

中华人民共和国国家标准

GB/T 4789.2—2003
代替 GB/T 4789.2—1994

食品卫生微生物学检验 菌落总数测定

Microbiological examination of food hygiene—
Detection of aerobic bacterial count

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准对 GB/T 4789.2—1994《食品卫生微生物学检验 菌落总数测定》进行修订。

本标准与 GB/T 4789.2—1994 相比主要修改如下：

——按照 GB/T 1.1—2000 对标准文本格式和文字进行修改。

——修改并规范原标准中的“设备和材料”。

——将菌落总数的表示单位修改为：cfu/g(mL)。

本标准自实施之日起，GB/T 4789.2—1994 同时废止。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心营养与食品安全所。

本标准主要起草人：刘宏道、计融、付萍、杨宝兰、姚景会。

本标准于 1984 年首次发布，1994 年第一次修订，本次为第二次修订。

食品卫生微生物学检验

菌落总数测定

1 范围

本标准规定了食品中菌落总数的测定方法。

本标准适用于各类食品中菌落总数的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 4789.28—2003 食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

菌落总数 aerobic bacterial count

食品检样经过处理,在一定条件下培养后(如培养基成分、培养温度和时间、pH、需氧性质等),所得1 mL(g)检样中所含菌落的总数。本方法规定的培养条件下所得结果,只包括一群在营养琼脂上生长发育的嗜中温性需氧的菌落总数。

菌落总数主要作为判定食品被污染程度的标志,也可以应用这一方法观察细菌在食品中繁殖的动态,以便对被检样品进行卫生学评价时提供依据。

4 设备和材料

- 4.1 冰箱:0℃~4℃。
- 4.2 恒温培养箱:36℃±1℃。
- 4.3 恒温水浴锅:46℃±1℃。
- 4.4 均质器或灭菌乳钵。
- 4.5 架盘药物天平:0 g~500 g,精确至0.5 g。
- 4.6 菌落计数器。
- 4.7 放大镜 4×。
- 4.8 灭菌吸管:1 mL(具0.01 mL刻度)、10 mL(具0.1 mL刻度)。
- 4.9 灭菌锥形瓶:500 mL。
- 4.10 灭菌玻璃珠:直径约5 mm。
- 4.11 灭菌培养皿:直径90 mm。
- 4.12 灭菌试管:16 mm×160 mm。
- 4.13 灭菌刀、剪子、镊子等。

5 培养基和试剂

- 5.1 营养琼脂培养基:按GB/T 4789.28—2003中4.7规定。

5.2 磷酸盐缓冲液:按 GB/T 4789.28—2003 中 3.22 规定。

5.3 0.85%灭菌生理盐水。

5.4 75%乙醇。

6 检验程序

菌落总数的检验程序见图 1。

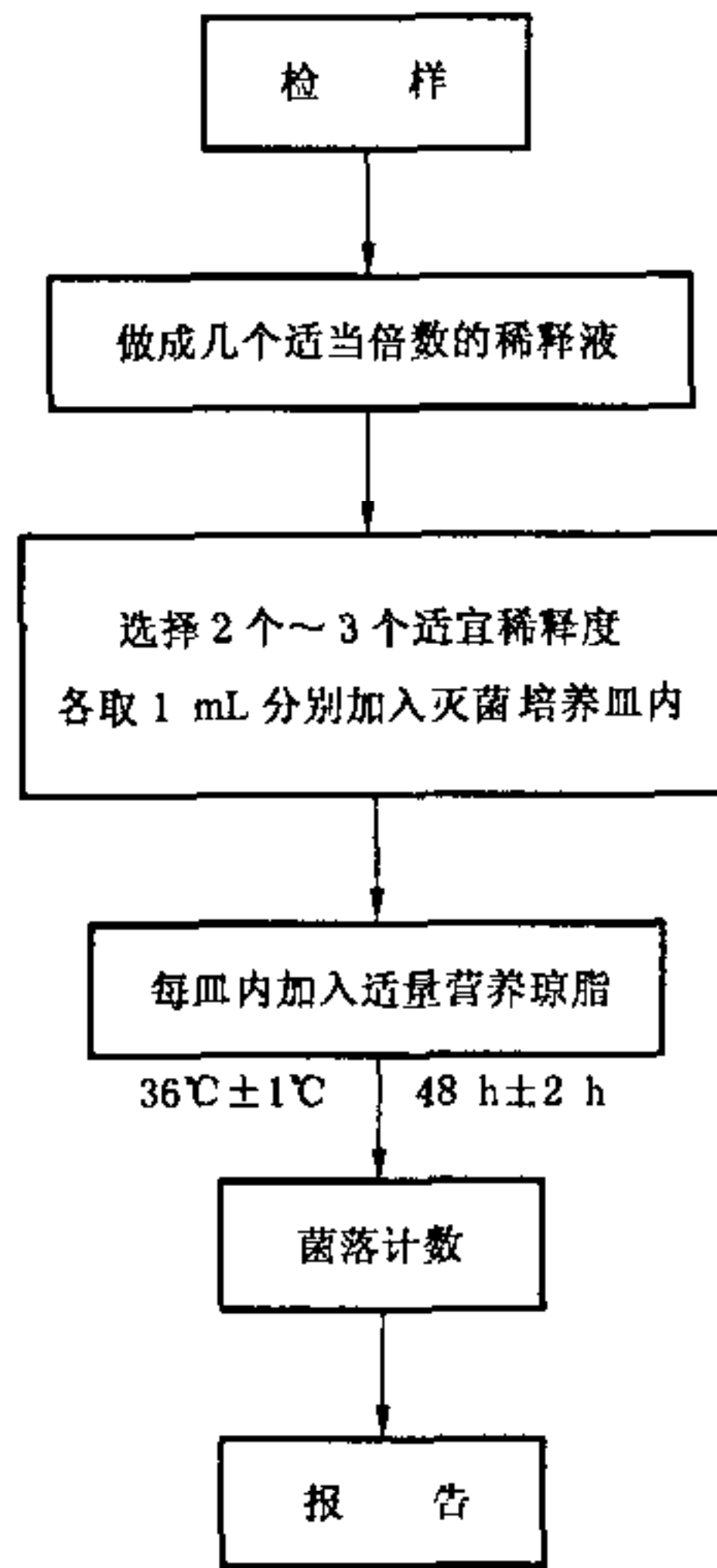


图 1

7 操作步骤

7.1 检样稀释及培养

7.1.1 以无菌操作将检样 25 g(mL)剪碎放于含有 225 mL 灭菌生理盐水或其他稀释液灭菌玻璃瓶内(瓶内预置适当数量的玻璃珠)或灭菌乳钵内,经充分振摇或研磨做成 1:10 的均匀稀释液。

固体检样在加入稀释液后,最好置均质器中以 8 000 r/min~10 000 r/min 的速度处理 1 min,做成 1:10 的均匀稀释液。

7.1.2 用 1 mL 灭菌吸管吸取 1:10 稀释液 1 mL,沿管壁徐徐注入含有 9 mL 灭菌生理盐水或其他稀释液的试管内(注意吸管尖端不要触及管内稀释液),振摇试管,混合均匀,做成 1:100 的稀释液。

7.1.3 另取 1 mL 灭菌吸管,按上条操作方法,做 10 倍递增稀释,如此每递增稀释一次,即换用 1 支 1 mL 灭菌吸管。

7.1.4 根据食品卫生标准要求或对标本污染情况的估计,选择 2 个~3 个适宜稀释度,分别在做 10 倍递增稀释的同时,即以吸取该稀释度的吸管移 1 mL 稀释液于灭菌培养皿内,每个稀释度做两个培养皿。

7.1.5 稀释液移入培养皿后,应及时将凉至 46°C 营养琼脂培养基(可放置于 46°C ± 1°C 水浴保温)注入培养皿约 15 mL,并转动培养皿使混合均匀。同时将营养琼脂培养基倾入加有 1 mL 稀释液灭菌培养皿内作空白对照。

7.1.6 待琼脂凝固后,翻转平板,置 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 温箱内培养 $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ 。

7.2 菌落计数方法

做平板菌落计数时,可用肉眼观查,必要时用放大镜检查,以防遗漏。在记下各平板的菌落数后,求出同稀释度的各平板平均菌落总数。

7.3 菌落计数的报告

7.3.1 平板菌落数的选择

选取菌落数在 $30 \sim 300$ 之间的平板作为菌落总数测定标准。一个稀释度使用两个平板,应采用两个平板平均数,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 2 以代表全皿菌落数。平板内如有链状菌落生长时(菌落之间无明显界线),若仅有一条链,可视为一个菌落;如果有不同来源的几条链,则应将每条链作为一个菌落计。

7.3.2 稀释度的选择

7.3.2.1 应选择平均菌落数在 $30 \sim 300$ 之间的稀释度,乘以稀释倍数报告之(见表 1 中例 1)。

7.3.2.2 若有两个稀释度,其生长的菌落数均在 $30 \sim 300$ 之间,则视两者之比如何来决定。若其比值小于或等于 2,应报告其平均数;若大于 2 则报告其中较小的数字(见表 1 中例 2 及例 3)。

7.3.2.3 若所有稀释度的平均菌落数均大于 300,则应按稀释度最高的平均菌落数乘以稀释倍数报告之(见表 1 中例 4)。

7.3.2.4 若所有稀释度的平均菌落数均小于 30,则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数报告之(见表 1 中例 5)。

7.3.2.5 若所有稀释度均无菌落生长,则以小于 1 乘以最低稀释倍数报告之(见表 1 中例 6)。

7.3.2.6 若所有稀释度的平均菌落数均不在 $30 \sim 300$ 之间,其中一部分大于 300 或小于 30 时,则以最接近 30 或 300 的平均菌落数乘以稀释倍数报告之(见表 1 中例 7)。

7.3.3 菌落数的报告

菌落数在 100 以内时,按其实有数报告,大于 100 时,采用两位有效数字,在两位有效数字后面的数值,以四舍五入方法计算。为了缩短数字后面的零数,也可用 10 的指数来表示(见表 1)。

表 1 稀释度选择及菌落数报告方式

例次	稀释液及菌落数			两稀释液之比	菌落总数/ [cfu/g(mL)]	报告方式/[cfu/g(mL)]
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}			
1	多不可计	164	20	—	16 400	16 000 或 1.6×10^4
2	多不可计	295	46	1.6	37 750	38 000 或 3.8×10^4
3	多不可计	271	60	2.2	27 100	27 000 或 2.7×10^4
4	多不可计	多不可计	313	—	313 000	310 000 或 3.1×10^5
5	27	11	5	—	270	270 或 2.7×10^2
6	0	0	0	—	$<1 \times 10$	<10
7	多不可计	305	12	—	30 500	31 000 或 3.1×10^4