующие, каталазоотрицательные облигатно анаэробные спорообразующие микроорганизмы, в микроскопическом препарате имеющие вид грамположительных палочек, расположенных в одиночку, парно, в виде цепочек или скоплений клеток; при спорообразовании споры сульфитредуцирующих клостридий овальные или сферические, центральные, субтерминальные или терминальные.

3.2 В настоящем стандарте применено следующее сокращение:

3.2.1 НВЧ — наиболее вероятное число.

4 Сущность методов

Методы основаны на высеве определенного количества продукта и (или) его разведений или проб, отобранных из зон производства и переработки пищевых продуктов, подтверждении принадлежности выросших микроорганизмов к сульфитредуцирующим клостридиям, определении их количества в 1 г (см³) пробы.

5 Общие положения

5.1 Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям — по ГОСТ ISO 7218.

5.2 Требования безопасности

5.2.1 Требования безопасности при работе с микроорганизмами — по ГОСТ ISO 7218; с химическими реактивами — по ГОСТ 12.1.007; с электрооборудованием — по ГОСТ 12.1.019.

Требования пожарной безопасности — по ГОСТ 12.1.004.

5.3 Требования к персоналу — по ГОСТ ISO 7218.

6 Аппаратура, оборудование, материалы, реактивы

6.1 Аппаратура, оборудование, материалы и реактивы — по ГОСТ 7702.2.0, ГОСТ ISO 7218.

6.2 Система для культивирования анаэробных микроаэрофильных бактерий*.

6.3 Водорода пероксид по ГОСТ 10929 массовой концентрацией 30 г/дм³.

6.4 Агар SPS.

6.5 Агар усиленный для клостридий

6.6 Агар триптонно-сульфитный с неомицином.

* Примером системы для культивирования анаэробных микроаэрофильных бактерий может быть Анохомат™. Данная информация является рекомендуемой, приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования другой аппаратуры с аналогичными свойствами.

7 Подготовка к проведению исследования

7.1 Отбор и подготовка проб

7.1.1 Отбор и подготовка проб — по ГОСТ 7702.2.0, ГОСТ ISO 7218, ГОСТ 31904.

7.1.2 Приготовление исходной суспензии и ряда 10-кратных разведений — по ГОСТ ISO 7218 и ГОСТ 26669.

7.2 Подготовка аппаратуры, оборудования, посуды и материалов

Подготовка аппаратуры, оборудования, посуды и материалов — по ГОСТ 7702.2.0, ГОСТ 31467, ГОСТ ISO 7218.

7.3 Приготовление питательных сред и растворов реактивов

7.3.1 Общие указания по приготовлению и стерилизации питательных сред — по ГОСТ ISO/TS 11133-1, ГОСТ ISO 11133-2, а также в соответствии с рекомендациями производителя.

7.3.2 Среда Вильсон-Блера (агаризованная) по ГОСТ 7702.2.0.

7.3.3 Среда железосульфитная по ГОСТ 7702.2.0.

7.3.4 Агар голодный по ГОСТ 7702.2.0.

7.3.5 Среда Китт-Тароцци по ГОСТ 7702.2.0, ГОСТ 10444.1.

7.3.6 Растворы и реактивы для окрашивания по Граму и для выявления спор по ГОСТ 7702.0, ГОСТ 10444.1, ГОСТ 30425, ГОСТ ISO 7218.

7.3.7 Агар мясо-пептонный по ГОСТ 7702.2.0.

7.3.8 Агар мясо-пептонный с глюкозой по ГОСТ 7702.2.0.

7.3.9 Агар мясо-пептонный с глюкозой и дрожжевым экстрактом по ГОСТ 7702.2.0.

7.3.10 Среда из сухого питательного агара по ГОСТ 7702.2.0.

7.3.11 Среда из сухого питательного агара с глюкозой по ГОСТ 7702.2.0.

7.3.12 Среда улучшенная клостридиальная (R. C. M.) по ГОСТ 10444.1.

7.3.13 Допускается применение других питательных сред промышленного производства, предназначенных для культивирования сульфитредуцирующих клостридий, с характеристиками не ниже указанных в разделе 7.3.

7.3.14 Правила использования готовых и сухих питательных сред в соответствии с рекомендациями изготовителя.

7.3.15 Методы контроля питательных сред — по ГОСТ ISO/TS 11133-1 и ГОСТ ISO 11133-2.

7.3.16 Сроки и условия хранения питательных сред — по ГОСТ ISO/TS 11133-1.

8 Проведение исследований

8.1 Выявление вегетативных клеток сульфитредуцирующих клостридий включает в себя два этапа:

- определение сульфитредуцирующей способности микроорганизмов (см. 8.2);
- определение принадлежности выделенных микроорганизмов к клостридиям (см. 8.3).

Этапы могут выполняться в любой последовательности (в зависимости от способа проведения исследований).

8.2 При первом способе проведения исследования сначала определяют сульфитредуцирующую способность микроорганизмов. Для этого 1 г (см³) пробы или ее последовательных разведений, приготовленных по ГОСТ 26669, высевают в чашки Петри глубинным способом по ГОСТ 26670, с заливкой одной из агаризованных сред (см. 6.4, 6.6, 7.3.2, 7.3.3, 7.3.13) или в стерильные пробирки с заливкой столбиком высотой 10—12 см. Посевы помещают в анаэробстат и инкубируют в соответствии с рекомендациями изготовителя. При отсутствии анаэробстата на поверхность затвердевшей среды в чашки или пробирки наливают слой не менее 0,2 см голодного агара (см. 7.3.4). После его затвердения посевы инкубируют в обычных условиях в соответствии с рекомендациями изготовителя.

Для создания анаэробных условий вместо анаэробстата допускается использование аппаратуры, позволяющей создавать анаэробноз в отдельных емкостях или пакетах, которые затем могут инкубироваться в термостатах в аэробных условиях. Данное оборудование работает по принципу откачивания/замещения газов (см. 6.2).

При наличии сульфитредуцирующей способности у выделенных культур происходит почернение сульфитной среды.

8.2.1 Определяют принадлежность к клостридиям микроорганизмов из темно-серых или черных колоний, вызвавших почернение среды. Не менее пяти колоний пересевают в пробирки со средой Китт-Тароцци (см. 7.3.5) и инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24—72 ч. При появлении признаков роста микроорганизмов (помутнение среды, выделение газа, появление постороннего запаха) проводят микроскопирование с окрашиванием мазков по Граму и окрашивание для выявления спор по ГОСТ 10444.1 (см. 7.3.6), определение каталазной активности. При этом культуру для мазков и исследований отбирают со дна пробирки.

8.2.2 Определение принадлежности микроорганизмов к клостридиям после определения сульфитредуцирующей способности допускается проводить на готовой улучшенной клостридиальной среде или приготовленной по пункту 5.47 ГОСТ 10444.1, или усиленном агаре для клостридий (см. 6.5).

8.2.3 Для определения каталазной активности на предметном стекле в каплю культуральной жидкости (см. 8.2.1) добавляют каплю перекиси водорода (см. 6.3) массовой концентрации 30 г/дм³. Выделение пузырьков газа свидетельствует о каталазной активности.

Сульфитредуцирующие клостридии каталазы не образуют.

8.2.4 Для сульфитредуцирующих клостридий характерен анаэробный рост.

Для подтверждения анаэробного роста культуру из среды Китт-Тароцци пересевают в стерильные чашки Петри глубинным способом по ГОСТ 26670 с заливкой одной из агаризованных сред по ГОСТ 7702.2.0 (пункты 2.4.1—2.4.5). Затвердевшую среду накрывают стерильным предметным стеклом, чашки переворачивают, посевы инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 24—48 ч. Появление колоний в глубине агара на 2—3 мм от края стекла свидетельствует о принадлежности микроорганизмов к клостридиям.

Допускается вместо подтверждения анаэробного роста проводить определение отсутствия роста в аэробных условиях. При этом культуры высевают в чашки Петри на поверхность агаризованной среды. Посевы инкубируют в аэробных условиях при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18—72 ч.

8.3 При втором способе проведения исследования сначала пробу высевают в среду Китт-Тароцци, инкубируют, проводят микроскопирование, определение каталазы, пересев под стекло (см. 8.2.4). Определив принадлежность микроорганизмов к клостридиям, проводят пересев на железосульфитсодержащие среды (см. 6.4, 6.6, 7.3.2, 7.3.3, 7.3.13). Определяют сульфитредуцирующую способность выделенных клостридий по 8.2.

8.4 Выделение спор сульфитредуцирующих клостридий проводят после прогревания исследуемого материала. Пробирки с исследуемой пробой и (или) ее разведений помещают в водяную баню температурой $(80 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Воду в бане нагревают до достижения внутри пробы температуры $(80 \pm 1)^\circ\text{C}$, которую определяют термометром в контрольной параллельной пробирке со средой без посева. Прогрев проводят в течение (20 ± 1) мин. Затем пробирки с исследуемым материалом охлаждают водопроводной водой. Далее исследование проводят по 8.2.

8.5 Определение количества сульфитредуцирующих клостридий

8.5.1 Определение количества сульфитредуцирующих клостридий проводят методом посева в железосульфитсодержащие агаризованные среды по методу НВЧ.

8.5.2 При определении количества сульфитредуцирующих клостридий методом посева в агаризованные среды по 1 см³ разведений пробы вносят в две чашки Петри. Посевы заливают одной из железосульфитсодержащих агаризованных сред (см. 6.4, 6.6, 7.3.2, 7.3.3, 7.3.13). Проводят инкубирование в анаэробных условиях по 8.2 с последующим подсчетом.

При количественном определении необходимо проводить подтверждение принадлежности к сульфитредуцирующим клостридиям колоний, выросших на железосульфитсодержащих средах.

8.5.3 При определении количества сульфитредуцирующих клостридий по методу НВЧ высевают три последовательных 10-кратных разведения в регенерированную среду Китт-Тароцци. Каждое разведение в трехкратной повторности, соотношение высеваемого материала к питательной среде 1:9. Инкубирование посевов выделенной культуры проводят по 8.2.

9 Обработка результатов

9.1 Результаты оценивают по каждой пробе отдельно.

Если при изучении культуральных, морфологических и биохимических свойств обнаружены сульфитредуцирующие грамположительные, не образующие каталазу, способные расти в анаэробных условиях микроорганизмы, то дают заключение о том, что эти микроорганизмы относятся к сульфитредуцирующим клостридиям.

9.2 Результаты выявления сульфитредуцирующих клостридий в исследуемой пробе записывают: сульфитредуцирующие клостридии обнаружены или не обнаружены, при этом указывается масса продукта в граммах.

9.3 При определении количества сульфитредуцирующих клостридий при посеве на агаризованные среды проводят подсчет по ГОСТ 7702.2.0.

9.4 При определении количества по методу НВЧ подсчет проводят по ГОСТ 30425, ГОСТ ISO 7218.

УДК 663/664:543:006.354

МКС 67.120.20

ОКСТУ 9209

Ключевые слова: мясо птицы, субпродукты, полуфабрикаты, пищевой жир-сырец птицы, выявление и определение количества сульфитредуцирующих клостридий, продукт, проба, колбасные изделия, кулинарные изделия

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.С. Кабакова*
Компьютерная верстка *И.А. Малейкиной*

Сдано в набор 19.11.2015. Подписано в печать 08.02.2016. Формат 60×84¹/₈. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,70. Тираж 52 экз. Зак. 4064.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru