

团 体 标 准

T/CBIA 005—2019

饮料中微生物的检验 (滤膜前处理法)

2019-01-01 发布

2019-01-01 实施



中国饮料工业协会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国饮料工业协会提出。

本标准由中国饮料工业协会团体标准技术工作委员会归口。

本标准起草单位：中国饮料工业协会技术工作委员会、广东省微生物研究所、康师傅饮品控股有限公司、可口可乐饮料(上海)有限公司、青岛崂山矿泉水有限公司、农夫山泉股份有限公司、杭州科百特过滤器材有限公司、浙江泰林生物技术股份有限公司、内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司。

本标准主要起草人：刘元、郭伟鹏、周炯、张峻炎、王达、徐胜、蓝晓敏、沈志林、武薇。

饮料中微生物的检验 (滤膜前处理法)

1 范围

本标准规定了饮料(饮用天然矿泉水除外)中菌落总数、大肠菌群、霉菌和酵母的膜过滤方法,是GB 4789.2—2016、GB 4789.3—2016、GB 4789.15 方法的补充。

本标准适用于可过滤样品的测定。

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 4789.1—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则
- GB 4789.2—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定
- GB 4789.3—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数
- GB 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

可过滤样品 **filtrable sample**

可在一定时间内通过滤膜过滤的样品原液或稀释液。包括可完全过滤的液体饮料样品,稀释后可完全过滤的饮料浓浆样品和溶解后可完全过滤的固体饮料样品。

4 原理

滤膜是一种微孔薄膜,当一定量的样液通过滤膜时,细菌、霉菌和酵母等微生物被截留在滤膜上。然后将滤膜贴于相应的培养基上培养,计数滤膜上生长的菌落数并进行相应确认试验,即可相应测得该样品的菌落总数、大肠菌群、霉菌和酵母等微生物数量。

5 实验室要求

应符合 GB 4789.1—2016 中第 2 章的规定。

6 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料要求如下:

6.1 无菌滤膜:微孔薄膜,直径 47 mm 或 50 mm,孔径为 0.45 μm (根据过滤样品的特性选择适宜材质的膜片)。

- 6.2 过滤装置。
- 6.3 真空泵或隔膜泵等。
- 6.4 抽滤瓶或废液瓶。
- 6.5 拍击式均质器及均质袋。
- 6.6 电子天平:感量 0.1 g。
- 6.7 无菌平头镊子。
- 6.8 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度),10 mL(具 0.1 mL 刻度)或其他可精确刻度的无菌量器及吸头。
- 6.9 无菌瓶:容量 500 mL。
- 6.10 无菌培养皿:直径 50 mm~90 mm。
- 6.11 恒温培养箱:36 °C±1 °C,28 °C±1 °C。
- 6.12 恒温水浴箱:46 °C±1 °C。

7 培养基和试剂

应符合 GB 4789.2—2016、GB 4789.3—2016、GB 4789.15 的相关规定。

8 检验程序

检验程序见图 1。

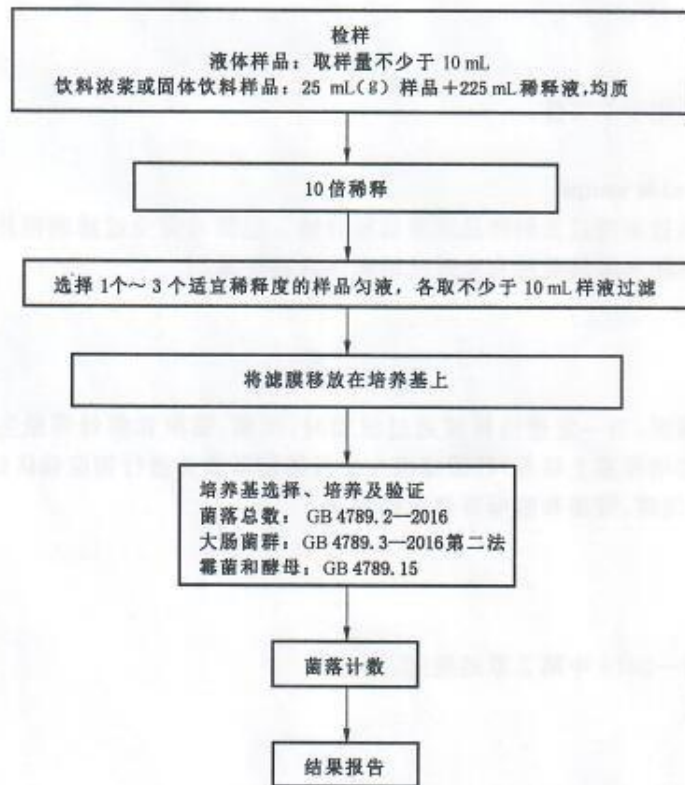


图 1 检验程序

9 操作步骤

9.1 样品的制备

9.1.1 液体样品:混匀,待用。

9.1.2 饮料浓浆和固体饮料样品:取 25 mL(g)样品置盛有 225 mL 无菌磷酸盐缓冲液或无菌生理盐水(霉菌和酵母可用无菌蒸馏水)的无菌均质袋中,用拍击式均质器拍打 1 min~2 min,制成 1:10 的样品匀液。

9.1.3 根据对样品污染状况的估计,选择 1 个~3 个适宜稀释度的样品匀液(液体样品可为原液)抽滤检验,每份样品的过滤量不少于 10 mL。

9.2 过滤

9.2.1 将已灭菌的过滤装置连接,用无菌平头镊子夹取无菌滤膜边缘部分,正面向上,贴放在已灭菌的滤床上,放上无菌滤杯并固定。

9.2.2 无菌吸取不少于 10 mL 待测样液至滤杯内,进行抽滤,当样液全部过滤后,使用不少于 15 mL 无菌稀释液至滤杯。抽滤完成后取下滤杯,用无菌平头镊子移取滤膜。

9.2.3 将滤膜截留微生物面向上贴于相应的培养基平板上,平铺并避免在滤膜和培养基之间产生气泡。

9.2.4 使用的无菌稀释液应进行空白对照。

9.3 培养与验证

9.3.1 菌落总数参照 GB 4789.2—2016 执行。

9.3.2 大肠菌群参照 GB 4789.3—2016 第二法执行。

9.3.3 霉菌和酵母参照 GB 4789.15 执行。

10 结果与报告

10.1 计算方法

10.1.1 若有两个连续稀释度的平板菌落数在适宜计算范围内时,按照 GB 4789.2—2016 中 7.1.2 执行。

10.1.2 平板上的数值乘以相应稀释倍数,作为每毫升(克)样品中菌落总数、大肠菌群、霉菌和酵母的结果。

10.1.3 菌落总数和大肠菌群应选取菌落数在 100 CFU 以内无蔓延菌落生长的平板计数;霉菌和酵母应选取菌落数在 50 CFU 以内无蔓延菌落生长的平板计数。以过滤膜片上的菌落数记为检验结果,若所有稀释度的样品(包括液体样品原液)滤膜上均无菌落生长,则记录为: <1 乘以最低稀释倍数。

10.1.4 当滤膜上有较大片状菌落生长时,则此平板结果不宜采用,而应以无片状菌落生长的平板记录菌落数;若片状菌落不到平板的一半,而其余一半中菌落分布又很均匀,即可计算半个平板后乘以 2,代表一个平板菌落数;细菌大于 100 CFU 的可记录为多不可计,霉菌和酵母菌大于 50 CFU 的可记录为多不可计。

10.1.5 当滤膜上出现菌落间无明显界限的链状生长时,则将每条单链作为一个菌落计数。

10.2 报告

10.2.1 菌落总数和大肠菌群的报告：

- a) 若滤膜上均无菌落生长,则结果报告为小于 1 CFU/mL(g)。
- b) 若计算的菌落数小于或等于食品安全标准的 m ¹⁾ 要求,则结果报告为实测值或小于等于 m 。
- c) 若计算的菌落数大于食品安全标准的 m 要求,则应重新按照 GB 4789.2—2016、GB 4789.3—2016 相应检验计数方法进行检验。

10.2.2 霉菌和酵母的报告：

- a) 若滤膜上均无菌落生长,则结果报告为小于 1 CFU/mL(g)。
- b) 若计算的菌落数小于或等于食品安全标准的限量要求,则结果报告为实测值或小于等于该限量值。
- c) 若计算的菌落数大于食品安全标准的限量要求,则应重新按照 GB 4789.15 相应检验方法进行检验。

10.2.3 若空白对照有菌落生长,则此次检验结果无效。

10.2.4 称重取样以克(g)为单位报告,体积取样以毫升(mL)为单位报告。

注：检验结果报告可参见附录 A。

11 其他

使用滤膜前处理法检验饮料中微生物,应定期按照相应的食品安全国家标准规定的方法进行比对。

1) m 是指微生物指标可接受水平限量值(三级采样方案)或最高安全限量值(二级采样方案)。

附录 A
(资料性附录)
检验结果报告示例

A.1 以液体饮料中“菌落总数”检验结果进行举例。若某产品菌落总数限量要求如表 A.1。

表 A.1 菌落总数限量

项目	采样方案及限量			
	n	c	m	M
菌落总数/[(CFU/g)或(CFU/mL)]	5	2	80	10^4

A.2 若抽滤液体原液为 10 mL, 滤膜上无菌落生长, 则检验结果为 <1 CFU/10 mL, 结果报告为 <1 CFU/mL。

A.3 若抽滤液体原液为 10 mL, 计算的菌落数为 78 CFU (小于 m 值), 则检验结果为 78 CFU/10 mL, 结果报告为 78 CFU/10 mL 或 ≤ 80 CFU/mL。

A.4 若抽滤液体原液为 10 mL, 计算的菌落数为 90 CFU (大于 m 值), 则检验结果为 90 CFU/10 mL。此种情况下, 应按照相应的食品安全国家标准规定的方法进行检验、报告。

C B I A

团 体 标 准
饮料中微生物的检验
(滤膜前处理法)

T/CBIA 005—2019

*

中国标准出版社出版发行
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)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 12 千字
2018年12月第一版 2018年12月第一次印刷

*

书号: 155066·2-33834 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



T/CBIA 005—2019