

SN

中华人民共和国进出口商品检验行业标准

SN 0178—92

出口食品嗜热菌芽孢 (需氧芽孢总数、平酸芽孢和厌氧芽孢) 计数方法

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

1992-12-28 发布

1993-05-01 实施

中华人民共和国国家进出口商品检验局 发布

中华人民共和国进出口商品检验行业标准

出口食品嗜热菌芽孢 (需氧芽孢总数、平酸芽孢和厌氧芽孢) 计数方法

SN 0178—92

代替 ZB X09 007—86

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

1 主题内容与适用范围

本标准规定了出口食品嗜热菌芽孢(需氧芽孢总数、平酸芽孢和厌氧芽孢)的计数方法。
本标准适用于谷物产品和食品配料嗜热菌芽孢计数。其他食品可参照使用。

2 设备和材料

- 2.1 取样工具:刮勺、取样铲等。
- 2.2 带盖样品瓶或容器。
- 2.3 高压蒸汽灭菌锅。
- 2.4 天平:感量 0.01 g。
- 2.5 均质器和 1 000 mL 带盖均质杯。
- 2.6 移液管:容量 1 mL、10 mL(大口径)。
- 2.7 培养皿:内径 90 mm。
- 2.8 250 mL 三角烧瓶:具 100 mL 刻度线。
- 2.9 水浴箱:温度 45~48℃。
- 2.10 酒精灯。
- 2.11 菌落计数器。
- 2.12 培养箱:温度 55±2℃。
- 2.13 蒸汽柜。

3 培养基

- 3.1 葡萄糖胰蛋白胨琼脂。
- 3.2 覆盖琼脂。
- 3.3 改良亚硫酸盐琼脂。
- 3.4 肝汤。

4 样品制备

- 4.1 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 8 000~10 000 r/min 均质

3 min,使成均匀的混悬液。

4.2 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,振摇,使成均匀的混悬液。

4.3 糖:将 20 g 干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 干态糖)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。

5 接种培养和计数

5.1 需氧嗜热芽孢总数

5.1.1 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 融化的葡萄糖胰蛋白胍琼脂(55~60℃)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℃ 保持一定湿度培养 48 h。

5.1.2 糖:于 5 个灭菌培养皿内各放入 2 mL 经热处理的糖溶液,倾入葡萄糖胰蛋白胍琼脂(55~60℃),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℃ 保持一定湿度培养 48 h。

5.1.3 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孢总数。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孢总数。

5.2 平酸芽孢

5.2.1 对上述 5.1.1 和 5.1.2 条中的平板再进行检查。计数平板上直径 1~5 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胍琼脂平板上,以证实表面菌落的特征。

5.2.2 样品中平酸芽孢的计算同上述 5.1.3 条。

5.3 产硫化氢厌氧芽孢

5.3.1 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℃,并在此温度下培养 48 h。

5.3.2 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,无明显气体产生。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孢数。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孢数。

5.4 不产硫化氢厌氧芽孢

5.4.1 将 20 mL 样品混悬液分装于 6 支刚刚排气的肝汤试管内。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℃ 灭菌覆盖琼脂,厚度 5~6 cm。待琼脂凝固后,预热试管至 55℃,并在此温度下培养 48~72 h。

5.4.2 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孢数表示结果。