

中华人民共和国国家标准

GB 4789.15—2016

食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数

2016-10-19 发布 2017-04-19 实施

中 华 人 民 共 和 国 _{发 布} 国家卫生和计划生育委员会

前 言

本标准代替 GB 4789.15—2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》和 SN/T 2552.3—2010《乳及乳制品卫生微生物学检验方法 第 3 部分:酵母、霉菌菌落计数》。

本标准与 GB 4789.15-2010 相比,主要变化如下:

- ——修改了设备和材料;
- ——修改了培养基和试剂;
- ——修改了检验程序和操作步骤;
- ——修改了结果与报告;
- ——修改了附录 A;
- ——附录 B 修改为第二法。





食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数

1 范围

本标准规定了食品中霉菌和酵母(moulds and yeasts)的计数方法。 本标准第一法适用于各类食品中霉菌和酵母的计数,第二法适用于番茄酱罐头、番茄汁中霉菌的计数。

2 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:

- 2.1 培养箱:28 ℃±1 ℃。
- 2.2 拍击式均质器及均质袋。
- 2.3 电子天平:感量 0.1 g。
- 2.4 无菌锥形瓶:容量 500 mL。
- 2.5 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、10 mL(具 0.1 mL 刻度)
- 2.6 无菌试管: 18 mm×180 mm。
- 2.7 旋涡混合器。
- 2.8 无菌平皿:直径 90 mm。
- 2.9 恒温水浴箱:46 ℃±1 ℃。
- 2.10 显微镜:10 倍~100 倍。
- 2.11 微量移液器及枪头:1.0 mL。
- 2.12 折光仪。
- 2.13 郝氏计测玻片:具有标准计测室的特制玻片。
- 2.14 盖玻片。
- 2.15 测微器:具标准刻度的玻片。

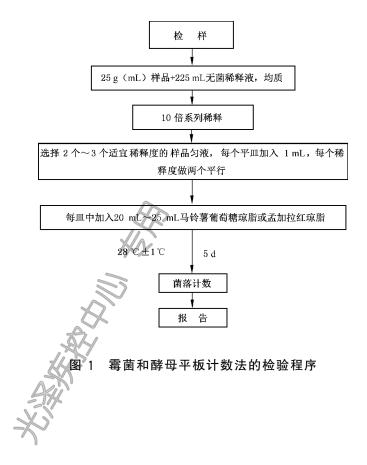
3 培养基和试剂

- 3.1 生理盐水:见 A.1。
- 3.2 马铃薯葡萄糖琼脂:见 A.2。
- 3.3 孟加拉红琼脂:见 A.3。
- 3.4 磷酸盐缓冲液:见 A.4。

第一法 霉菌和酵母平板计数法

4 检验程序

霉菌和酵母平板计数法的检验程序见图 1。



5 操作步骤

样品的稀释

- 5.1.1 固体和半固体样品: 称取 25 g 样品,加入 225 mL 无菌稀释液(蒸馏水或生理盐水或磷酸盐缓冲液),充分振摇,或用拍击式均质器拍打 1 min~2 min,制成 1:10 的样品匀液。
- 5.1.2 液体样品:以无菌吸管吸取 25 mL 样品至盛有 225 mL 无菌稀释液(蒸馏水或生理盐水或磷酸盐缓冲液)的适宜容器内(可在瓶内预置适当数量的无菌玻璃珠)或无菌均质袋中,充分振摇或用拍击式均质器拍打 $1 \text{ min} \sim 2 \text{ min}$,制成 1:10 的样品匀液。
- 5.1.3 取 1 mL 1:10 样品匀液注入含有 9 mL 无菌稀释液的试管中,另换一支 1 mL 无菌吸管反复吹吸,或在旋涡混合器上混匀,此液为 1:100 的样品匀液。
- 5.1.4 按 5.1.3 操作,制备 10 倍递增系列稀释样品匀液。每递增稀释一次,换用 1 支 1 mL 无菌吸管。
- 5.1.5 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 倍递增稀释的同时,每个稀释度分别吸取 1 mL 样品匀液于 2 个无菌平皿内。同时分别取1 mL 无菌稀释液加入 2 个无菌平皿作空白对照。
- 5.1.6 及时将 20 mL~25 mL 冷却至 46 ℃的马铃薯葡萄糖琼脂或孟加拉红琼脂(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。置水平台面待培养基完全凝固。

5.2 培养

琼脂凝固后,正置平板,置 28 ℃±1 ℃培养箱中培养,观察并记录培养至第 5 d 的结果。

5.3 菌落计数

用肉眼观察,必要时可用放大镜或低倍镜,记录稀释倍数和相应的霉菌和酵母菌落数。以菌落形成单位(colony-forming units,CFU)表示。

选取菌落数在 10 CFU~150 CFU 的平板,根据菌落形态分别计数霉菌和酵母。霉菌蔓延生长覆

盖整个平板的可记录为菌落蔓延。

6 结果与报告

6.1 结果

- 6.1.1 计算同一稀释度的两个平板菌落数的平均值,再将平均值乘以相应稀释倍数。
- **6.1.2** 若有两个稀释度平板上菌落数均在 $10 \, \text{CFU} \sim 150 \, \text{CFU}$ 之间,则按照 GB 4789.2 的相应规定进行计算。
- 6.1.3 若所有平板上菌落数均大于 150 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。
- 6.1.4 若所有平板上菌落数均小于 10 CFU,则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数计算。
- 6.1.5 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。
- **6.1.6** 若所有稀释度的平板菌落数均不在 $10 \text{ CFU} \sim 150 \text{ CFU}$ 之间,其中一部分小于 10 CFU 或大于 150 CFU 时,则以最接近 10 CFU 或 150 CFU 的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

6.2 报告

- **6.2.1** 菌落数按"四舍五入"原则修约。菌落数在 10 以内时,采用一位有效数字报告;菌落数在 10~100 之间时,采用两位有效数字报告。
- 6.2.2 菌落数大于或等于 100 时,前第 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 代替位数来表示结果;也可用 10 的指数形式来表示,此时也按"四舍五人"原则修约,采用两位有效数字。
- 6.2.3 若空白对照平板上有菌落出现,则此次检测结果无效。
- 6.2.4 称重取样以 CFU/g 为单位报告,体积取样以 CFU/mL 为单位报告,报告或分别报告霉菌和/或酵母数。

第二法 霉菌直接镜检计数法

7 操作步骤

- 7.1 检样的制备:取适量检样,加蒸馏水稀释至折光指数为 1.344 7~1.846 0(即浓度为 7.9%~8.8%), 备用。
- 7.2 显微镜标准视野的校正:将显微镜按放大率 90 倍~125 倍调节标准视野,使其直径为 1.382 mm。
- 7.3 涂片:洗净郝氏计测玻片,将制好的标准液,用玻璃棒均匀的摊布干计测室,加盖玻片,以备观察。
- **7.4** 观测:将制好之载玻片置于显微镜标准视野下进行观测。一般每一检样每人观察 50 个视野。同一检样应由两人进行观察。
- 7.5 结果与计算: 在标准视野下,发现有霉菌菌丝其长度超过标准视野(1.382 mm)的 1/6 或三根菌丝总长度超过标准视野的 1/6(即测微器的一格)时即记录为阳性(+),否则记录为阴性(-)。
- 7.6 报告:报告每100个视野中全部阳性视野数为霉菌的视野百分数(视野%)。

附 录 A 培养基和试剂

A.1 生理盐水

A.1.1 成分

 氯化钠
 8.5 g

 蒸馏水
 1 000 mL

A.1.2 制法

氯化钠加入 1 000 mL 蒸馏水中,搅拌至完全溶解,分装后,121 ℃灭菌 15 min,备用。

A.2 马铃薯葡萄糖琼脂

A.2.1 成分

马铃薯(去皮切块)300 g葡萄糖20.0 g琼脂20.0 g氯霉素0.1 g蒸馏水1 000 mL

A.2.2 制法

将马铃薯去皮切块,加 1 000 mL 蒸馏水,煮沸 10 min \sim 20 min。用纱布过滤,补加蒸馏水至 1 000 mL。加入葡萄糖和琼脂,加热溶解,分装后,121 \heartsuit 灭菌 15 min,备用。

A.3 孟加拉红琼脂

A.3.1 成分

蛋白胨 5.0 g 葡萄糖 10.0 g 磷酸二氢钾 1.0 g 硫酸镁(无水) 0.5 g琼脂 20.0 g 孟加拉红 0.033 g 氯霉素 0.1 g蒸馏水 1 000 mL

A.3.2 制法

上述各成分加入蒸馏水中,加热溶解,补足蒸馏水至 1 000 mL,分装后,121 ℃灭菌 15 min,避光保存备用。

A.4 磷酸盐缓冲液

A.4.1 成分

磷酸二氢钾34.0 g蒸馏水500 mL

A.4.2 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 ± 0.1 ,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。



▲ 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 4789.15-2016 购买者: 光泽疾控中心 订单号: 0100190118034995

防伪号: 2019-0118-0407-2083-2735

时 间: 2019-01-18

定 价: 21元



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 霉菌和酵母计数

GB 4789.15—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:400-168-0010 2017年7月第一版

书号: 155066 • 1-53833

版权专有 侵权必究