

ГОСУДАРСТВЕННОЕ
САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ НОРМИРОВАНИЕ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СБОРНИК

МЕТОДИЧЕСКИХ ДОКУМЕНТОВ,
НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ПРИМЕНЕНИЯ ФЕДЕРАЛЬНОГО ЗАКОНА
ОТ 12.06.08 №88-ФЗ

«Технический
регламент
на молоко
и молочную
продукцию»

Часть 1

МОСКВА 2009

**Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека**

**Сборник
методических документов, необходимых
для обеспечения применения
Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ
«Технический регламент на молоко
и молочную продукцию»
Часть 1**

ББК 51.23
С23

С23 Сборник методических документов, необходимых для обеспечения применения Федерального закона от 12 июня 2008 г. № 88-ФЗ «Технический регламент на молоко и молочную продукцию».—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—79 с.

ISBN 5—7508—0771—1

В сборник включены методические документы, содержащие правила и методы исследований (испытаний) и измерений, а также правила отбора образцов для проведения исследований (испытаний) и измерений, в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации Г. Г. Онищенко от 08.12.2008 № 67

ББК 51.23

Технический редактор Г. И. Климова

Подписано в печать 18.02.09

Формат 60х88/16

Тираж 200 экз

Печ. л. 5,0
Заказ 11

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2009
© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

**4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИ-
ЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Определение количества
бифидобактерий в
кисломолочных продуктах**

**Методические указания
МУК 4.2.999—00**

1. Методические указания разработаны: Институтом питания РАМН М. Н. Волгарев (руководитель), В. А. Тутельян, И. Б. Куваева, С. А. Шевелева, АО «Партнер» А. С. Зальцман, Н. А. Абрамов, А. О. Мурашова.

2. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации – Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г. Г. Онищенко 8 ноября 2000 г.

3. Введены впервые.

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный
санитарный врач Российской
Федерации – Первый заместитель
Министра здравоохранения
Российской Федерации

Г. Г. Онищенко

8 ноября 2000 г.

Дата введения. 8 февраля 2001 г.

4 2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах

Методические указания МУК 4.2.999—00

1. Общие положения и область применения

1.1. Настоящие методические указания устанавливают методику проведения лабораторных исследований (испытаний) по определению количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах

1.2. Методические указания разработаны в соответствии с федеральным законом «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», Положением о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании, Положением о государственной санитарно-эпидемиологической службе Российской Федерации

1.3. Методические указания предназначены для применения в лабораториях организаций, независимо от форм собственности (далее – организации), осуществляющих производственный контроль качества при разработке, постановке на производство и в процессе промышленного выпуска кисломолочных продуктов, в лабораториях учреждений государственной санитарно-эпидемиологической службы Российской Федерации и санитарно-эпидемиологических служб федеральных органов исполнительной власти, а также в лабораториях других организаций, аккредитованных в установленном порядке на право проведения испытаний указанной продукции.

2. Нормативные ссылки

2.1. Федеральный закон «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» № 52-ФЗ от 30 марта 1999 г.

2.2. Закон РФ «О защите прав потребителей» от 07.02.92.

2.3. «Положение о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании», утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации № 554 от 24 июля 2000 г.

2.4. «Положение о государственной санитарно-эпидемиологической службе Российской Федерации», утвержденное постановлением Правительства Российской Федерации № 554 от 24 июля 2000 г.

2.5. ГОСТ 26668—85 «Продукты пищевые и вкусовые. Порядок отбора проб для микробиологических анализов»

2.6. ГОСТ 26809—86 «Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка к испытаниям»

2.7. ГОСТ 9225—84 «Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа».

3. Методы отбора проб

3.1. Отбор проб – по ГОСТу 26809—86 «Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка к испытанию», ГОСТу 9225—84 «Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа», ГОСТу 26668—85 «Продукты пищевые и вкусовые. Порядок отбора проб для микробиологических анализов».

3.2. Для анализа отбирают 3 единицы потребительской упаковки методом случайной выборки

3.3. Посуду с пробой или пробу в потребительской таре снабжают этикеткой, на которой указывают:

- номер пробы;
- наименование продукта;
- номер и объем партии;
- дату и час отбора пробы;
- должность и подпись лица, отбиравшего пробу,
- обозначение действующей нормативной документации, по которой вырабатывался продукт

3.4. Пробу, отправляемую в лабораторию вне данного предприятия, пломбируют или опечатывают и снабжают этикеткой, на которой указывают:

- номер пробы;
- наименование предприятия-изготовителя,

- наименование продукта;
- номер и объем партии;
- дату и час выработки продукта с момента окончания технологического процесса;
- дату и час отбора пробы;
- должность и подпись лица отбравшего пробу;
- объем необходимых анализов;
- обозначение действующей нормативной документации, по которой вырабатывался продукт;
- должность и подпись должностного лица предприятия, на котором осуществляется контроль продукта

3.5. Микробиологические анализы продукта проводят не более, чем через 4 часа с момента отбора проб

3.6. Пробы должны храниться и транспортироваться до начала исследований при температуре продуктов не выше 6 °С, не допуская подмораживания.

3.7. При оценке количества бифидобактерий специалистами центра госсанэпиднадзора и других организаций, упомянутых в п. 1.3 настоящих методических указаний, отбор проб производится в присутствии должностного лица предприятия, на котором осуществляется контроль продукта.

4. Аппаратура, материалы, лабораторная посуда и реактивы

4.1. Средства измерения

Весы лабораторные общего назначения, 2-го и 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г (или получаемые по импорту)	ГОСТ 24104—80Е
Иономер универсальный ЭВ-74 или потенциометр рН-340	ГОСТ 9245—79
Колбы исполнения 2, 2-го класса точности, номинальной вместимостью 50, 100, 200, 500, 1000 (см ³)	ГОСТ 1770—74Е
Микроскоп биологический МБИ-1, МБИ-2, МБИ-3, МБР-1, МБР-3 (или полученный по импорту с иммерсионной системой)	ГОСТ 8284—78
Пипетки исполнения 5, 1, 2-го классов точности, вместимостью 1 см ³	ГОСТ 29227—91
Термометр (ртутный) с диапазоном измерения от 0 до 100 °С, с ценой деления шкалы 1 °С	ГОСТ 13646—68

Термометр жидкостный (нертутный) с диапазоном измерения от 0 до 100 °С, с ценой деления шкалы 1 °С	ГОСТ 28498—90
Цилиндры исполнения 1, вместимостью 100, 500 (см ³)	ГОСТ 1770—74Е
Часы механические сигнальные	ГОСТ 3145—84
Часы песочные настольные на 1,5 и 10 мин	

4.2. Вспомогательное оборудование

Аппарат универсальный типа АБУ-6С для встряхивания жидкости в колбах и пробирках (шуттель-аппарат)	ТУ 64—1—2451—78
Баня водяная	ТУ 46—22—608—75
Микрокалькулятор типа «Электроника БЭ-0914М», «БЭ-14», «БЭ-21» или др. типов	ГОСТ 27201—87
Ножницы медицинские	ГОСТ 21239—89
Облучатель бактерицидный настенный ОБН-150 или других видов	ТУ 16—535—84
Осветители к микроскопу типа ОИ-7, ОИ-9, ОИ-18, ОИ-19 или других марок	
Пинцет медицинский	ГОСТ 21241—89
Скальпель хирургический, 15 см	ГОСТ 21240—89
Стерилизаторы паровые медицинские или аналогичные	ГОСТ 19569—89
Стерилизаторы медицинские паровые и воздушные	ГОСТ 27437—87
Термостат, позволяющий поддерживать температуру (15—65) °С с отклонением от заданной 1 °С	ТУ 64—1—1382—72
Холодильник бытовой электрический	ГОСТ 16317—87
Шкаф сушильный стерилизационный ШСС-80 П или др. видов, позволяющий поддерживать температуру (160 ± 5) °С	ТУ 64—1—9009—74
Шпатели металлические или фарфоровые 15—20 см	
Штативы металлические, пластмассовые или деревянные	
Электроплитка	ГОСТ 14919—83

4.3. Лабораторная посуда и материалы

Бумага фильтровальная лабораторная	ГОСТ 12026—76
Бутылки стеклянные для химических реактивов	ГОСТ 15844—92
Вата медицинская гигроскопическая	ГОСТ 5556—81
Воронки стеклянные	ГОСТ 25336—82
Карандаш по стеклу	
Кастрюли эмалированные	ГОСТ 24778—81
Марля медицинская	ГОСТ 9412—77
Палочки стеклянные	
Пергамент	ГОСТ 1341—84
Петли бактериологические	
Пробирки типов П1, П2, диаметром 16 мм, высотой 150 мм и диаметром 21 мм, 200 мм	ГОСТ 25336—82
Спиртовки лабораторные стеклянные	ГОСТ 23932—90
Стаканы типа ВН, вместимостью 100 и 200 (см ³)	ГОСТ 19908—90
Стекля предметные для микропрепаратов	ГОСТ 6672—75
Сумки-холодильники	
Чашки биологические (Петри)	ГОСТ 23932—90
Шпагат	ГОСТ 16266—70

4.4. Реактивы, питательные среды

Агар микробиологический	ГОСТ 17206—84
Бромтимоловый синий	ТУ 6—09—20—86—77
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72
Вода питьевая	ГОСТ 51232—98
Глюкоза, ч.	ГОСТ 6038—79
D-лактоза, 1-водная	ТУ 6—09—22—98—79
Калий двухромовокислый (бихромат калия)	ГОСТ 4220—75
Калия гидроксид (гидроокись)	ГОСТ 4328—77
Калий фосфорно-кислый двузамещенный 3-водный	ГОСТ 2493—75
Кислота аскорбиновая	Государственная Фармакопея издание X, стр.43
Кислота молочная пищевая	ГОСТ 490—79
Кислота серная, ч	ГОСТ 4204—77
Кислота соляная, х ч.	ГОСТ 3118—77

Л-цистин соляно-кислый или цистин соляно-кислый, получаемый по импорту	ТУ 6—093252—80
Магний серно-кислый, 7-водный	ГОСТ 4165—78
Метиленовый голубой, индикатор, получаемый по импорту	
Натрия гидрокарбонат	ГОСТ 4201—79
Натрия гидроокись, ч. д. а.	
(натрий гидроксид)	ГОСТ 4328—77
Натрий лимонно-кислый трехзамещенный	ГОСТ 22280—87
Натрий хлористый (натрий хлорид), ч. или х. ч., или ч. д. а.	ГОСТ 4233—77
Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей	ГОСТ 13805—76
Печеночный отвар	
Спирт этиловый ректифицированный технический	ГОСТ 18300—87
Среда кукурузно-лактозная (ГМК-1) для количественного учета бифидобактерий	ТУ 10—02—02—789—176—94
Экстракт кукурузы сгущенный	ТУ 10—04.08.14—88
Эфир для наркоза	рег № 64/228/321

5. Подготовка к анализу

5.1. Подготовка проб к анализу

5.1.1. Перед вскрытием поверхность упаковки продукта обмывает, протирается, чтобы удалить грязь, которая может загрязнить продукт. Затем поверхность упаковки протирается 70 %-ным этиловым спиртом. Вскрытие упаковки производится в асептических условиях.

5.1.2. Продукт в вскрытых упаковках тщательно перемешивается.

5.1.3. Каждую отобранную пробу (упаковку) анализируют отдельно.

5.1.4. Из каждой упаковки после тщательного перемешивания пипеткой отбирается 10 см³ кисломолочного продукта, помещается в стерильную посуду и затем нейтрализуется. Для этого на 10 см³ исследуемого продукта в стерильную посуду добавляется 1,0 см³ стерильного раствора натрия гидрокарбоната с массовой концентрацией 100 г/дм³; содержимое перемешивается с использованием стерильных приспособлений или шуттель-аппарата

5.1.5. К нейтрализованному образцу продукта добавляется физиологический раствор до достижения общего объема пробы 100 см³, после чего смесь опять тщательно перемешивают. Таким образом получают

первое разведение продукта (1×10^{-1}). Пипетку промывают до 10 раз полученной смесью до верхнего уровня имеющихся на ней делений.

5.1.6. Последующие десятикратные разведения продукта готовят, добавляя в 9 см^3 физиологического раствора по 1 см^3 предыдущего разведения продукта. При этом смесь каждый раз тщательно перемешивают. Таким образом, в седьмой пробирке продукт будет разведен в 10^8 раз. Для приготовления каждого разведения берут новую стерильную пипетку.

5.2. Подготовка посуды и материалов

5.2.1. Всю новую посуду, предназначенную для контроля количества бифидобактерий, кипятят в подкисленной воде (раствор соляной кислоты с объемной долей 1—2 %) в течение (15 ± 5) мин и затем ополаскивают дистиллированной водой.

Посуду, бывшую в употреблении, моют 0,5 %-ным щелочным раствором с помощью ершей и щеток и ополаскивают водопроводной водой. Сильно загрязненную посуду со следами жира, красок и иммерсионного масла опускают на 2 часа в хромовую смесь, подогретую до 40—45 °С, затем тщательно промывают проточной водопроводной водой.

Вымытую посуду не вытирают, а сушат при комнатной температуре или горячим воздухом

Предметные стекла после мойки и ополаскивания вытирают чистой салфеткой или помещают в склянку с притертой пробкой в смесь этилового спирта и наркозного эфира в соотношении 1 : 1

5.2.2. Лабораторную посуду перед использованием обязательно стерилизуют. Стерилизацию осуществляют сухим жаром в сушильном шкафу при (160 ± 5) °С в течение 2 ч или паром в стерилизаторе при 1 атм (121 ± 1) °С в течение (30 ± 1) мин с последующим подсушиванием в сушильном шкафу. Перевод давления, показываемого манометром стерилизатора, в значение температуры проводится следующим образом:

0,5 атм – 112 °С

0,7 атм – 116 °С

0,8 атм – 118 °С

1,0 атм – 121 °С

2,0 атм – 134 °С

Пробирки, флаконы, бутылки, колбы закрывают ватно-марлевыми пробками. Поверх пробки (кроме пробирок) надевают бумажный колпачок, который обвязывают вокруг горлышка ниткой или закрепляют резиновым колечком

Каучуковые, корковые и стеклянные пробки стерилизуют отдельно завернутыми в бумагу

Стерильную посуду хранят в плотно закрывающихся шкафах или ящиках с крышками. Срок хранения стерильной посуды — не более 30 суток при ненарушенной завертке или невскрытых пеналах.

6. Приготовление питательных сред и реактивов

6.1. *Изотонический (физиологический) 0,85 %-ный раствор хлористого натрия* Для приготовления изотонического раствора активной кислотностью ($7,0 \pm 0,1$) ед рН используют дистиллированную воду, рН которой проверяют индикатором бромтимоловый синий. При его добавлении цвет воды должен быть бутылочно-зеленым. В иных случаях воду не используют.

В $1,0 \text{ дм}^3$ воды растворяют 8,5 г натрия хлорида, разливают раствор в чистые пробирки диаметром 18—20 мм по $10,0 \text{ см}^3$, а в колбы — по $93,0 \text{ см}^3$ и стерилизуют в течение (15 ± 1) мин при $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$.

6.2. *Раствор натрия гидрокарбоната для нейтрализации*

10 г натрия гидрокарбоната помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3 , растворяют дистиллированной водой, доводят объем раствора до метки. Раствор разливают в пробирки и стерилизуют при $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течении (30 ± 1) мин.

6.3. *Приготовление реактивов из метиленового голубого*

Приготовление основного спиртового раствора метиленового голубого 10 г метиленового голубого смешивают со 100 см^3 96 %-ного этилового спирта. Раствор ставят в термостат при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ на (24 ± 1) ч, а затем фильтруют в термостате при той же температуре.

Срок хранения основного раствора метиленового голубого в термостате при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ — не более 3-х месяцев при условии герметичной укупорки

Приготовление рабочего раствора метиленового голубого

Основной раствор помещают в водяную баню при температуре $(45 \pm 1)^\circ\text{C}$ на (8 ± 2) мин, перемешивают до полного растворения кристаллов. Затем быстро охлаждают до температуры $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ и $5,0 \text{ см}^3$ этого раствора прибавляют к $195,0 \text{ см}^3$ дистиллированной кипяченой воды. Смесь хорошо перемешивают.

Срок хранения рабочего раствора метиленового голубого — не более 7 суток при температуре от 8 до 10°C .

Приготовление раствора метиленового голубого для окраски препаратов

К $30,0 \text{ см}^3$ основного спиртового раствора метиленового голубого прибавляют $100,0 \text{ см}^3$ дистиллированной воды и $1,0 \text{ см}^3$ раствора калия гидроксида с массовой концентрацией 10 г/дм^3 .

6.4. Модифицированная печеночная среда Блаурукка

$0,5 \text{ кг}$ свежей говяжьей печени очистить от пленок и протоков, измельчить, залить 1 дм^3 дистиллированной воды и кипятить в течение $1,5\text{—}2 \text{ ч}$. Отвар профильтровать, довести до 1 дм^3 . Добавить на 1 дм^3 : натрия хлорида – $5,0 \text{ г}$, пептона – $10,0 \text{ г}$; установить активную кислотность $(8,15 \pm 0,5)$ ед рН с помощью 10% -ного раствора натрия гидроксида. Кипятить 10 мин . Стерилизовать при $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ (15 ± 1) мин и при $(112 \pm 1)^\circ\text{C}$ (30 ± 1) мин. На следующий день печеночный бульон декантировать, долить дистиллированной водой до 1 дм^3 . Внести на 1 дм^3 бульона: глюкозу – $5,0 \text{ г}$, агар-агар – $0,8 \text{ г}$, цистеин – $0,3 \text{ г}$. Кипятить 10 мин , довести до $(7,7 \pm 0,1)$ ед рН. Разлить в пробирки по 10 см^3 и стерилизовать при $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин и при $(112 \pm 1)^\circ\text{C}$ (20 ± 1) мин.

Среду проверяют на стерильность путем выдержки при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 2-х суток.

Хранят среду не более одного месяца при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ и не более 2-х месяцев при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Ростовые качества каждой серии среды Блаурукка контролируют высевом лиофилизированной биомассы бифидобактерий.

6.5 Кукурузно-лактозная среда (плотная)

В небольшом объеме дистиллированной воды расплавляют агар в количестве $2,5 \text{ г}$ из расчета на 1 дм^3 готавливаемой среды. К остальному количеству дистиллированной воды добавляют 10 г пептона, 40 см^3 водного раствора кукурузного экстракта, разбавленного $1:6,6$ г натрия лимонно-кислого трехзамещенного, $0,12 \text{ г}$ магния сернокислого, 2 г калия фосфорно-кислого двузамещенного. Смесь нагревают до температуры $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$, после чего соединяют с расплавленным агаром, добавляют 10 г лактозы и $0,15 \text{ г}$ цистеина соляно-кислого или $0,5 \text{ г}$ аскорбиновой кислоты. Цистеин предварительно растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, в которой устанавливают $(8,45 \pm 0,5)$ ед рН с помощью 10% -ного раствора натрия гидроксида и нагревают на водяной бане до полного растворения. Всю смесь доливают горячей дистиллированной водой до заданного объема (1 дм^3) и устанавливают $(7,05 \pm 0,5)$ ед рН с помощью 40% -ного раствора натрия гидроксида.

Среду разливают в пробирки высоким столбиком по 10 см^3 и стерилизуют при $(112 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (30 ± 1) мин

Кукурузно-лактозную среду для выращивания бактерий готовят из сухого концентрата (ГМК-1) следующим образом: 50 г концентрата вносят в 1000 см³ дистиллированной воды, нагревают до полного растворения, фильтруют, устанавливают — $(7,2 \pm 0,2)$ ед. рН, разливают по 10 или 20 см³ и стерилизуют при $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (10 ± 2) мин.

7. Определение количества бифидобактерий

7.1. Сущность методики

Методика основана на способности бифидобактерий расти в питательных средах, разлитых высоким столбиком в пробирках, при температуре $(38 \pm 1)^\circ\text{C}$ и образовывать в них через 24—72 часа колонии с типичными для бифидобактерий морфологическими характеристиками.

7.2. Аппаратура, материалы и реактивы — согласно п.4

7.3. Подготовка к анализу

Подготовка проб и приготовление разведений проводят, как указано в п.5.1.

Подготовку посуды и материалов производят, как указано в п. 5.2.

7.4. Проведение исследований

7.4.1. Готовят 2 ряда питательных сред, каждый по 5 пробирок, содержащих среду Блаурокка или другую среду в количестве 10 см³ для высева в них соответствующих разведений исследуемого продукта (см. п. 8.3).

Перед употреблением среду следует разогреть на кипящей водяной бане в течение 15 мин для снижения в ней содержания растворенного кислорода. При использовании плотных питательных сред перед проведением анализа их следует разогреть в кипящей водяной бане до полного расплавления агара. В момент использования температура питательных сред должна составлять $(38 \pm 1)^\circ\text{C}$.

7.4.2. Внесение посевного материала в среду осуществляют, начиная с последнего разведения, внося в последнюю пробирку каждого из 2 рядов среды (п 7.4.1) по 1 см³ разведения продукта 1×10^{-8} (п. 5.1.6), затем таким же образом, вносят по 1 см³ разведения продукта 1×10^{-7} , 1×10^{-6} , 1×10^{-5} и 1×10^{-4} . Так, первая пробирка каждого ряда будет содержать разведение продукта 1×10^{-4} , а последняя 1×10^{-8} . При внесении разведения продукта в среду производят тщательное энергичное перемешивание (например, круговыми движениями руки или с помощью шуттель-аппарата, имитирующими центрифугирование). Для каждого посева берут новую стерильную пипетку.

7.5. Инкубация

Пробирки с посевами образцов продукта выдерживают в термостате с температурой $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (72 ± 1) ч, просматривая посевы через 24—48 часов. Допускается предварительный учет через (48 ± 1) ч с последующим окончательным учетом через (72 ± 1) ч.

8. Учет и обработка результатов

8.1. По окончании инкубирования учитывают последние пробирки, в которых выросли колонии типичные для бифидобактерий – в виде «гвоздиков», «вытянутых веретен», иногда в виде «полос», расположенных вдоль пробирки (в плотных средах – в виде крупных «дисков» или «гречичного зерна»), и записывают разведение пробирки. Выросшие колонии подсчитывают

8.2. Подтверждение наличия бифидобактерий методом микроскопирования.

Из типичных колоний последнего разведения и со дна пробирки последующего разведения (без видимого роста типичных колоний бифидобактерий) готовят мазки, окрашенные по Граму или метиленовым голубым. При приготовлении препарата на чистое предметное стекло наносят петлей небольшую каплю исследуемого материала и распределяют на площади около 1 см^3 . Препарат высушивают при комнатной температуре, фиксируют на пламени горелки и красят метиленовым голубым или окрашивают по Граму. Бифидобактерии окрашиваются по Граму положительно, но в мазках имеют вид тонких мелкозернистых, слегка изогнутых палочек с бифуркацией на концах или без нее; располагаются группами, в виде римских пятерок (V), скоплений в виде китайских иероглифов, могут образовывать короткие цепочки.

Поскольку анализируемые продукты, обогащенные бифидобактериями, являются кисломолочными, в мазках, в зависимости от вида продукта, присутствуют микроорганизмы молочных заквасок (молочнокислые стрептококки и палочки), а также могут присутствовать единичные клетки дрожжей

8.3. Вычисление содержания живых бифидобактерий в $1,0\text{ см}^3$ продукта проводят по формуле

$$X = a \times 10^n, \text{ где.}$$

X – количество живых бифидобактерий в $1,0\text{ см}^3$ продукта;

a – среднее количество колоний в последнем, засеянном в 2-х рядах разведении продукта;

10 – коэффициент десятичного разведения;

n – показатель последнего разведения продукта, в котором отмечен рост бифидобактерий.

При обнаружении бифидобактерий микроскопией мазков придонного материала из того разведения, в котором не отмечено видимого роста колоний, учитывают степень этого разведения.

Примечание. Для удобства подсчетов полезно пользоваться нижеприведенной схемой, соответствующей п.п. 7.4.1 и 7.4.2.

Номера пробирки со средой (в каждом ряду)	Разведение продукта
№ 1	10^{-4}
№ 2	10^{-5}
№ 3	10^{-6}
№ 4	10^{-7}
№ 5	10^{-8}

Пример расчета

При исследовании первого образца в пробирках № 3 выросло в первом ряду 5 типичных колоний, а во втором ряду – 3 колонии; отсюда результат по первому образцу будет записан следующим образом: «Количество бифидобактерий составляет 4×10^6 КОЕ/см³ продукта».

Если в пробирках № 3 в обоих рядах не отмечено формирования типичных колоний, а при микроскопировании мазков из придонного материала выявлены бифидобактерии, то результат записывается: «Содержание бифидобактерий составляет 10^6 КОЕ/см³» (при условии, что в предыдущих пробирках был отмечен рост типичных колоний).

Так же проводят учет результатов по второму и третьему образцам

8.4. За окончательный результат при оценке качества продукта принимают среднеарифметическое значение результатов, полученных из трех отобранных образцов (потребительских упаковок).

9. Оценка результатов контроля

9.1. При обнаружении бифидобактерий в количестве, соответствующем норме, указанной в НД на данный вид продукта, дают заключение о соответствии продукта требованиям НД по данному показателю.

9.2. При обнаружении более низкого содержания бифидобактерий в продукте анализ следует повторить, при этом исследованию подвергают удвоенное количество проб.

9.3. При повторном обнаружении бифидобактерий в количествах ниже установленного норматива, дают рекомендации по проверке всей технологической цепочки изготовления продукта.

Содержание

Методика выполнения измерений массовой доли свинца и кадмия в пищевых продуктах и продовольственном сырье методом электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии МУК 4.1. 986—00.....	3
Методы выделения и идентификации энтерогеморрагической кишечной палочки E. coli O157 : H7: МУК 4.2.992 — 00	33
Определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах: МУК 4.2.999—00	55
Определение массовой концентрации аверсектина С в органах и тканях животных, плазме и молоке методом флуоресцентной высокоэффективной жидкостной хроматографии МУК 4.1.1012—01.....	69