中 华 人 民 共 和 国 国 家 标 准

GB47892.—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

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会国 家 食 品 药 品 监 督 管 理 总 局

发 布

GB47892.—2016

前 言

本标准代替 GB47892.—2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》。

Ⅰ

GB47892.—2016

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(Aerobicplatecount)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 aerobicplatecount

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)

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:

31 .恒温培养箱:36℃±1℃,30℃±1℃。

32 .冰箱:2℃~5℃。

3. 恒温水浴箱:46℃±1℃。

34 .天平:感量为01.g。

35 .均质器。

36 .振荡器。

37 .无菌吸管:1mL(具00.1mL刻度)、10mL(具01.mL刻度)或微量移液器及吸头。

38 .无菌锥形瓶:容量250mL、500mL。

39 .无菌培养皿:直径90mm。

31.0 pH 计或pH 比色管或精密pH 试纸。

31.1 放大镜或/和菌落计数器。

4 培养基和试剂

41 .平板计数琼脂培养基:见 A.1。

42 .磷酸盐缓冲液:见 A.2。

43 .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。 1

GB47892.—2016

图1 菌落总数的检验程序

6 操作步骤

61 .样品的稀释

61.. 固体和半固体样品:称取25g样品置盛有225mL磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌均质杯内, 8000r/min~10000r/min均质1min~2min,或放入盛有225mL稀释液的无菌均质袋中,用拍击式均质器拍打1min~2min,制成1∶10的样品匀液。

61.2 .液体样品:以无菌吸管吸取25mL样品置盛有225mL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。

61.3 .用1mL 无菌吸管或微量移液器吸取1∶10样品匀液1mL,沿管壁缓慢注于盛有9mL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

2

GB47892.—2016

混合均匀,制成1∶100的样品匀液。

61.4 .按61.3.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1mL无菌吸管或吸头。

61.5 .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1mL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1mL空白稀释液加入两个无菌平皿内作空白对照。

61.6 .及时将15mL~20mL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。

62 .培养

62.1 .待琼脂凝固后,将平板翻转,36℃±1培养48h±2h。水产品30℃±1℃培养72h±3h。62.. 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4mL),凝固后翻转平板,按62.1.条件进行培养。

63 .菌落计数

63.1 .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-formingunits,CFU)表示。

63.2 .选取菌落数在30CFU~300CFU 之间、无蔓延菌落生长的平板计数菌落总数。低于30CFU的平板记录具体菌落数,大于300CFU 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。

63.. 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。

63.4 .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

71 .菌落总数的计算方法

71.. 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。

71.2 .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:

C

N= ……………………(1)

(n1+01.n2)d

式中:

N ———样品中菌落数;

C———平板(含适宜范围菌落数的平板)菌落数之和; n1 ———第一稀释度(低稀释倍数)平板个数;

n2 ———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 |

3

GB47892.—2016

C 232+244+33+35-2 = 544

N=(n1+01.n2)d=[2+ (01.×2)]×10 00.22=24727上述数据按72..数字修约后,表示为25000或25.×104。

71.3 .若所有稀释度的平板上菌落数均大于300CFU,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。

71.4 .若所有稀释度的平板菌落数均小于30CFU,则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

71.5 .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。

71.6 .若所有稀释度的平板菌落数均不在30CFU~300CFU 之间,其中一部分小于30CFU 或大于300CFU时,则以最接近30CFU 或300CFU的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

72 .菌落总数的报告

72.1 .菌落数小于100CFU 时,按“四舍五入”原则修约,以整数报告。

72.. 菌落数大于或等于100CFU 时,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;也可用10的指数形式来表示,按“四舍五入”原则修约后,采用两位有效数字。

72.3 .若所有平板上为蔓延菌落而无法计数,则报告菌落蔓延。

72.4 .若空白对照上有菌落生长,则此次检测结果无效。

72.5 .称重取样以CFU/g为单位报告,体积取样以CFU/mL为单位报告。

4

GB47892.—2016

附 录 A培养基和试剂

A1 .平板计数琼脂(platecountagar,PCA)培养基

A1.. 成分胰蛋白胨酵母浸膏葡萄糖

琼 脂蒸馏水

5.0g

2.5g

1.0g

15.0g 1000mL

A1.2 .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 ℃高压灭菌15min。

A2 .磷酸盐缓冲液

A2.1 .成分

磷酸二氢钾(KH2PO4)蒸馏水

34.0g 500mL

A2.. 制法

贮存液:称取340.g的磷酸二氢钾溶于500mL蒸馏水中,用大约175mL的1mol/L氢氧化钠溶

液调节pH 至72.,用蒸馏水稀释至1000mL后贮存于冰箱。

稀释液:取贮存液1.25 mL,用蒸馏水稀释至1000 mL,分装于适宜容器中,121 ℃高压灭菌15min。

A3 .无菌生理盐水

A3.1 .成分

氯化钠蒸馏水

8.5g 1000mL

A3.2 .制法

称取85.g氯化钠溶于1000mL蒸馏水中,121℃高压灭菌15min。

5