ICS 67.050
CCS X 22

JAASS

团　　体　　标　　准

T/JAASS ×-××××

禽肉胴体菌落总数的测定

Determination of aerobic plate count in poultry carcass

2021－××－××发布　　2021－××－××实施

江苏省农学会　发 布

目　　次

前　　言.....II
1 范围.....1
2 规范性引用文件.....1
3 术语和定义.....1
4 设备和材料.....1
5 培养基和试剂.....2
6 检验程序.....2
7 操作步骤.....2
7.1 样品匀液的制备.....2
7.2 样品的接种培养.....3
7.3 菌落计数.....3
8 结果与报告.....3
8.1 菌落计数的计算方法.....3
8.2 菌落总数的报告.....4
附录 A（资料性）培养基和试剂.....5
A.1 平板计数琼脂(plate count agar，PCA)培养基.....5
A.2 无菌生理盐水.....5

前　　言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》给出的规则编写。

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专利的责任。

本文件由江苏省农业科学院提出。

本文件由江苏省农学会归口。

本文件起草单位：江苏省农业科学院。

本文件主要起草人：孙芝兰、王道营、刘芳、张新笑、卞欢、王德宝、诸永志、徐为民。

禽肉胴体菌落总数的测定

1 范围

本文件规定了规定了禽肉胴体菌落总数计数的方法 。

本文件适用于适用于禽肉胴体菌落总数的测定。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

禽肉胴体 Poultry carcass

经过宰前检验、去内脏、清洗、检验等一系列工序后的整个禽肉产品和经过分割、修剪等工序后的禽肉分部位产品。

3.2

菌落总数 Aerobic plate count

禽肉胴体经过处理，在一定条件下（如培养基、培养温度和培养时间等）培养后，所得每 g 样品中形成的微生物菌落总数。

4 设备和材料

4.1 灭菌设备：高压蒸汽灭菌锅

4.2 恒温培养箱：37°C ±1°C

4.3 冰箱：2°C~5°C

4.4 恒温水浴箱：47°C±1°C

4.5 天平：感量为 0.01 g

4.6 均质器

4.7 振荡器

4.8 恒温摇床：37°C±1°C，200 r/min±10 r/min

4.9 无菌吸管：1 mL（具 0.01 mL 刻度）、10 mL（具 0.1 mL 刻度）或微量移液器无菌吸头

4.10　无菌锥形瓶：容量 100 mL、250 mL

4.11　无菌培养皿：直径 90 mm

4.12　无菌试管

4.13　pH 计

4.14　放大镜或/和菌落计数器

5　培养基和试剂

5.1　平板计数琼脂培养基：见附录 A.1

5.2　无菌生理盐水：见附录 A.2

6　检验程序

禽胴体菌落总数的检验程序详见图1。

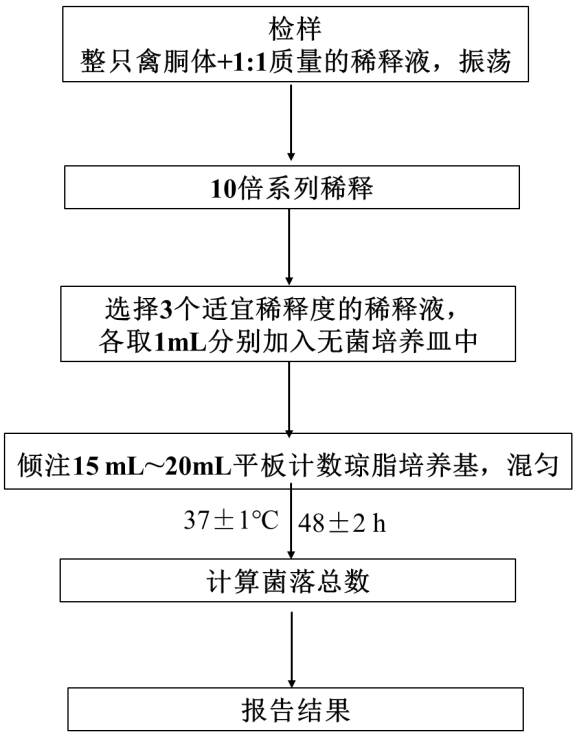

图1　禽胴体菌落总数的检验程序

7　操作步骤

7.1　样品匀液的制备

7.1.1　将整只禽胴体称重，加入到无菌的取样袋中，并加入与禽胴体 1:1 质量的无菌生理盐水。将无菌取样袋置于恒温摇床中，37°C 200 r/min 振荡 10 min，制成 1:2 的样品匀液。

7.1.2　用 1 mL 无菌吸管或微量移液器吸取 1:2 样品匀液 1 mL，加入盛有 9 mL 灭菌生理盐水的无菌试管中，振荡试管或换用 1 支无菌吸管反复吹打使其混合均匀，制成 1:200 的样品匀液。更高稀释度的样品匀液均按此方法操作。

7.2　样品的接种培养

7.2.1　根据对样品污染状况的估计，选择 3 个适宜稀释度的样品匀液，吸取 1 mL 样品匀液于无菌平皿内，每个稀释度做两个平皿。同时，分别吸取 1 mL 空白稀释液加入两个无菌平皿内作空白对照。

7.2.2　将 15 mL~20 mL 冷却至 46°C 的平板计数琼脂培养基（可放置于 46°C±1°C 恒温水浴箱中保温）倾注平皿，并转动平皿使其混合均匀。

7.2.3　待琼脂凝固后，将平板翻转，37°C±1°C 培养 48 h±2 h。

7.3　菌落计数

7.3.1　可用肉眼观察，必要时用放大镜或菌落计数器，记录稀释倍数和相应的菌落数量。菌落计数以菌落形成单位（colony-forming units，CFU）表示。

7.3.2　选取菌落数在 30 CFU~300 CFU 之间、无蔓延菌落生长的平板计数菌落总数。低于 30 CFU 的平板记录具体菌落数，大于 300 CFU 的可记录为多不可计。每个稀释度的菌落数应采用两个平板的平均数。

7.3.3　其中一个平板有较大片状菌落生长时，则不宜采用，而应以无片状菌落生长的平板作为该稀释度的菌落数；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。

7.3.4　当平板上出现菌落间无明显界线的链状生长时，则将每条单链作为一个菌落计数。

8　结果与报告

8.1　菌落计数的计算方法

8.1.1　若只有一个稀释度平板上的菌落数在适宜计数范围内，计算两个平板菌落数的平均值，再将平均值乘以相应稀释倍数，作为每 g 样品中菌落总数结果。

8.1.2　若有两个连续稀释度的平板菌落数在适宜计数范围内时，按式（1）计算：

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1 n_2) d} \qquad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

式中：

N—样品中菌落数；

C—平板（含适宜范围菌落数的平板）菌落数之和；

n_1—第一稀释度（低稀释倍数）平板个数；

n_2—第二稀释度（高稀释倍数）平板个数；

d—稀释因子（第一稀释度）。

示例：

稀释度	1:200	1:2000
菌落数（CFU）	254，262	32，36

$$N=\frac{\sum C}{(n_1+0.1n_2)d}=\frac{254+262+32+36}{(2+0.1\times 2)\times 1/2\times 10^{-2}}$$

上述数据按8.2.2数字修约后，表示为53000或5.3×10^4。

8.1.3　若所有稀释度的平板上菌落数均大于 300 CFU，则对稀释度最高的平板进行计数，其他平板可记录为多不可计，结果按平均菌落数乘以最高稀释倍数计算。

8.1.4　若所有稀释度的平板菌落数均小于 30 CFU，则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

8.1.5　若所有稀释度（包括液体样品原液）平板均无菌落生长，则以小于 1 乘以最低稀释倍数计算。

8.1.6　若所有稀释度的平板菌落数均不在 30 CFU~300 CFU 之间，其中一部分小于 30 CFU 或大于 300 CFU 时，则以最接近 30 CFU 或 300 CFU 的平均菌落数乘以稀释倍数计。

8.2　**菌落总数的报告**

8.2.1　菌落数小于 100 CFU 时，按“四舍五入”原则修约，以整数报告。

8.2.2　菌落数大于或等于 100 CFU 时，第 3 位数字采用“四舍五入”原则修约后，取前 2 位数字，后面用 0 代替位数；也可用 10 的指数形式来表示，按“四舍五入”原则修约后，采用两位有效数字。

8.2.3　若所有平板上为蔓延菌落而无法计数，则报告菌落蔓延。

8.2.4　若空白对照上有菌落生长，则此次检测结果无效。

8.2.5　结果以 CFU/g 为单位报告。

附　录　A
（资料性）
培养基和试剂

A.1 平板计数琼脂(plate count agar，PCA)培养基

A.1.1 成分

A.1.1.1 胰蛋白胨 5.0 g

A.1.1.2 酵母浸膏 2.5 g

A.1.1.3 葡萄糖 1.0 g

A.1.1.4 琼脂 15.0 g

A.1.1.5 蒸馏水 1000 mL

A.1.2 制法

将上述成分加于蒸馏水中，煮沸溶解，调节pH至7.0±0.2。分装试管或锥形瓶，121°C高压灭菌15 min。

A.2 无菌生理盐水

A.2.1 成分

A.2.1.1 氯化钠 8.5 g

A.2.1.2 蒸馏水 1000 mL

A.2.2 制法

称取 8.5 g 氯化钠溶于 1000 mL 蒸馏水中，121°C 高压灭菌 15 min。

T/JAASS ×-2021

江苏省农学会团体标准

《禽肉胴体菌落总数的测定》

2021年××月第一版　　2021年××月第一次印刷

版权专有　不得翻印