



中华人民共和国国家标准

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

National food safety standard

Food microbiological examination: Enumeration of moulds and yeasts

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准自实施之日起代替 GB/T 4789.15-2003 《食品卫生微生物学检验 霉菌和酵母计数》。

本标准与 GB/T 4789.15-2003 相比，主要修改如下：

- 修改了范围；
- 修改了检验程序和操作步骤；
- 修改了培养基和试剂；
- 修改了设备和材料；
- 修改了附录。

本标准的附录 A 为规范性附录，附录 B 为资料性附录。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB 4789.15-1984、GB 4789.15-1994、GB/T 4789.15-2003。

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菌（moulds and yeasts）的计数方法。
本标准适用于各类食品中霉菌和酵母菌的计数。

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 冰箱：2℃～5℃。
- 2.2 恒温培养箱：28℃±1℃。
- 2.3 均质器。
- 2.4 恒温振荡器。
- 2.5 显微镜：10×～100×。
- 2.6 电子天平：感量0.1g。
- 2.7 无菌锥形瓶：容量500mL、250mL。
- 2.8 无菌广口瓶：500mL。
- 2.9 无菌吸管：1mL(具0.01mL刻度)、10mL(具0.1mL刻度)。
- 2.10 无菌平皿：直径90mm。
- 2.11 无菌试管：10mm×75mm。
- 2.12 无菌牛皮纸袋、塑料袋。

3 培养基和试剂

- 3.1 马铃薯-葡萄糖-琼脂培养基：见附录A中A.1。
- 3.2 孟加拉红培养基：见附录A中A.2。

4 检验程序

霉菌和酵母计数的检验程序见图1。

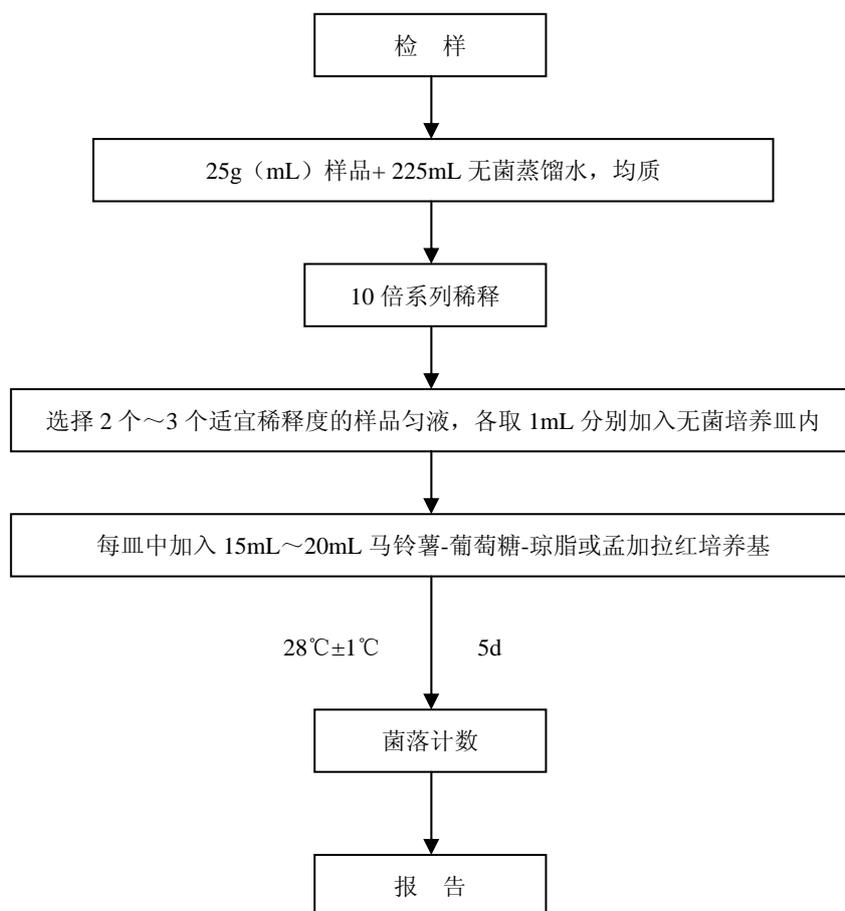


图 1 霉菌和酵母计数的检验程序

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 样品至盛有 225 mL 灭菌蒸馏水的锥形瓶中，充分振摇，即为 1:10 稀释液。或放入盛有 225 mL 无菌蒸馏水的均质袋中，用拍击式均质器拍打 2min，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 无菌蒸馏水的锥形瓶（可在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。

5.1.3 取 1 mL 1:10 稀释液注入含有 9 mL 无菌水的试管中，另换一支 1 mL 无菌吸管反复吹吸，此液为 1:100 稀释液。

5.1.4 按 5.1.3 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。

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 样品稀释液加入 2 个无菌平皿作空白对照。

5.1.6 及时将 15 mL~20 mL 冷却至 46 °C 的马铃薯-葡萄糖-琼脂或孟加拉红培养基（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。

5.2 培养

待琼脂凝固后，将平板倒置， $28^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 5d，观察并记录。

5.3 菌落计数

肉眼观察，必要时可用放大镜，记录各稀释倍数和相应的霉菌和酵母数。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数。霉菌蔓延生长覆盖整个平板的可记录为多不可计。菌落数应采用两个平板的平均数。

6 结果与报告

6.1 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计算。

6.1.2 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。

6.1.3 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。

6.1.4 若所有稀释度平板均无菌落生长，则以小于 1 乘以最低稀释倍数计算；如为原液，则以小于 1 计数。

6.2 报告

6.2.1 菌落数在 100 以内时，按“四舍五入”原则修约，采用两位有效数字报告。

6.2.2 菌落数大于或等于 100 时，前 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 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。

附录 A
(规范性附录)
培养基和试剂

A.1 马铃薯-葡萄糖-琼脂

A.1.1 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	1000 mL

A.1.2 制法

将马铃薯去皮切块,加 1000mL 蒸馏水,煮沸 10 min~20 min。用纱布过滤,补加蒸馏水至 1000 mL。加入葡萄糖和琼脂,加热溶化,分装后,121 °C 灭菌 20 min。倾注平板前,用少量乙醇溶解氯霉素加入培养基中

A.2 孟加拉红培养基

A.2.1 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	1000 mL

A.2.2 制法

上述各成分加入蒸馏水中,加热溶化,补足蒸馏水至 1000 mL,分装后,121 °C 灭菌 20 min。倾注平板前,用少量乙醇溶解氯霉素加入培养基中。

附录 B
(资料性附录)
霉菌直接镜检计数法

常用的为郝氏霉菌计测法，本方法适用于番茄酱罐头。

B.1 设备和材料

- B.1.1 折光仪。
- B.1.2 显微镜。
- B.1.3 郝氏计测玻片：具有标准计测室的特制玻片。
- B.1.4 盖玻片。
- B.1.5 测微器：具标准刻度的玻片。

B.2 操作步骤

- B.2.1 检样的制备：取定量检样，加蒸馏水稀释至折光指数为 1.3447~1.3460（即浓度为 7.9%~8.8%），备用。
 - B.2.2 显微镜标准视野的校正：将显微镜按放大率 90~125 倍调节标准视野，使其直径为 1.382 mm。
 - B.2.3 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，以备观察。
 - B.2.4 观测：将制好之载玻片放于显微镜标准视野下进行霉菌观测，一般每一检样观察 50 个视野，同一检样应由两人进行观察。
 - B.2.5 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（1.382mm）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）时即为阳性（+），否则为阴性（-），按100个视野计，其中发现有霉菌菌丝体存在的视野数，即为霉菌的视野百分数。
-