

菌落总数测试片法与食品中菌落总数测定 国标方法的比较研究

卢行安¹ 顾其芳¹ 袁宝君⁰ 刘秀梅¹ 朱贻华²

¹ 辽宁出入境检验检疫局 大连 116001 / 上海市疾病预防控制中心 上海 200333

⁰ 江苏省疾病预防控制中心 南京 210048 / 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所 北京 100024

² 0- 中国有限公司 上海 200400

摘要 目的# 验证 0- 菌落总数测试片计数食品中菌落总数的检测性能\$ 方法# 对 0- 菌落总数测试片法与国家标准 GB 4789.9 菌落总数测定法进行比较实验\$ 在 94 个政府机构和食品企业实验室%对生肉&熟肉&水产品&调味品&冰激凌&原奶&奶粉和豆制品等 7 大类 12 份食品样品进行了测定\$ 结果# 0- 方法与国标 GB 4789.9 法检测 7 类食品样品的菌落总数测定结果的 t 值均大于 4.42% 无显著性差异\$ 结论# 使用 0- 菌落总数测试片法检测食品中的菌落总数等效于食品微生物学检验菌落总数测定的国家标准方法\$

关键词 菌落总数 0- 测试片 平板计数琼脂
文章编号 6448@>?1?197.. "70@7.31@71

菌落总数是食品卫生检验中最基本! 最常见的微生物指标检测项目" 各个国家以传统的检测方法为基础#制订不同的相关标准方法" 我国的国家标准方法是中华人民共和国国家标准食品卫生微生物学检验菌落总数测定 GB 4789.9-2008 而国际上主要以美国联邦食品药品监督管理局 FDA 编著的细菌学分析手册《Bacteriological Analytical Manual》中的标准检验方法和国际标准化组织 ISO 的方法为参考方法" 1977 年国际食品法典委员会通过的婴幼儿配方粉卫生规范《Codex Alimentarius》中规定嗜温需氧菌数 (TAMC) 的测定用 ISO 11730:1977 的方法# 可见经典方法在国际食品微生物领域被广泛接受并沿用至今" 但传统的培养方法在操作程序和判定结果的时间方面存在不足之处&工作效率低#检测的准确性容易受到培养基质量与配制水平的影响" 美国 0- 公司研

究生产的 0- 菌落总数测试片是目前普遍采用的成熟的食品微生物快速检测方法# 并获得 ISO 官方方法的认可! 认证# 编号为 ISO 8876:2008 现被国际上广泛应用" 该方法为预先制备好的平板培养基系统# 含有标准的平板计数培养基以及冷水可溶性凝胶和特异性的指示剂" 1977 年为修订国家食品微生物标准检验方法# 将 ISO 8876:2008 菌落总数测试片法⁰与国家标准检验方法 GB 4789.9¹进行了比较和验证" 全国疾病预防控制系统! 进出口检验检疫系统和食品加工行业共 97 个实验室参与了本次验证" 本文报告了对比及验证实验的研究结果"

1 材料与方法

1.1 培养基和测试片

0- 菌落总数测试片由 0- 中国有限公司提供" 国家标准方法中常规培养基为陆桥公司相关产品"

1.2 实验单位

参与对比实验的单位& 上海疾病控制预防中心! 浙江疾病控制预防中心! 江苏疾病控制预防中心! 内蒙古出入境检验检疫局检验检疫技术中心!

收稿日期! 9767@69@62

作者简介! 卢行安# 男# 1963 年出生# 博士# 高级工程师

辽宁出入境检验检疫局技术中心! 黑龙江出入境检验检疫局检测中心! 深圳出入境检验检疫局食品检验中心! 汕头出入境检验检疫局技术中心食品实验室! 大连市产品质量监督检验所! 河北疾病预防控制中心! 山东疾病预防控制中心! 广西疾病预防控制中心! 复旦大学公卫学院! 湖北疾病预防控制中心! 广东疾病预防控制中心! 辽宁疾病预防控制中心! 中国农业大学! 北京三元食品股份有限

公司! 光明乳业股份有限公司! 伊利集团技术中心"

1.1# 样品类型和制备方法

1.1.1# 样品的类型 如表 1 所示# 本研究中选取的样品包括生肉! 熟肉! 乳和乳制品! 冰淇淋! 原奶! 奶粉! 水产品! 豆制品! 即食产品! 和调味品# 以代表各类广泛的食品样品" 各实验室工作人员按照被选取的样品类别在当地市场购买样品"

表 1 检测样品的食品类别和数量

食品类别	生肉	熟肉	水产品	调味品	冰激凌	原奶	奶粉	豆制品
样品数量	15	15	15	15	15	15	15	15

1.1.2# 自然样品的制备方法 自然样品的制备按照国家标准 GB 4789.5-2010 方法" 在 GB 4789.5-2010 菌落总数测试片法的操作过程中# 样品制备程序与 GB 4789.5-2010 方法中样品制备部分一致"

1.2# 实验方法

分别按照国标 GB 4789.5-2010 和 EFEG C/4677.5⁺B 菌落总数测试片法对选定的几大类食品进行菌落总数测定"

1.2.1# 样品制备 称取或吸取食物样品# 置于适宜的无菌容器内# 加入适量的无菌稀释液# 制备一定稀释倍数的样品稀释液# 搅拌或均质样品"

1.2.2# 调节 pH 如果样品非中性# 调节样品稀释液的 pH 在 6.5~8.5 之间" 酸性样用 1.0% NaOH 调节# 碱性样用 1.0% HCl 调节"

1.2.3# 接种与培养 将测试片置于平坦表面处# 揭开上层膜# 使用吸管将 0.1 mL 样液垂直滴加在测试片的中央# 将上层膜盖下# 允许上层膜直接落下# 但不要向下滚动上层膜# 将压板凹面底朝下# 置于上层膜中央# 轻轻地压下# 使样液均匀覆盖于圆形的培养面上# 切勿扭转压板# 拿起压板# 静置至少 15 min 使培养基凝固# 将测试片的透明面朝上置于培养箱内# 堆叠片数不超过 5 片# 培养温度 37°C# 培养时间 24 h"

1.2.4# 判读 计数所有红色菌落# 不论其大小" 细菌浓度很高时# 整个测试片变成红色或粉红色# 将结果记录为(多不可计+L+G%) 偶尔# 细菌浓度很高时测试片中央没有可见菌落# 但圆形培养面

的边缘有许多小的菌落# 其结果也记录为(多不可计)" 进一步稀释样品可获得准确的读数" 具体测试片上的菌落形态请参考 GB 4789.5-2010 细菌总数测试片判读手册"

一些微生物在测试片上出现局部扩散或菌落模糊的现象" 此时通过计数没有菌落扩散的面积来估算菌落浓度" GB 4789.5-2010 测试片的总接种面积为 35 cm²# 每个方格的面积为 3.5 cm²"

1.2.5# 计数 到培养时间立即计数" 目视# 用标准菌落计数器! 放大镜! GB 4789.5-2010 自动判读仪计数" 圆形生长面积为 35 cm²# 菌落的计数范围 1~100 个" 当菌落数大于 100 个时# 可计数一个或多个具有代表性的方格内的菌落数# 然后换算成单个方格内的菌落数# 再乘以 35 即为测试片上估算的细菌总数" 根据测试片上的菌落数和稀释倍数# 计算每 mL 或每 5 样品中的菌落数" 为分离菌落做鉴定# 可以提起上层膜# 从胶上挑取菌落"

2# 结果与讨论

在对实验结果进行统计分析时# 以下实验数据不计在内# 如果检测结果中有一个数据为离群值# 或者报告(多不可计)# 或者菌落计数与稀释倍数不成比例# 则该实验室所得数据不被采纳" 高浓度污染的样品的菌落总数不参与结果统计# 其原因在于菌落数太高# 超过了可信区间"

采集 100 份食品样品# 包括生肉! 熟肉! 水产品! 调味品! 冰激凌! 原奶! 奶粉和豆制品等 7 类#

取得数千测试数据。分别按照食品的种类对结果进行分类。然后对试样的测试片法与国标法结果进行配对。检验分析结果如表 1 所示。用国标菌落总数测定法和 AOAC PetrifilmTM 测试片法分别检测该类食品样品。其配对检验的 χ^2 值、生肉

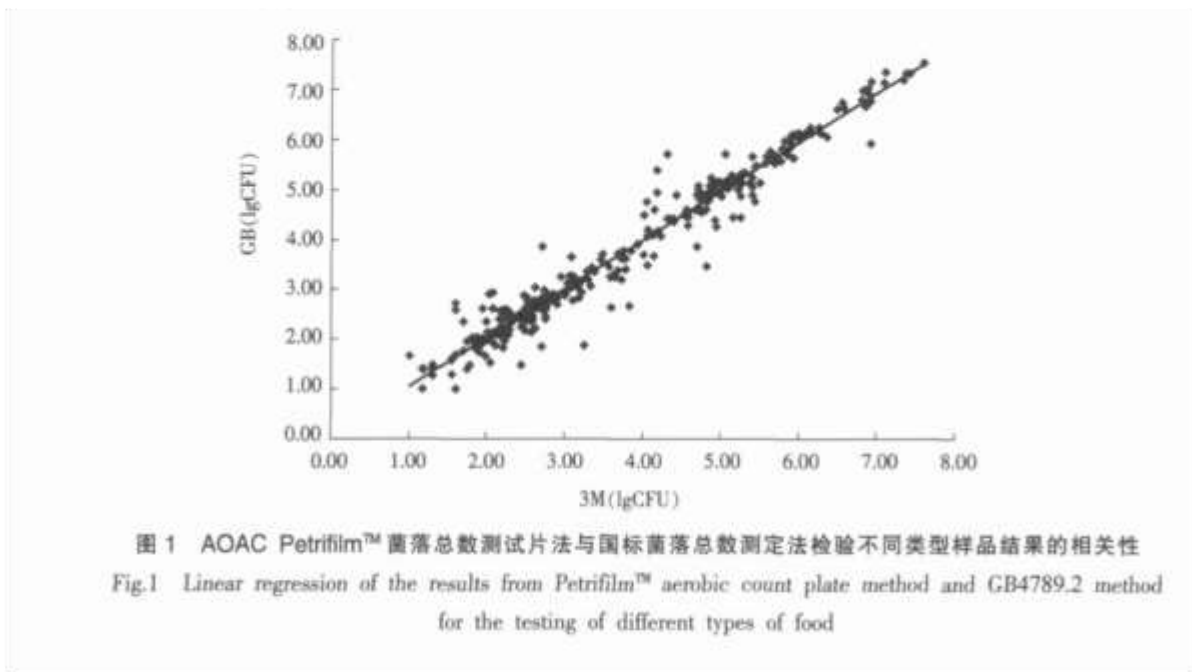
0.12、熟肉 0.33、水产品 0.324、调味品 0.232、冰激凌 0.5、原奶 0.124、奶粉 0.1 和豆制品 0.16。总体样品的 χ^2 值为 0.741。均大于 0.3。说明两种方法的检测结果不存在显著性差异。

表 1 AOAC PetrifilmTM 菌落总数测试片法和国标菌落总数测定法检验不同类型样品结果的统计分析

样品	检验样本数/n	阳性样品的检验 χ^2 值	总体样品的 χ^2 值
生肉	123	0.12	
熟肉	111	0.33	
水产品	126	0.324	
调味品	1	0.232	
冰激凌	61	0.5	0.741
原奶	44	0.124	
奶粉	11	0.1	
豆制品	11	0.16	

AOAC PetrifilmTM 菌落总数测试片法与国标菌落总数测定法的相关性见图 1。可以看出 AOAC PetrifilmTM 菌落总数测试片法与

国标菌落总数测定法检测 73 份样品所得菌落总数的相关系数为 0.433。说明这两种方法有很好的



0 结论

本研究中对于所选定的类未加工和加工食品上述两种方法所得结果无统计学差异。表明 AOAC PetrifilmTM 菌落总数测试片等效于

国标 FG76.402 方法。

由于 AOAC PetrifilmTM 菌落总数测试片是一种预制备的培养基。因此试验中无需人工制备培养基。另外由于测试片上含有冷水可溶性

凝胶!因此无需传统方法中倾倒琼脂的步骤!从而避免了对细菌可能造成的热损伤" 相对于国标 .)/01# 方法!2324 00+1,# 56789:;<=> 法操作简便#结果稳定!具有良好的实用性能"

本研究与国标 ?@.)/01# 法的对比分析结果!证明这两种方法具有等效性" 在食品安全相关领域的实验室!2324 00\$1,# 56789:;<=> 菌落总数测试片法可用于各类食品菌落总数的快速检验"

鉴于 2324 国际方法的严格验证程序! 以及

参 考 文 献

- 1. (4AB6 A: CDE96F9G H8I679G6 :A8 HAJB686B :A8<K;I6 :A8 9F:IF7L IFB DAKFE GC9;B86F 424\N45 --OP\$\$/1
- 2. P(2324 3>2 QA1 00\$!1P 268AR9G 5;I76 4AKF7 9F SAABL T8D N6CDB8I7IR;6 S9;< \$56789:;< 268AR9G 4AKF7 5;I76 >67CAB1
- 3. "(?@)= .)/01#O#++" 菌落总数测定!

!"# \$%&'()*+, -./01 %2 343\$ 5#.)*2*6&17 3#)%8*9 \$%/+. 56:.# ;<."%0= >." ?@ 3<)%8*9 A6B.< C%/+. *+ D%%E=

VK W9FEIF! ?K X3:IFE? YKIFE @IAZKF" V9K W9K<69- [CK Y9CKI\ S""#\$%&' (&)*+,-.#) /&0123)4%& \$&4 56\$*\$\$)#&2 76*2\$6! 8\$9#\$& !!:;< >?&'?\$# @6+1\$9 A2&)2* %* 8#02\$02 A%&)*9 \$&4 C*2D2&#%&! >?&'?\$# E; ;FG: %H\$&*06 C*0#&3+\$9 A2&)2* %* 8#02\$02 A%&)*9 \$&4 C*2D2&#%&! I\$&#&' E<; ;K L!\$)#&\$9 /&0)#6)2 %* I6)*#%& \$&4 M%#4 >\$82)+! A?#&\$ A8A! 72#&#&' <; ;N; 'G@ A?#&\$ "H#P#)24 Q#&\$9#& R%#4 EEE! >?&'?\$# E; ;EGG%

3F=.)BG. 3R26G79]6& =A GAF:A8< 7C6 B676G79FE H8AH687D A: 2324 00\$1,P 56789:;<=> 268AR9G 4AKF7 5;I76 9F :AABL1 >67CABL& =C6 2324 00\$1,P 56789:;<=> 268AR9G 4AKF7 5;I76 <67CABL GA<HI86 J97C 7C6 ?@ .)/01P 268AR9G 5;I76 4AKF7 <67CAB 9F :AABL1 =C686 J686 /.\ :AAB LI<H;6L! 9FG;KB9FE 8IJ <6I7! GAA^6B <6I7! I_KI79G H8ABKG7! GAFB9<6F7! 9G6 O G86I<! 8IJ <9;^! <9;^ HAJB68 IFB R6IF H8ABKG7! R66F IFI;D*6B RD P+ ;IRA8I7A896L :8A< EA]68F<6F7 IFB 9FBKL78D8 N6! LK;7& =C6 86LK;7L LCAJ6B 7C17 7C6 C]I;K6 9L E86I768 7C1F \$i\$!\! FA L9EF9:9GIFG6 B9::686FG6 R67J66F 2324 00\$1,P 56789: ;;<=> 268AR9G 4AKF7 5;I76 <67CAB IFB ?@.)/01P 268AR9G 5;I76 4AKF7 <67CAB1 4AFG;KL9AF& =C6 2324 00\$1,P 56789:;<=> 268AR9G 4AKF7 5;I76 <67CAB 9L 6_K9]I;6F7 7A 7C6 ?@.)/01P 268AR9G 5;I76 4AKF7 <67CAB 9F I; :AABL 76L76B1

H<1 >%)E= I68AR9G H;I76 GAKF7* 56789:;<=> GAKF7 H;I76L* H;I76 GAKF7 IEI8



中国食品学报”变更刊期启事

!中国食品学报”于##\$!年创刊#!\$年来\$刊物的学术质量不断提高\$目前已是\$中国科技核心期刊和中文核心期刊\$被国内外多家权威数据库收录# 为了提高刊物的实效性\$满足广大科研工作者发表科研成果%加快学术交流与同行评价的需要\$让读者在更短时间内了解更多的科研信息\$缩短刊期势在必行#

经北京市新闻出版局批准%京新出报\$#\$(“”)号*\$!中国食品学报”杂志自#+,年-月起\$由双月刊变更为月刊# 欢迎业内广大的科技工作者向我刊踊跃投稿#

!中国食品学报”杂志社
#\$,年-月,日