

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 0178—2011
代替 SN 0178—1992

出口食品嗜热菌芽胞 (需氧芽胞总数、平酸芽胞和厌氧芽胞) 计数方法

Enumeration of thermophilic bacterial spores
(total aerobic, flat-sour and anaerobic)
in food for import and export

2011-05-31 发布

2011-12-01 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。

本标准代替 SN 0178—1992《出口食品嗜热菌芽胞(需氧芽胞总数、平酸芽胞和厌氧芽胞)计数方法》。本标准与 SN 0178—1992 相比,主要技术变化如下:

- 对原标准的结构和文本格式进行了修订;
- 规范了量、单位、符号的表述;
- 增加了术语和定义;
- 将“芽孢”改为“芽胞”;
- 将溶液和增加的培养基的配制方法放入附录 A;
- 增加了固态奶制品中嗜热菌芽胞计数检验方法。

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:中华人民共和国湖北出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:赵晖、王振华、冯汉利、曾宪东、郭明星、陈建军、郑剑。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- SN 0178—1992。

www.kinghant.cn
凯恒生物

出口食品嗜热菌芽胞 (需氧芽胞总数、平酸芽胞和厌氧芽胞) 计数方法

1 范围

本标准规定了出口食品中嗜热菌芽胞计数检验方法。

本标准适用于谷物产品、食品配料和固态乳品(全脂奶粉、脱脂奶粉和奶酪制品)中嗜热菌芽胞计数。

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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

SN/T 1538.1 培养基制备指南 第1部分:实验室培养基制备质量保证通则

SN/T 1538.2 培养基制备指南 第2部分:培养基性能测试实用指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

嗜热菌芽胞 thermophilic bacterial spores

在特定的时间中,经 100 °C 或 106 °C 热处理后,能在指定的培养环境和非选择性培养基中,55 °C 培养生长形成菌落的细菌芽胞。包括需氧芽胞、厌氧芽胞,其中需氧芽胞包括平酸菌芽胞,厌氧芽胞包括产硫化氢厌氧菌芽胞和不产硫化氢厌氧菌芽胞。

3.2

平酸芽胞 flat-sour bacterial spores

是需氧芽胞杆菌科中的一群高温型细菌芽胞,引起食品酸败变质,产酸不产气,具有嗜热、耐热的特点,最适生长温度为 55 °C 左右。

4 试剂和材料

除另有规定外,所用试剂均为分析纯,试验用水应符合 GB/T 6682 的规定。

4.1 磷酸氢二钾溶液:见 A.1。

4.2 葡萄糖胰蛋白胨琼脂:见 A.2。

4.3 2%琼脂:见 A.3。

4.4 改良亚硫酸盐琼脂:见 A.4。

4.5 肝浸液:见 A.5。

4.6 含 0.2% 可溶性淀粉的 BCP 脱脂奶粉平板计数培养基: 见 A. 6。

5 仪器和设备

- 5.1 取样工具: 刮勺、取样铲等。
- 5.2 带盖样品瓶或容器。
- 5.3 高压蒸汽灭菌锅。
- 5.4 天平: 感量 0.01 g。
- 5.5 均质器和 1 000 mL 带盖均质杯。
- 5.6 移液管: 容量 1 mL、10 mL (大口径)。
- 5.7 培养皿: 内径 90 mm。
- 5.8 250 mL 三角烧瓶: 具 100 mL 刻度线。
- 5.9 水浴锅。
- 5.10 酒精灯。
- 5.11 菌落计数器。
- 5.12 培养箱: 温度 $55\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 5.13 小型压力容器: 能快速升温和降温, 可达到 $106\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

6 试样制备

6.1 谷物

将 50 g 样品放入灭菌均质杯内, 加入 200 mL 灭菌蒸馏水, 以 8 000 r/min~10 000 r/min 均质 3 min, 制成均匀的混悬液。

6.2 淀粉或面粉

将 20 g 样品放入盛有适量玻璃珠的 250 mL 灭菌三角烧瓶内, 加灭菌蒸馏水至 100 mL 刻度线, 振荡, 制成均匀的混悬液。

6.3 糖

将 20 g 固态糖或相同糖含量的液态糖 (根据白利度确定。如 29.41 g、68 白利度的液态糖相当于 20 g 固态糖) 放入 250 mL 灭菌三角烧瓶内, 加灭菌蒸馏水至 100 mL 刻度线, 搅拌使溶解, 迅速加热至沸并维持 5 min, 立即用水冷却。

6.4 固态乳品

将 10 g 固态乳品加入到 90 mL 灭菌磷酸氢二钾溶液中混匀制备固态乳品的 1:10 稀释溶液。用无菌移液管移去 10 mL 1:10 样品稀释溶液于 90 mL 灭菌磷酸氢二钾溶液中制备 1:100 样品稀释液。更高稀释度的样品稀释液依此法类推。

7 检验方法

7.1 需氧嗜热菌芽胞总数

7.1.1 谷物、淀粉或面粉

用大口径移液管移取 20 mL 谷物混悬液或 10 mL 淀粉或面粉混悬液, 在搅拌状态下加入盛有

100 mL 融化的灭菌葡萄糖胰蛋白胍琼脂(55 °C~60 °C)的 250 mL 三角烧瓶内。将此混合物在沸水或蒸汽柜中放置 15 min。轻微搅拌使尽快冷却,再将全部混合物等量倾注至 5 个灭菌培养皿内。凝固后于其表面覆盖一薄层 2% 灭菌琼脂(防止蔓延型菌落出现),待覆盖琼脂凝固后,倒置培养皿于 55 °C 保持一定湿度培养 48 h。

7.1.2 糖

于 5 个灭菌培养皿内各放入 2 mL 经热处理的糖溶液,倾入灭菌葡萄糖胰蛋白胍琼脂(55 °C~60 °C),轻轻摇动,使样液与培养基混合均匀。待凝固后,倒置培养皿于 55 °C 保持一定湿度培养 48 h。

7.1.3 固态乳品

将 1:10 稀释的样品悬液置于 106 °C±0.5 °C 小型压力容器中保持 30 min,加热结束后,迅速将样品移至 15 °C~25 °C 的水浴中冷却,将以上热处理后的 1:10 稀释液制备成 1:100 稀释的样品悬液,从第一个样品稀释到最后倒平皿时间不宜超过 15 min。无菌吸取热处理后的 1:10 样品悬液 1 mL,大致等分转移到 3 个无菌培养皿中,每一个平皿倾注约 15 mL 已灭菌的 45 °C 保温的含 0.2% 可溶性淀粉的 BCP 脱脂奶粉平板计数培养基,缓慢的混匀样品和培养基。另取 3 个无菌培养皿用同样的方法做一个平行实验。取 1:100 样品稀释液 1 mL 于一个无菌培养皿中,做两个平皿,每一个平皿倾注约 15 mL 已灭菌的 45 °C 保温的含 0.2% 可溶性淀粉的 BCP 脱脂奶粉平板计数培养基。如需要,可制备更高稀释度的样品稀释液检测。待平板凝固后,置于培养箱中 55 °C 培养 48 h±2 h,为避免培养基水分蒸发,可将培养皿置于塑料袋中。

7.2 平酸嗜热菌芽胞

对上述 7.1.1 和 7.1.2 中的平板同时进行平酸嗜热菌芽胞检验计数。

7.3 产硫化氢厌氧嗜热菌芽胞

将 20 mL 样品混悬液分装于 6 支刚刚排气的改良亚硫酸盐琼脂试管内。如样品为谷物、淀粉或面粉,应旋紧试管帽,在加热(在沸水或蒸汽柜中放置 15 min)之前和加热过程中轻轻颠倒试管数次,加热后迅速用水冷却试管。预热试管至 55 °C,并在此温度下厌氧培养 48 h。

7.4 不产硫化氢厌氧嗜热菌芽胞

将 20 mL 样品混悬液分装于 6 支刚刚排气的肝浸液试管内。如样品为谷物、淀粉或面粉,应立即旋紧试管帽,在加热(在沸水或蒸汽柜中放置 15 min)之前和加热过程中搓转试管数次。加热后迅速用水冷却,并于各试管内注入 50 °C 灭菌覆盖琼脂,厚度 5 cm~6 cm。待琼脂凝固后,预热试管至 55 °C,并在此温度下厌氧培养 48 h~72 h。

8 菌落计数

8.1 需氧嗜热菌芽胞总数

8.1.1 谷物、面粉、淀粉和糖中需氧嗜热菌芽胞计数

计数 5 个平板上的菌落。5 个平板上的菌落数相加,再乘以 2 即为 10 g 谷物中的需氧嗜热芽胞总数。如样品为淀粉或面粉或糖,则 5 个平板上的菌落数相加,再乘以 5 即为 10 g 样品中的需氧嗜热芽胞总数。

8.1.2 固态乳品中需氧嗜热菌芽胞计数

计数三个平板中黄色或紫色的菌落总和。选择菌落数小于 300 的平板计数。连在一起的菌落算做一个；如果菌落蔓延生长区域不超过四分之一，则计数其他区域的菌落，并且依此推理计算整个平板的菌落数；如果蔓延生长区域超过四分之一，则该平板不做计数。取 1 mL 稀释液中形成菌落的平均值，乘以相应的稀释倍数，即为 1 g 样品中的需氧嗜热芽胞总数。

8.2 平酸嗜热菌芽胞计数

对上述 8.1.1 中的平板再进行检查。计数平板上直径 1 mm~5 mm，中心有不透明暗色斑点的圆形菌落。在紫色平板上，平酸菌菌落通常被黄色晕圈围绕着。当接种菌过多(整个平板呈淡黄色)或产低酸的菌株存在时，黄色晕圈不明显或消失。表面以下的菌落致密，两面凸出，近乎针尖状。如对表面以下菌落有怀疑，可挑取此菌落划线培养于葡萄糖胰蛋白胨琼脂平板上，以证实表面菌落的特征。样品中平酸芽胞的计算同上述 8.1.1 中方法。

8.3 产硫化氢厌氧嗜热菌芽胞计数

产硫化氢厌氧菌在改良亚硫酸盐培养基中形成乌黑发亮的特殊球形区域，有明显气体产生。某些不产硫化氢厌氧菌产生大量氢气和还原亚硫酸盐，引起琼脂断裂和使整个培养基变黑。但是，这种情况易与上述的黑色球形区域分开。计数 6 支试管中的黑色球形区域。6 支试管中的黑色球形区域数相加，再乘以 2 即为 10 g 谷物中的产硫化氢厌氧芽胞数。如样品为淀粉或面粉或糖，则 6 支试管中的黑色球形区域数相加，再乘以 2.5 即为 10 g 样品中的产硫化氢厌氧芽胞数。

8.4 不产硫化氢厌氧嗜热菌芽胞计数

琼脂断裂，产酸，偶尔伴有干酪气味，被判定为不产硫化氢厌氧菌。此方法适用于定性试验或作粗略定量估计，不能以单位样品中芽胞数表示结果。

9 结果报告

9.1 谷物、面粉、淀粉和糖中需氧嗜热菌芽胞总数、平酸嗜热菌芽胞、产硫化氢厌氧嗜热菌芽胞：按芽胞数/10 g 样品报告结果。

9.2 不产硫化氢厌氧嗜热菌芽胞：按阳性或阴性(+)或(-)管数报告结果。

9.3 固态乳品中需氧嗜热菌芽胞：按芽胞数/g 样品报告结果。

附录 A
(规范性附录)
培养基和试剂¹⁾

A.1 磷酸氢二钾溶液

磷酸氢二钾	20.0 g
蒸馏水	1 000 mL

pH 7.5±0.2, 121 °C 高压灭菌 15 min。

A.2 葡萄糖胰蛋白胍琼脂

胰蛋白胍	10.0 g
葡萄糖	5.0 g
2%溴甲酚紫乙醇溶液	2 mL
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL

将各成分混悬于蒸馏水中,静置 5 min,混合均匀,加热,不时搅拌煮沸 1 min,分装于玻璃瓶内,121 °C 高压灭菌 20 min。最终 pH 6.7±0.1。

A.3 2%琼脂

琼脂	20.0 g
蒸馏水	1 000 mL

将琼脂混悬于蒸馏水中,静置 5 min,加热煮沸使溶解,分装于试管或三角烧瓶内,121 °C 高压灭菌 20 min。

A.4 改良亚硫酸盐琼脂

蛋白胍	10.0 g
无水亚硫酸钠	1.0 g
琼脂	20.0 g
蒸馏水	1 000 mL

将蛋白胍、亚硫酸钠和琼脂混悬于蒸馏水中,充分混合,加热使溶解。分装试管,每管 10 mL~15 mL,再于各试管内加入适量清洁的混铁粉或铁屑。不调 pH,121 °C 高压灭菌 20 min。如不使用固体亚硫酸钠,每周需配制新鲜亚硫酸钠溶液。

1) 为保证培养基的质量,应按 SN/T 1538.1、SN/T 1538.2 进行培养基的制备与性能测试。若使用商售的脱水合成培养基,应选用国内外通过 ISO 9000 质量管理体系认证生产厂商的产品并按其说明制备和使用。

A.5 肝浸液

将 500 g 碎牛肝加入 1 000 mL 蒸馏水中,振摇,微火煮沸 1 h。调至 pH 7.0,再煮沸 10 min。用纱布过滤,挤压出液体部分,并稀释至 1 000 mL。加入蛋白胨 10 g,磷酸氢二钾 1 g,再调至 pH 7.0。将煮沸过的碎牛肝(1 cm~2 cm 厚)和肝汤(10 mL~12 mL)加入 18 mm×150 mm 试管内,121 °C 高压灭菌 20 min。除新鲜配制以外,使用前以流动蒸汽加热培养基 20 min 以上,以排除培养基内的空气。接种后用灭菌琼脂(50 °C)覆盖,厚度 5 cm~6 cm。

A.6 含 0.2%可溶性淀粉的 BCP 脱脂奶粉平板计数培养基

蛋白胨	5.0 g
酵母提取物	2.5 g
一水葡萄糖	1.0 g
脱脂奶粉	1.0 g
琼脂	8 g~15 g
可溶性淀粉	2.0 g
4%溴甲酚紫乙醇溶液	1 mL
蒸馏水	1 000 mL

将上述各成分于蒸馏水中加热溶解,调节 pH,使其灭菌后 pH 为 7.0 ± 0.2 ,分装于锥形瓶中,于 $121 \text{ } ^\circ\text{C} \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$ 高压灭菌 15 min。

www.kinghunt.cn
凯恒生物

中华人民共和国出入境检验检疫
行业标准
出口食品嗜热菌芽胞
(需氧芽胞总数、平酸芽胞和厌氧芽胞)
计数方法

SN/T 0178—2011

*

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

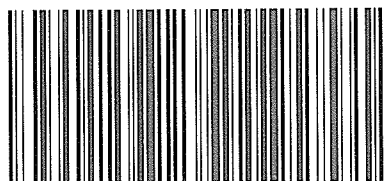
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 13 千字
2011年11月第一版 2011年11月第一次印刷
印数 1—1 600

*

书号: 155066·2-22616 定价 16.00 元



SN/T 0178-2011