



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
国家卫生和计划生育委员会 发布

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0.1g。
- 2.4 无菌锥形瓶:容量500mL。
- 2.5 无菌吸管:1mL(具0.01mL刻度)、10mL(具0.1mL刻度)。
- 2.6 无菌试管:18mm×180mm。
- 2.7 旋涡混合器。
- 2.8 无菌平皿:直径90mm。
- 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:1.0mL。
- 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。

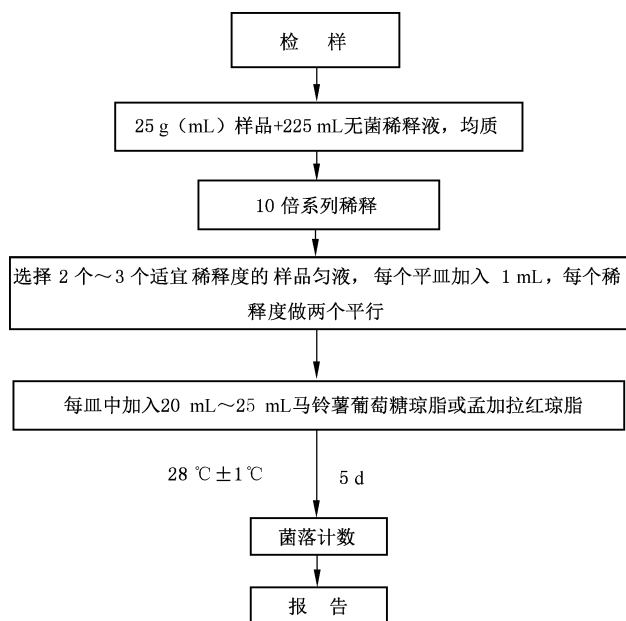


图 1 霉菌和酵母平板计数法的检验程序

5 操作步骤

5.1 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 min~2 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 °C 的马铃薯葡萄糖琼脂或孟加拉红琼脂(可放置于 46 °C ± 1 °C 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 °C ± 1 °C 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 CFU~150 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 CFU~150 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“四舍五入”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“四舍五入”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 7~1.346 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于计测室,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 °C 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~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 °C 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 °C 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 °C 高压灭菌 15 min。
