

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2566—2010

食品中霉菌和酵母菌的计数 Petrifilm™ 测试片法

Enumeration of mould and yeast in foods—
Petrifilm™ yeast and mold count plate method

2010-05-27 发布

2010-12-01 实施



中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局、大连启源科技发展有限公司、3M 中国有限公司。

本标准主要起草人：刘淑艳、卢行安、曹际娟、郑秋月、蒋丹、宋惠君、徐君怡、马惠蕊、王秋艳、王刚、赵昕、齐震玉、徐杨、陈畅、王海燕、周振亚。

食品中霉菌和酵母菌的计数

Petrifilm™ 测试片法

1 范围

本标准规定了食品中霉菌和酵母菌的 Petrifilm™ 测试片计数方法。
本标准适用于食品中霉菌、酵母菌的检验计数。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件,凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

3 原理

Petrifilm™ 酵母菌和霉菌(Petrifilm™ Yeast and Mold, PYM)测试片¹⁾是一种预先准备好培养基的霉菌和酵母菌计数碟片。培养基中含有作为载体的冷水可溶性凝胶和对酵母菌和霉菌敏感的 5-溴-4-氯-3 吡啶基-磷酸盐指示剂,以及抑制细菌生长的四环素、氯霉素。圆形生长区域中划分为 30 个 1 cm×1 cm 便于计数的方格。

4 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

4.1

霉菌和酵母菌 mold and yeast

霉菌系以孢子、分生孢子或菌丝片断进行传播的形成菌丝体的微小真菌;酵母菌系主要靠发芽无性繁殖的单细胞真菌。

5 设备和材料

5.1 恒温培养箱:25℃~28℃。

5.2 冰箱:0℃~4℃。

5.3 均质器(旋刀式或拍击式)或等效的设备。

5.4 无菌吸管 1 mL(具 0.01 mL 刻度)、10 mL(具 0.1 mL 刻度)或电子移液器。

5.5 Petrifilm™ 测试片压板。

5.6 振荡器。

1) Petrifilm™ 酵母菌和霉菌测试片由美国 3M 公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效产品。

5.7 天平:感量 0.1 g。

6 培养基和试剂

6.1 Petrifilm™ 酵母菌和霉菌测试片。

6.2 稀释液

6.2.1 Butterfield's 磷酸盐缓冲液:见附录 A 第 A.1 章。

6.2.2 0.1%蛋白胨水:见附录 A 第 A.2 章。

7 检验程序

检验程序见图 1。

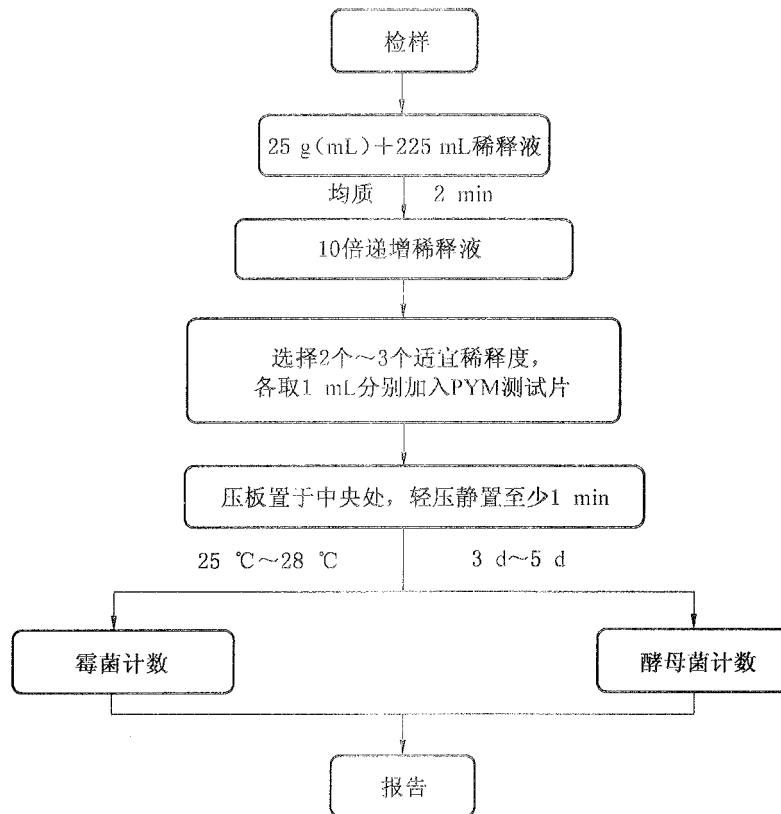


图 1 霉菌与酵母菌的检验程序

8 操作步骤

8.1 检验样品的制备

8.1.1 冷冻样品的解冻

检验前冷冻样品可于 2 °C ~ 5 °C 解冻, 时间不超过 18 h, 或在不超过 45 °C 的温度中解冻, 时间不超过 15 min。

8.1.2 样品匀液的制备

8.1.2.1 固体食品

以无菌操作取 25 g 样品,放入装有 225 mL 稀释液(Butterfield's 磷酸盐缓冲液或 0.1% 蛋白胨水)的无菌均质杯内,于 8 000 r/min 均质 2 min,制成 1:10 样品匀液,或放入 225 mL 稀释液的无菌均质袋中,用均质器拍打 2 min,使霉菌孢子充分散开,制成 1:10 的样品匀液。

8.1.2.2 液体食品

取原液予以检测或以无菌吸管吸取样品 25 mL,放入装有 225 mL 稀释液的无菌玻璃瓶(瓶内预置适当数量的玻璃珠)中,以 30 cm 幅度、于 7 s 内振摇 25 次(或以机械振荡器振摇),制成 1:10 的样品匀液。

8.2 样品匀液的接种和培养

8.2.1 稀释

对上述样品匀液做 10 倍系列梯度稀释,根据样品的污染程度,选择适宜的 2 个~3 个连续稀释度,每个稀释度接种 2 张 PYM 测试片。

8.2.2 接种

将 PYM 检验测试片置于平坦实验台面,揭开上层膜,用吸管吸取 1 mL 样液垂直滴加在测试片的中央,允许上层膜直接落下,但切勿向下滚动上层膜。手拿压板横杆,将压板放置在上层膜中央处,平稳的压下,使样液均匀覆盖于圆形培养面积上,切勿扭转压板。拿起压板,静置至少 1 min 以使培养基凝固。

8.2.3 培养

将测试片的透明面朝上置于培养箱内,堆叠片数至多不能超过 20 片,25 °C~28 °C 培养 3 d~5 d。

9 结果计算与报告

9.1 判读

9.1.1 培养 3 d 后持续观察计数,可目测、显微镜来计数;如果培养 5 d 后,测试片上目标菌生长过快,呈现边缘模糊的菌落,则以 3 d 计数结果作为估计菌落数。

9.1.2 在 PYM 检验测试片上,将颜色均匀一致,灰白色到蓝绿色或粉红色,没有暗色中心,边界明显的小型隆起菌落计为酵母菌。颜色多样(棕色、米色、橙色、蓝绿色等,以霉菌产生不同色素而定)、中心颜色深暗的大型或小型扁平扩散菌落计为霉菌。

9.2 结果计算

9.2.1 选取菌落数在 15~150 之间的测试片计数,平均菌落数乘以稀释倍数报告之。

9.2.2 如果所有稀释度的测试片上均无菌落生长,则以小于 1 乘以最低稀释倍数报告之。

9.2.3 如果所有稀释度测试片上的菌落数都小于 15,则计数稀释度最低的测试片上的平均菌落数乘以稀释倍数报告之。

9.2.4 如果最高稀释度的菌落数大于 150,计数最高稀释度的测试片上的平均菌落数乘以稀释倍数报告之。计数菌落数大于 150 个的测试片时,可计数一个或两个具有代表性的方格内的菌落数,换算成单

个方格内(1 cm^2)的菌落数后乘以 30 即为测试片上估算的菌落数(圆形生长面积为 30 cm^2)。

9.2.5 计数在测试片上出现堆挤和彼此覆盖的霉菌菌落,可将测试片分成几个区域,计算每个有明显暗色中心的菌落。大量的酵母菌可能会导致整个生长区域呈现蓝色,大量的霉菌也可能导致整个生长区域呈现蓝、黑、黄等颜色,此时测试片中央可能没有可见菌落,但圆形培养面积的边缘有许多小型菌落。当发生这种情况时,不要估算菌落数,其结果记录计为“多不可计”(too numerous to count, TNTC)。

9.3 结果报告

报告每克或毫升[g(mL)]样品中霉菌、酵母菌数,以“CFU/g 或 CFU/mL”表示。

10 生物安全措施

废弃物的处置见 GB 19489 的有关规定执行;为了防止实验室霉菌孢子的污染,不要打开 PYM 测试片。

附 录 A
(规范性附录)
稀 释 液

A.1 Butterfield's 磷酸盐缓冲液

A.1.1 储备液成分

磷酸二氢钾(KH ₂ PO ₄)	34.0 g
蒸馏水	500 mL
pH7.2	

A.1.2 制法

A.1.2.1 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,用蒸馏水稀释至 1 000 mL 后储存于冰箱。

A.1.2.2 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.2 0.1%蛋白胨水

蛋白胨	1.0 g
蒸馏水	1 000 mL
121 °C 灭菌 15 min。	

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
食品中霉菌和酵母菌的计数
Petrifilm™ 测试片法

SN/T 2566—2010

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

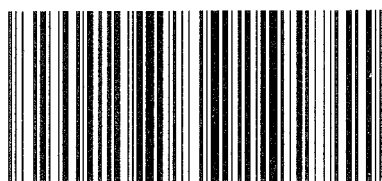
开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 10 千字

2010年10月第一版 2010年10月第一次印刷

印数 1—1 600

*

书号: 155066·2-21182 定价 16.00 元



SN/T 2566—2010