

---

---

**Бумага, картон и целлюлоза.  
Микробиологическое исследование.**

Часть 1.

**Подсчет общего количества бактерий,  
дрожжей и плесени на основе  
дезинтеграции**

*Pulp, paper and board – Microbiological examination –*

*Part 1: Total count of bacteria, yeast and mould based on disintegration*

ISO 8784-1:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R  
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочный номер  
ISO 8784-1:2005(R)

**Отказ от ответственности при работе в PDF**

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или смотреть на экране, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на интегрированные шрифты и они не будут установлены на компьютере, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe - торговый знак фирмы Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованные для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General Info файла; параметры создания PDF были оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами-членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 8784-1:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005>



**ДОКУМЕНТ ОХРАНЯЕТСЯ АВТОРСКИМ ПРАВОМ**

© ISO 2005

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже, или в комитет-член ISO в стране запрашивающей стороны.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Опубликовано в Швейцарии

## Содержание

Страница

Предисловие .....	iv
Введение .....	v
1 Область применения .....	1
2 Нормативные ссылки .....	1
3 Термины и определения .....	1
4 Принцип .....	1
5 Субстраты и разбавители .....	2
6 Оборудование .....	3
7 Отбор проб .....	3
8 Приготовление материала для испытания .....	4
8.1 Определение содержания сухого вещества .....	4
8.2 Взвешивание .....	4
9 Методика .....	4
9.1 Условия .....	4
9.2 Дигерирование .....	4
9.3 Культивирование .....	5
9.4 Инкубация .....	5
10 Определение количества колоний .....	5
11 Вычисление и регистрация .....	5
11.1 Вычисление .....	5
11.2 Отсутствие колоний .....	6
11.3 Обработка результатов .....	6
12 Прецизионность .....	6
13 Протокол испытания .....	6
Приложение А (информативное) Жидкость для разбавления .....	7
Приложение В (информативное) Модель разбавления .....	8
Библиография .....	9

## Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. Что касается стандартизации в области электротехники, ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC).

Проекты международных стандартов разрабатываются по правилам, указанным в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Главная задача технических комитетов состоит в разработке международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Обращается внимание на возможность патентования некоторых элементов данного международного стандарта. ISO не несет ответственности за идентификацию какого-либо или всех таких патентных прав.

Международный стандарт ISO 8784-1 был подготовлен Техническим комитетом ISO/ТК 6, *Бумага, картон и целлюлоза*, Подкомитетом ПК 2, *Методы испытания и требования к качеству продукции*.

Данное второе издание аннулирует и заменяет первое издание (ISO 8784-1:1987), которое подверглось техническому пересмотру. Первое издание распространялось только на бумагу и картон, и только бактериальные колонии были определены. Второе издание распространяется на целлюлозу (сухую товарную целлюлозу), и также дрожжи и плесень были определены. Условия инкубации были изменены во втором издании (37 °С, 48 ч для бактерий, 30 °С, 5 дней для дрожжей и плесени) по сравнению с условиями, установленными в первом издании (30 °С, 72 ч).

ISO 8784 состоит из следующих частей под общим названием *Целлюлоза, бумага и картон. Микробиологическое исследование*:

- *Часть 1. Подсчет общего количества бактерий, дрожжей и плесени на основе дезинтеграции*
- *Часть 2. Поверхностный метод для перечисления микробов на картоне*

## Введение

Настоящая часть ISO 8784, которая распространяется на микробиологическое исследование сухой товарной целлюлозы, бумаги и картона, в расширительном толковании основана на ISO 4883<sup>[1]</sup>, хотя условия могут являться неидентичными; вместе с тем, она приводит специфическую амплификацию, где это необходимо. Данная часть предназначена для оценки колониобразующих единиц (colony-forming units) (CFU) без каких-либо попыток изолирования видов, имеющих особое значение для здравоохранения.

По причине точного следования техникам асептических методик воспроизводимые результаты могут быть получены только квалифицированными микробиологами. Кроме того, в результате привлечения к работе недостаточно подготовленного персонала может возникнуть опасность для здоровья людей.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

[ISO 8784-1:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005>



# Бумага картон и целлюлоза. Микробиологическое исследование.

## Часть 1.

### Подсчет общего количества бактерий, дрожжей и плесени на основе дезинтеграции

#### 1 Область применения

В настоящей части международного стандарта ISO 8784 указан метод определения общего числа колониеобразующих единиц бактерий, дрожжей и плесени в сухой товарной целлюлозе, бумаге и картоне после дезинтеграции. Принцип определения связан со специфической средой.

Настоящая часть ISO 8784 распространяется на большинство сортов бумаги и картона, в особенности на те сорта, которые предназначены для вступления в контакт с пищевыми продуктами.

#### 2 Нормативные ссылки

Следующие нормативные документы являются обязательными для применения с настоящим международным стандартом. Для жестких ссылок применяются только указанное по тексту издание. Для плавающих ссылок необходимо использовать самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

*ISO 186, Бумага и картон. Отбор образцов для определения среднего качества*

*ISO 287, Бумага и картон. Определение содержания влаги. Метод высушивания в печи*

*ISO 638, Целлюлоза. Определение содержания сухого вещества*

*ISO 7213, Целлюлоза. Отбор образцов для испытаний*

#### 3 Термины и определения

Исходя из назначения данного документа, применимы следующие термины и определения:

##### 3.1

**микробиологический подсчет**

**microbiological count**

число колониеобразующих единиц (CFU), образовавшихся в стандартной культуральной среде после инкубации при заданных условиях

#### 4 Принцип

Приготовление культуральных планшетов из заданных разбавлений суспензии пробы на заданной культуральной среде. Для определения бактерий, аэробной инкубации культуральных планшетов в течение 48 ч при температуре 37 °С. Для определения дрожжей и плесени аэробная инкубация

культуральных планшетов в течение 5 дней при температуре 37 °С. В конце инкубационного периода определение количества CFU в чашках.

На основании подсчитанных колоний определяется число CFU на грамм пробы.

## 5 Субстраты и разбавители

Все субстраты и разбавители должны быть соответствующим образом стерилизованы. При приготовлении питательной среды следует убедиться, что ингредиенты оказались полностью растворены перед тем, как распределять их по соответствующим емкостям и стерилизацией.

### 5.1 Питательный субстрат

#### 5.1.1 Триптоноглюкозный агар (TGEA)

Используют TGEA для бактериологического подсчета. Химический состав на литр:

Мясной экстракт	3,0 г
Триптон	5,0 г
Декстроза (d-глюкоза)	1,0 г
Агар	15,0 г
pH готовой среды	7,0

Если TGEA нет в наличии, можно взять агар для подсчета микроорганизмов в чашках (Plate Count Agar) (PCA). Применение PCA должно быть указано в протоколе испытания. Химический состав среды из PCA является таким же, как и TGEA, за исключением того, что мясной экстракт (3 г) замещен дрожжевым экстрактом 2,5 г.

#### 5.1.2 Картофельный агар с декстрозой (PDA)

Используют PDA для бактериологического подсчета. Химический состав на литр:

Картофель, настой из	200 г
Декстроза	20 г
Агар	15 г
pH готовой среды	5,6

Подкисление PDA: Подкисляют среду каплями 10 % стерильной виннокаменной кислоты для получения pH  $3,5 \pm 0,1$ . После добавления виннокаменной кислоты в среду смешивают без образования пены и приготавливают, как обычно, разлитые чашки. Не нагревают среду после добавления кислоты, так как нагревание в кислотном состоянии приведен к гидролизу агара и уничтожит его отверждающие свойства.

При приготовлении дрожжей и плесени часто возникает необходимость в подавлении бактериального роста путем подкисления среды PDA, и в этой связи рекомендуется, чтобы после стерилизации реакция среды была доведена до pH  $(3,5 \pm 0,1)$ . Рост бактерий альтернативно может быть заторможен путем ввода бактерицида. Применение бактерицида должно быть отражено в протоколе испытания.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Триптоноглюкозный агар (TGEA) и картофельный агар с декстрозой (PDA) выпускаются серийно в обезвоженной форме. При использовании обезвоженной среды следуют инструкциям, указанным на упаковке.

**5.2 Стандартный разбавитель:** раствор Рингера (см. А.1) является предпочтительным, хотя могут



использоваться другие изотонические растворы. Таблетки Рингера имеют промышленное назначение.

Для стимуляции выделения клеток из волокна рекомендуется добавлять 20 µl Твин 80 (см. А.2) на литр раствора Рингера перед стерилизацией.

## 6 Оборудование

Все оборудование, вступающее в прямой контакт с пробой или разбавителями, должно быть стерилизовано. Используют обычное микробиологическое лабораторное оборудование и нижеследующее.

**6.1 Оборудование для подсчета колоний**, оснащенное линзами с увеличением не менее 1,5-кратного. Может возникнуть необходимость в использовании дополнительных линз вместе с автоматическим счетчиком колоний с целью 8-10-кратного увеличения для подсчета точечных бактериальных колониеобразующих единиц.

**6.2 Дезинтеграторы**, с металлическими или стеклянными сосудами емкостью приблизительно 500 мл, оснащенные высокоскоростным лопастным колесом в донной части и снабженные пробкой или крышкой; или другой соответствующий дезинтегратор, который обеспечивает размельчение пробы. Перед стерилизацией над каждым дезинтегратором помещают колпак из алюминиевой фольги.

**6.3 Инкубатор**, способный поддерживать температуру  $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$  и  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .

**6.4 Чашки Петри**, имеющие диаметр 150 мм.

**6.5 Пипетки**, соответствующего широкогорлового типа.

**6.6 Алюминиевая фольга**, конверты или самозакрывающиеся пластиковые мешки, для отбора проб. Пробы могут быть упакованы как таковые в алюминиевую фольгу, готовые для использования стерильные конверты различных размеров или самозакрывающиеся пластиковые мешки, которые имеются в широком доступе.

ПРИМЕЧАНИЕ Могут использоваться чашки Петри диаметром 90 мм. Однако размер 150 мм обеспечивают более легкое выделение колоний из материала.

## 7 Отбор проб

Убеждаются, что методика отбора проб осуществляется асептическим образом.

Если проба должна быть репрезентативной для партии бумаги или картона, отбор должен проводиться в соответствии с ISO 186<sup>[1]</sup>. Если проба должна быть репрезентативной для партии целлюлозы, отбор должно проводиться в соответствии с ISO 7213. Из каждого элемента сухой товарной целлюлозы, подлежащего выборке, бракуют несколько верхних слоев каждой упаковки для устранения поверхностного загрязнения. Из каждого элемента бумаги или картона, подлежащего выборке, срезают несколько верхних слоев и бракуют их для устранения поверхностного загрязнения. Используют стерильный нож и вырезают стопку листов (см. третий абзац данного раздела). Бракуют верхний лист.

Во всех других случаях отбирают достаточное количество элементов, таким образом чтобы испытуемый материал оказался репрезентативным для бумаги или картона или для сухой товарной целлюлозы, подлежащей испытанию. При реализации всех методик отбора и исследования убеждаются, что отобранный испытуемый материал является типичным для полученной пробы.

В идеальном случае выборка должна состоять, по крайней мере, из пяти листов, и каждый из листов из сухой товарной целлюлозы, бумаги или картона должен иметь минимальный размер 200 мм × 250 мм (по крайней мере, 3 листа для испытания и 2 защитных листа).

После отбора неэкспонированный испытуемый материал заворачивают в соответствующий материал (6.6).

## 8 Приготовление материала для испытания

Предпочтительно данную методику осуществлять в стерильном вытяжном шкафу. Взвешивание проводится вне вытяжного шкафа. Разворачивают испытуемый материал в асептических условиях и удаляют защитные листы, не прикасаясь к листам, предназначенным для испытания.

### 8.1 Определение содержания сухого вещества

Если полученный результат должен быть приведен на основании сухой массы, определяют содержание сухого вещества в испытуемом материале,  $x$ , в соответствии с ISO 287 или ISO 628 соответственно.

Если полученный результат должен быть приведен на основании массы «в состоянии поставки», определение содержания сухого вещества должно быть опущено (см. также Примечание 1 к 11.1).

### 8.2 Взвешивание

Помещают закрытую чашку Петри (6.4) на весы и определяют ее собственную массу.

С помощью стерильного пинцета удерживают край испытуемых листов одной рукой, обрабатывают и бракуют кромки стерильными ножницами. Вводят достаточное количество испытуемого материала (массой приблизительно от 2 г до 3 г) в чашку Петри для приготовления волоконной суспензии, имеющей концентрацию 1 % (см. 9.2).

Во взвешенном материале (8.2) делают ряд надрезов, отстоящих один от другого на расстоянии от 5 мм до 10 мм. Удерживают материал, используя пинцет, и вырезают квадраты прямо в сосуде дезинтегратора (6.2) путем проведения ряда надрезов, перпендикулярно тем, которые были получены ранее.

## 9 Методика

ISO 8784-1:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/99abc9af-7d0a-479e-8b02-4a1261c4015d/iso-8784-1-2005>

### 9.1 Условия

Всю методику проводят при асептических условиях.

### 9.2 Дигерирование

Охлаждают стерильный раствор Рингера (5.2) для исключения повышения температуры выше 45 °С в сосуде дезинтегратора (если многочисленные испытания проводят на одном и том же дезинтеграторе в течение непродолжительного периода времени).

Используют отдельный стерильный сосуд дезинтегратора (6.2) для каждого испытуемого материала и дезинтегрируют взвешенный материал (8.2) в объеме охлажденного стерильного раствора Рингера, отрегулированного на взвешенный материал, для получения 1 % волоконной суспензии (для 2,0 г используют 200 мл, для 3,0 г используют 300 мл). Дезинтегрируют до тех пор, пока в суспензии не исчезнут комки волокна.

При добавлении взвешенного материала (8.2) или стандартного разбавителя (5.2) в емкость дезинтегратора не касаются руками металлической пробки, а приподнимают ее, удерживая алюминиевый сосуд, помещенный над ней, перед стерилизацией. Приподнимают как колпак, так и металлическую пробку на высоту, обеспечивающую доступ к сосуду. Алюминиевый колпак на пробке не удаляют, чтобы исключить возможное загрязнение через любое отверстие в пробке или вокруг верхней части сосуда.

Если исследуют несколько испытуемых материалов, между каждым испытуемым материалом дезинтегратор стерилизуют.

**ПРИМЕЧАНИЕ** Если трудно (с помощью дезинтегратора) получить волоконную суспензию, свободную от комков волокна, можно использовать гомогенизатор для получения мелкоизмельченных смесей и суспензий. О