

中华人民共和国国家标准

GB 4789.2—2016

食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

2016-12-23 发布 2017-06-23 实施

前 言

本标准代替 GB 4789.2-2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》。





食品安全国家标准

食品微生物学检验 菌落总数测定

1 范围

本标准规定了食品中菌落总数(Aerobic plate count)的测定方法。 本标准适用于食品中菌落总数的测定。

2 术语和定义

菌落总数 aerobic plate count

食品检样经过处理,在一定条件下(如培养基、培养温度和培养时间等)培养后,所得每 g(mL)检样中形成的微生物菌落总数。

3 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下:

- 3.1 恒温培养箱:36 ℃±1 ℃,30 ℃±1 ℃。
- 3.2 冰箱:2℃~5℃。
- 3.3 恒温水浴箱:46 ℃±1 ℃。
- 3.4 天平:感量为 0.1 g。
- 3.5 均质器。
- 3.6 振荡器。
- 3.7 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、10 mL(具 0.1 mL 刻度)或微量移液器及吸头。
- 3.8 无菌锥形瓶:容量 250 mL、500 mL。
- 3.9 无菌培养皿:直径 90 mm。
- 3.10 pH 计或 pH 比色管或精密 pH 试纸。
- 3.11 放大镜或/和菌落计数器。

4 培养基和试剂

- 4.1 平板计数琼脂培养基:见 A.1。
- 4.2 磷酸盐缓冲液:见 A.2。
- 4.3 无菌生理盐水:见 A.3。

5 检验程序

菌落总数的检验程序见图 1。

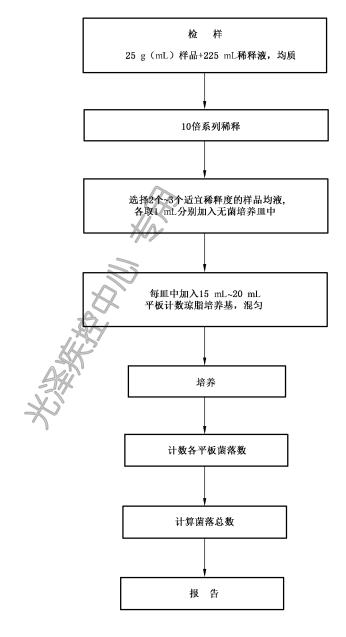


图 1 菌落总数的检验程序

6 操作步骤

6.1 样品的稀释

- **6.1.1** 固体和半固体样品:称取 25 g 样品置盛有 225 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌均质杯内,8 000 r/min~10 000 r/min 均质 1 min~2 min,或放入盛有 225 mL 稀释液的无菌均质袋中,用拍击式均质器拍打 1 min~2 min,制成 1 : 10 的样品匀液。
- 6.1.2 液体样品:以无菌吸管吸取 25 mL 样品置盛有 225 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌锥形瓶 (瓶内预置适当数量的无菌玻璃珠)中,充分混匀,制成 1:10 的样品匀液。
- 6.1.3 用 1 mL 无菌吸管或微量移液器吸取 1:10 样品匀液 1 mL,沿管壁缓慢注于盛有 9 mL 稀释液的无菌试管中(注意吸管或吸头尖端不要触及稀释液面),振摇试管或换用 1 支无菌吸管反复吹打使其

混合均匀,制成1:100的样品匀液。

- 6.1.4 按 6.1.3 操作,制备 10 倍系列稀释样品匀液。每递增稀释一次,换用 1 次 1 mL 无菌吸管或吸头。
- 6.1.5 根据对样品污染状况的估计,选择 2 个~3 个适宜稀释度的样品匀液(液体样品可包括原液),在进行 10 倍递增稀释时,吸取 1 mL 样品匀液于无菌平皿内,每个稀释度做两个平皿。同时,分别吸取 1 mL空白稀释液加入两个无菌平皿内作空白对照。
- **6.1.6** 及时将 15 mL~20 mL 冷却至 46 ℃的平板计数琼脂培养基(可放置于 46 ℃±1 ℃恒温水浴箱中保温)倾注平皿,并转动平皿使其混合均匀。

6.2 培养

- **6.2.1** 待琼脂凝固后,将平板翻转,36 ℃±1 培养 48 h±2 h。水产品 30 ℃±1 ℃培养 72 h±3 h。
- 6.2.2 如果样品中可能含有在琼脂培养基表面弥漫生长的菌落时,可在凝固后的琼脂表面覆盖一薄层琼脂培养基(约 4 mL),凝固后翻转平板,按 6.2.1 条件进行培养。

6.3 菌落计数

- 6.3.1 可用肉眼观察,必要时用放大镜或菌落计数器,记录稀释倍数和相应的菌落数量。菌落计数以菌落形成单位(colony-forming units,CFU)表示。
- 6.3.2 选取菌落数在 30 CFU~300 CFU 之间、无蔓延菌落生长的平板计数菌落总数。低于 30 CFU 的平板记录具体菌落数,大于 300 CFU 的可记录为多不可计。每个稀释度的菌落数应采用两个平板的平均数。
- 6.3.3 其中一个平板有较大片状菌落生长时,则不宜采用,而应以无片状菌落生长的平板作为该稀释度的菌落数;若片状菌落不到平板的一半,而其余一半中菌落分布又很均匀,即可计算半个平板后乘以2,代表一个平板菌落数。
- 6.3.4 当平板上出现菌落间无明显界线的链状生长时,则将每条单链作为一个菌落计数。

7 结果与报告

7.1 菌落总数的计算方法

- 7.1.1 若只有一个稀释度平板上的菌落数在适宜计数范围内,计算两个平板菌落数的平均值,再将平均值乘以相应稀释倍数,作为每 g(mL)样品中菌落总数结果。
- 7.1.2 若有两个连续稀释度的平板菌落数在适宜计数范围内时,按式(1)计算:

式中:

N ——样品中菌落数;

 ΣC ——平板(含适宜范围菌落数的平板)菌落数之和;

 n_1 ——第一稀释度(低稀释倍数)平板个数;

n。——第二稀释度(高稀释倍数)平板个数;

d ——稀释因子(第一稀释度)。

示例:

| 稀释度 | 1:100(第一稀释度) | 1:1000(第二稀释度) |
|----------|--------------|---------------|
| 菌落数(CFU) | 232,244 | 33,35 |

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2)d} = \frac{232 + 244 + 33 + 35}{[2 + (0.1 \times 2)] \times 10^{-2}} = \frac{544}{0.022} = 24727$$

上述数据按 7.2.2 数字修约后,表示为 25 000 或 2.5×10⁴。

- 7.1.3 若所有稀释度的平板上菌落数均大于 300 CFU,则对稀释度最高的平板进行计数,其他平板可记录为多不可计,结果按平均菌落数乘以最高稀释倍数计算。
- 7.1.4 若所有稀释度的平板菌落数均小于 30 CFU,则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数 计算。
- 7.1.5 若所有稀释度(包括液体样品原液)平板均无菌落生长,则以小于1乘以最低稀释倍数计算。
- 7.1.6 若所有稀释度的平板菌落数均不在 30 CFU~300 CFU 之间,其中一部分小于 30 CFU 或大于 300 CFU 时,则以最接近 30 CFU 或 300 CFU 的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

7.2 菌落总数的报告

- 7.2.1 菌落数小于 100 CFU 时,按"四舍五入"原则修约,以整数报告。
- 7.2.2 菌落数大于或等于 100 CFU 时,第 3 位数字采用"四舍五人"原则修约后,取前 2 位数字,后面用 0 代替位数;也可用 10 的指数形式来表示,按"四舍五人"原则修约后,采用两位有效数字。
- 7.2.3 若所有平板上为蔓延菌落而无法计数,则报告菌落蔓延。
- 7.2.4 若空白对照上有菌落生长,则此次检测结果无效。
- 7.2.5 称重取样以 CFU/g 为单位报告,体积取样以 CFU/mL 为单位报告。



附 录 A 培养基和试剂

A.1 平板计数琼脂(plate count agar, PCA)培养基

A.1.1 成分

| 胰蛋白胨 | 5.0 g |
|------|----------|
| 酵母浸膏 | 2.5 g |
| 葡萄糖 | 1.0 g |
| 琼 脂 | 15.0 g |
| 蒸馏水 | 1 000 mL |

A.1.2 制法

将上述成分加于蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH 至 7.0 ± 0.2 分装试管或锥形瓶,121 $^{\circ}$ 高压灭菌 15 min。

A.2 磷酸盐缓冲液

A.2.1 成分

磷酸二氢钾(KH₂PO₄)

蒸馏水

34.0 g

A.2.2 制法

贮存液:称取 34.0 g 的磷酸二氢钾溶于 500~mL 蒸馏水中,用大约 175~mL 的 1~mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.2,用蒸馏水稀释至 1~000~mL 后贮存于冰箱。

稀释液:取贮存液 1.25 mL,用蒸馏水稀释至 1 000 mL,分装于适宜容器中,121 ℃高压灭菌 15 min。

A.3 无菌生理盐水

A.3.1 成分

氯化钠8.5 g蒸馏水1 000 mL

A.3.2 制法

称取 8.5 g 氯化钠溶于 1 000 mL 蒸馏水中,121 ℃高压灭菌 15 min。

⚠ 版权声明

中国标准在线服务网(www.spc.org.cn)是中国质检出版社委托北京标科网络技术有限公司负责运营销售正版标准资源的网络服务平台,本网站所有标准资源均已获得国内外相关版权方的合法授权。未经授权,严禁任何单位、组织及个人对标准文本进行复制、发行、销售、传播和翻译出版等违法行为。版权所有,违者必究!

中国标准在线服务网 http://www.spc.org.cn

标准号: GB 4789.2-2016 购买者: 光泽疾控中心 订单号: 0100190108034307

防伪号: 2019-0108-0941-0602-6690

时 间: 2019-01-08

定 价: 21元



GB 4789. 2-2016

中 华 人 民 共 和 国 国 家 标 准

食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

GB 4789.2—2016

中国标准出版社出版发行 北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029) 北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址:www.spc.org.cn服务热线:400-168-00102017年6月第一版

书号: 155066 • 1-53834

版权专有 侵权必究