

团 体 标 准

T/CBIA ×××-201×

饮料中微生物的检测（滤膜前处理法）

Beverage microbiological examination
(membrane filtration method)

201×-××-××发布

201×-××-××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：

本标准主要起草人：

饮料中微生物的检测（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、霉菌和酵母计数、大肠菌群计数的膜过滤测定、计数方法。

本标准适用于可过滤样品的测定。

本标准可作为平板计数检测方法稀释度选择的补充方法。

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 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则

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 4789.3 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

GB 7101 食品安全国家标准 饮料

GB 8538 食品安全国家标准 饮用天然矿泉水检验方法

SN 1607 进出口饮料中菌落总数、大肠菌群、粪大肠菌群、大肠杆菌计数方法 疏水栅格滤膜法

中华人民共和国药典 2015 年版

3 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、霉菌和酵母、大肠菌群等微生物数量。

4 定义

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。

可过滤样品包括可完全过滤的液体饮料样品和可完全溶解过滤的溶解稀释后的固体饮料、饮料浓浆样品。

可过滤液体饮料样品取样量不少于 10mL；可完全溶解稀释的固体饮料、饮料浓浆样品溶解后检测量不少于 10mL。

5 实验室要求

应符合 GB 4789.1 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，其它设备和材料如下：

- 6.1 无菌滤膜：微孔薄膜，直径 47mm~50mm，孔径为 0.45 μ m（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 恒温培养箱：36 \pm 1 $^{\circ}$ C，28 \pm 1 $^{\circ}$ C。
- 6.5 抽滤瓶或废液瓶。
- 6.6 无菌无齿镊子。
- 6.7 天平：感量 0.1g。
- 6.8 均质器。
- 6.9 无菌吸管：1mL（具 0.01mL 刻度），10mL（具 0.1mL 刻度）或微量移液器及吸头。
- 6.10 无菌瓶：容量 500mL。
- 6.11 无菌培养皿：直径 50mm~90mm。

7 培养基和试剂

符合 GB 4789.2、GB 4789.3、GB 4789.15 的相关规定。

8 检验程序

检验程序见图 1。

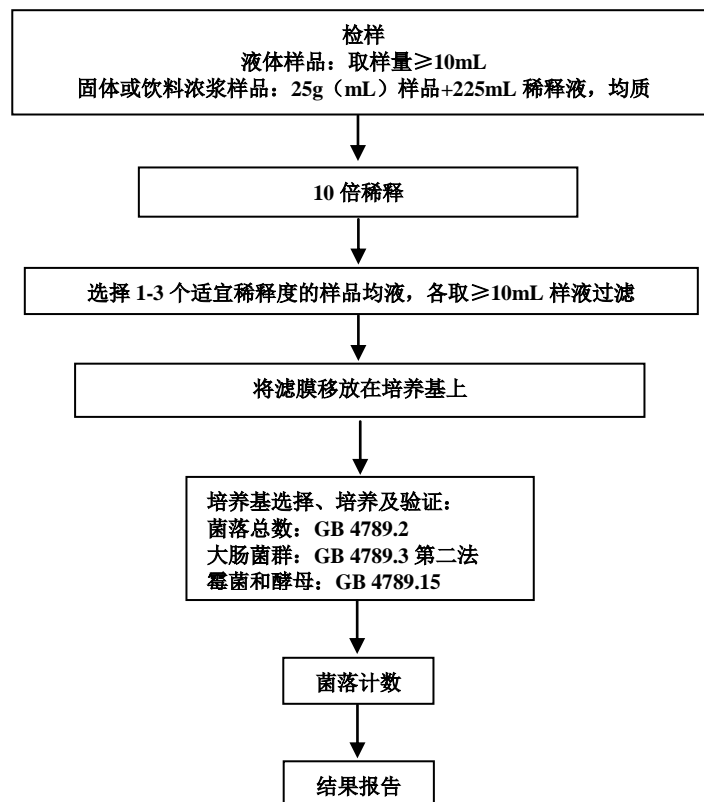


图 1 检验程序

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 固体饮料和饮料浓浆样品：称取 25g(mL)样品置盛有 225mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌均质杯内，8000r/min~10000r/min 均质 1min~2min，或放入盛有 225mL 稀释液的无菌均质袋中，用拍击式均质器拍打 1min~2min，制成 1:10 的样品均液。

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

9.2 过滤

9.2.1 将灭菌的过滤装置连接，用无菌无齿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 10mL 待测样至滤杯内，打开真空泵或隔膜泵电源进行抽滤，当全部样液过滤后，使用不少于 15mL 磷酸盐缓冲液或无菌生理盐水至滤杯，抽滤。抽滤完成后关闭真空泵或隔膜泵电源，取下滤杯，用无菌镊子移取滤膜。

9.2.3 将正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 每批次使用的磷酸盐缓冲液或无菌生理盐水需进行空白对照试验。

9.3 培养与验证

9.3.1 菌落总数参照 GB 4789.2 执行

9.3.2 大肠菌群计数参照 GB 4789.3 第二法执行。

9.3.3 霉菌和酵母参照 GB 4789.15 执行。

10 结果报告

10.1 计算方法

10.1.1 选取菌落数在 150CFU 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测结果，若所有稀释度的样品（包括液体样品原液）平板上均无菌落生长，则记录为：<1 乘以最低稀释倍数。

10.1.2 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；大于 150CFU 的可记录为多不可计。

10.1.3 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。

10.1.4 当滤膜边缘或平板上有菌生长时，不计入菌落数。

10.2 报告

10.2.1 若滤膜上均无菌落生长，则结果报告为<1CFU/mL (g)。

10.2.2 若滤膜上的菌落数<食品安全标准的 m 要求，则结果报告为实测值或<m。

10.2.3 若滤膜上的菌落数>食品安全标准的 m 要求，则需重新按照 GB 4789 相应检验计数方法进行实验。

10.2.4 若空白对照有菌落生长，则此次检测结果无效；

10.2.5 若膜片以外的培养基平板上有菌落生长，则存在检测污染，此次检测结果无效；

10.2.6 称重取样以 CFU/g 为单位报告，体积取样以 CFU/mL 为单位报告。

11 其他

使用滤膜前处理法检测饮料中微生物，应定期按照 GB 4789 对应的方法进行比对。

附录 A
(资料性附录)
检测结果报告示例

A.1 以液体饮料中“菌落总数”检测结果进行举例。GB 7101《食品安全国家标准 饮料》中关于“菌落总数”的规定如表 A1:

表 A1 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	10 ²	10 ⁴

A.2 若抽滤液体原 10mL，滤膜上无菌落生长，则检测结果为 <1CFU/10mL，结果报告为 <1CFU/mL;

A.3 若抽滤液体原液 10mL，滤膜上菌落数小于 m 值 (如 78CFU)，则检测结果为 78CFU/10mL，结果报告为 78CFU/10mL 或 <100CFU/mL;

A.4 若抽滤液体原液 10mL，滤膜上菌落数 105CFU，则检测结果为 105CFU/10mL，结果报告为 >100CFU/mL。此种情况下，需按照 GB4789 对应方法进行检测、报告。