

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4544.1—2016

商品化试剂盒检测方法 菌落总数 方法一

Commercial kit method—Aerobic count—Test method I

2016-08-23 发布

2017-03-01 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

本部分是 SN/T 4544 的第 1 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分起草单位：中华人民共和国福建出入境检验检疫局、北京陆桥技术有限责任公司、中华人民共和国绍兴出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：林杰、郑晶、黄晓蓉、陈彬、董健、柯璐、戴晓丽、任明兴。

商品化试剂盒检测方法

菌落总数 方法一

1 范围

本部分规定了食品中菌落总数检验测试片(Easy Test™ Aerobic Count)的检测方法。

本部分适用于肉类、鱼类和海产品、水果和蔬菜制品、乳制品和杂品等食品种类中菌落总数的测定。

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 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 27403 实验室质量控制规范 食品分子生物学检测

SN/T 2775—2011 商品化食品检测试剂盒评价方法

SN/T 3266—2012 食品微生物检验方法确认技术规范

3 生物安全措施

为了保护实验室人员的安全和防止污染,应由具备资格的工作人员检测菌落总数。所有培养物和废弃物应按照 GB 19489 和 GB/T 27403 中的有关规定执行。

4 技术概要

菌落总数测试片(Easy Test™ Aerobic Count)是一种预先制备好的培养基系统,含有标准的培养基和氧化三苯四氮唑(TTC)指示剂,菌落在测试片上呈红色或粉红色,这样可增强菌落计数效果。

5 试剂和材料

5.1 菌落总数测试片(Easy Test™ Aerobic Count)

本部分使用的试剂盒由北京陆桥技术有限责任公司生产,参考 SN/T 2775—2011 和 SN/T 3266—2012 由国家认监委商品化食品检测试剂盒评价专家委员会组织评价。具体评价结果参见附录 A。

试剂盒储存于 2℃~8℃,有效期 6 个月。试剂盒内测试片使用前应该回温到室温。

5.2 磷酸盐缓冲液(PBS)

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 NaOH 溶液调节 pH,用蒸馏水稀释至 1 000 mL 后贮存于冰箱。

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。

5.3 1 mol/L NaOH

称取 40 g NaOH 溶于 1 000 mL 蒸馏水中。

5.4 1 mol/L HCl

移取浓盐酸 90 mL,用蒸馏水稀释到 1 000 mL。

6 仪器和设备

6.1 冰箱:2 °C~8 °C。

6.2 均质器。

6.3 移液管:1 mL(具 0.01 mL 刻度),10 mL(具 0.1 mL 刻度)或移液器及吸头。

6.4 恒温培养箱:36 °C±1 °C 和 30 °C±1 °C。

6.5 天平:感量为 0.1 g。

7 检测程序

菌落总数测试片(Easy Test™ Aerobic Count)检测方法程序见图 1。

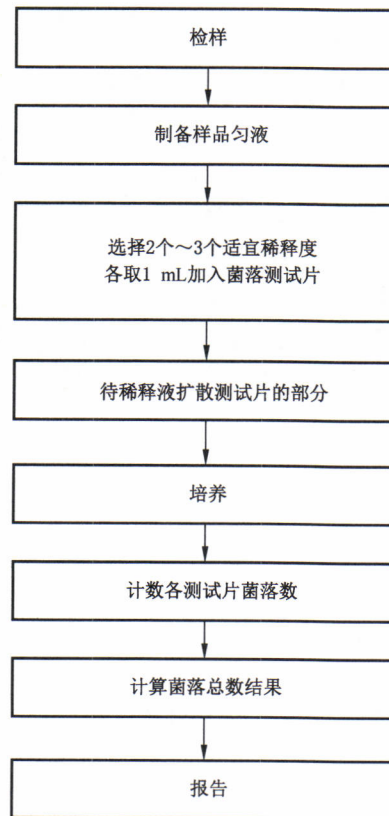


图 1 菌落总数测试片(Easy Test™ Aerobic Count)检测方法程序

8 操作步骤

8.1 样品制备、增菌培养

按照 GB 4789.2 方法进行样品制备。制备 1 : 10 的样品匀液后,无菌操作调节该样品匀液的 pH 为 6.6~7.2,酸性样液用 1 mol/L NaOH 调节,碱性样液用 1 mol/L HCl 调节,或根据产品标准规定的酸碱溶液来调节 pH 值。

8.2 样品稀释

按 GB 4789.2 的程序进行,培养基为菌落总数测试片(Easy Test™ Aerobic Count)。

8.3 接种

根据食品卫生标准要求或对本污染情况的估计,选择 2 个~3 个适宜稀释度检验。将测试片置于平坦表面处,揭开上层膜,用吸管或者移液器吸取某一稀释度的 1 mL 样液,垂直加在测试片的中央处,将上层膜盖下,待稀释液扩散后放入培养箱培养。每个稀释度接种两张测试片,每张 1 mL。

8.4 培养

将测试片的透明面朝上,水平置于培养箱内,可堆叠至 30 片,36 °C ± 1 °C 条件下培养 48 h ± 2 h,水产品 30 °C ± 1 °C 培养 72 h ± 2 h;如有产品标准等特殊要求,则按相应的标准或要求进行。

8.5 菌落计数和记录

8.5.1 到培养时间后应立即计数,计数红色菌落。

8.5.2 菌落计数和记录的规则同 GB 4789.2。

8.6 菌落计数说明

8.6.1 不论菌落大小都应计数。

8.6.2 当细菌浓度很高时,整个测试片会变成红色或粉红色,将结果记录为“多不可计”。

8.6.3 本测试片有 20 个等分方格,当菌落数量过多计数困难时,可选择几个有代表性菌落的小方格,计算平均菌落数,再乘以相应倍数,即可得到整个测试片上的估算菌落数。

9 结果判定和报告

结果判定和报告的规则同 GB 4789.2。

附录 A
(资料性附录)

菌落总数测试片(Easy Test™ Aerobic Count)评价结果¹⁾

A.1 线性和准确度

见表 A.1 和表 A.2。

表 A.1 测试片方法和参考方法(GB 4789.2—2010)的线性关系

食品种类	食品基体	线性方程	相关系数(R^2)	T 检验值
肉类	冻猪肉	$y=1.0453x-0.0805$	0.9891	0.205
	冻鸡肉	$y=1.0396x-0.0152$	0.9825	0.362
	油炸腿排	$y=0.9857x+0.1639$	0.9839	0.371
鱼类和海产品	沙尖鱼	$y=0.9829x+0.1499$	0.9984	0.275
	章鱼	$y=0.9933x-0.0204$	0.9985	0.159
	烤鳗	$y=0.9768x+0.0641$	0.9984	0.086
水果和蔬菜制品	青刀豆	$y=0.9976x+0.1775$	0.9827	0.570
	萝卜丝	$y=0.9352x+0.268$	0.9701	0.230
	腰果	$y=0.9926x+0.1078$	0.9792	0.275
	果粒橙	$y=1.0666x-0.3503$	0.9933	0.336
乳制品	牛奶	$y=1.0221x-0.1142$	0.9941	0.108
	羊奶片	$y=0.9965x+0.0224$	0.9976	0.030
	婴儿配方奶粉	$y=0.9662x+0.2471$	0.9878	0.408
杂品	面条	$y=0.9763x+0.0883$	0.9947	0.020
	蜂蜜	$y=1.0017x-0.0183$	0.9973	0.040
	干白葡萄酒	$y=0.9768x+0.5507$	0.9936	1.562

注: $T_{0.05(16)}=2.131$

表 A.2 5类食品种类的线性方程

食品种类	Log 值范围	线性方程	相关系数(R^2)
肉类	2.08~4.59	$y=1.0249x+0.0165$	0.9839
鱼类和海产品	2.85~5.28	$y=0.9763x+0.0978$	0.9938
水果和蔬菜制品	2.08~4.68	$y=1.0136x-0.1115$	0.9697
乳制品	2.28~4.76	$y=0.9686x+0.1707$	0.9893

1) 本评价结果仅适用于北京陆桥技术有限责任公司生产的菌落总数测试片(Easy Test™ Aerobic Count)。

表 A.2 (续)

食品种类	Log 值范围	线性方程	相关系数(R^2)
杂品	2.08~5.05	$y=0.9101x+0.468$	0.9314
所有食品		$y=0.9793x+0.1145$	0.9659
注: y ——测试片法菌落数的对数值。 x ——参考方法菌落数的对数值。			

A.2 耐变性

选用两个污染水平纯牛奶样品对培养温度和培养时间两个变量进行耐变性试验,经验证培养温度选择 35 °C 和 37 °C,培养时间选择 45 h 和 51 h 对检测结果的标准偏差与在重复性条件下得到的标准偏差没有明显差别,表明说明书中对培养温度 36 °C \pm 1 °C 和培养时间 48 h \pm 3 h 的耐变性范围不影响检测结果,见表 A.3。

表 A.3 耐变性试验结果

实验条件	菌株添加水平	测试结果(LOG 值)					平均值	Sr
		1	2	3	4	5		
37 °C, 51 h	高浓度	3.89	3.96	3.98	3.94	3.88	3.93	0.044
	低浓度	2.93	3.00	2.91	2.95	2.88	2.93	0.044
37 °C, 45 h	高浓度	3.93	3.93	3.88	3.96	3.92	3.93	0.030
	低浓度	2.96	2.88	2.90	2.92	2.91	2.92	0.029
35 °C, 51 h	高浓度	3.94	3.97	3.89	3.93	3.91	3.93	0.029
	低浓度	2.93	2.90	2.96	2.91	2.91	2.92	0.026
35 °C, 45 h	高浓度	3.95	3.94	3.89	3.92	3.91	3.92	0.026
	低浓度	2.92	2.93	2.94	2.90	2.91	2.92	0.018

A.3 批间变异

取 3 个不同批号测试片对两个污染浓度奶粉样品进行批间变异实验,三个不同批号测试片测试结果的标准偏差与在重复性条件下得到的标准偏差没有明显差别,说明不同批号产品无明显差异,见表 A.4。

表 A.4 批间变异试验结果

菌株浓度	批号	测定结果					Mean	Sr	RSD/%
		1	2	3	4	5			
高浓度	110609TC	3.27	3.27	3.27	3.24	3.29	3.27	0.018	0.56
	110223TC	3.29	3.26	3.26	3.24	3.24	3.26	0.020	0.61
	110715TC	3.28	3.26	3.26	3.25	3.25	3.26	0.010	0.32
	总平均值	3.26		总 Sr		0.02			

表 A.4 (续)

菌株浓度	批号	测定结果					Mean	Sr	RSD/%
		1	2	3	4	5			
低浓度	110609TC	2.28	2.26	2.28	2.28	2.28	2.27	0.011	0.46
	110223TC	2.26	2.23	2.32	2.28	2.20	2.26	0.045	2.01
	110715TC	2.28	2.32	2.28	2.28	2.23	2.28	0.032	1.43
	总平均值		2.27			总 Sr		0.03	

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
商品化试剂盒检测方法
菌落总数 方法一
SN/T 4544.1—2016

*

中国标准出版社出版
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
总编室:(010)68533533
网址 www.spc.net.cn

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 14 千字
2017年10月第一版 2017年10月第一次印刷
印数 1—500

*

书号: 155066·2-32119 定价 16.00 元



SN/T 4544.1—2016