

中华人民共和国国家标准

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

National food safety standard

Food microbiological examination: Aerobic plate count

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

食品伙伴网 <http://www.foodmate.net>

前 言

本标准代替GB/T 4789.2-2008《食品卫生微生物学检验 菌落总数测定》。

本标准与GB/T 4789.2-2008相比，主要修改如下：

- 修改了标准的中英文名称；
- 修改了菌落总数计算公式中的解释；
- 修改了培养基和试剂；
- 删除了第二法 菌落总数Petrifilm™ 测试片法。

本标准的附录A是规范性附录。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB 4789.2-1984、GB 4789.2-1994、GB/T 4789.2-2003、GB/T 4789.2-2008。

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

2.1 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： $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ， $30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 3.2 冰箱： $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 3.3 恒温水浴箱： $46\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 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：见附录A中A.1。
- 4.2 磷酸盐缓冲液：见附录A中A.2。

4.3 无菌生理盐水：见附录 A 中 A.3。

5 检验程序

菌落总数的检验程序见图1。

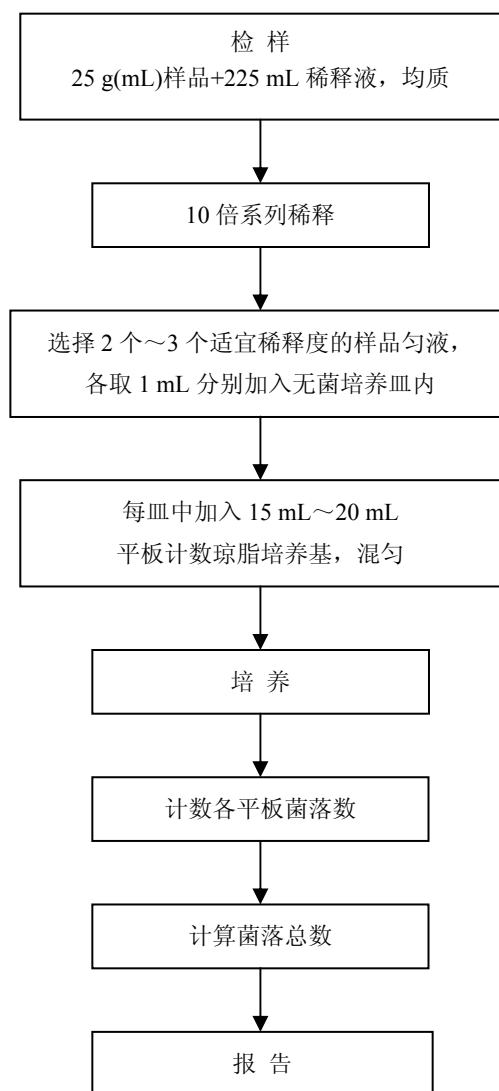


图 1 菌落总数的检验程序

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，8000 r/min~10000 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），振荡试管或换用 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 操作程序，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 °C 的平板计数琼脂培养基（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。

6.2 培养

6.2.1 待琼脂凝固后，将平板翻转，36 °C±1 °C 培养 48 h±2 h。水产品 30 °C±1 °C 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

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。

6.3.1 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。

6.3.2 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。

6.3.3 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，按公式（1）计算：

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2)d} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

N ——样品中菌落数；

$\sum C$ ——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_2 ——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25000或 2.5×10^4 。

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。

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
(规范性附录)
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	1000 mL
pH 7.0±0.2	

A.1.2 制法

将上述成分加于蒸馏水中，煮沸溶解，调节pH。分装试管或锥形瓶，121 °C高压灭菌15 min。

A.2 磷酸盐缓冲液

A.2.1 成分

磷酸二氢钾 (KH ₂ PO ₄)	34.0 g
蒸馏水	500 mL
pH 7.2	

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，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。

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 °C高压灭菌15 min。