



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 0168—2015  
代替 SN 0168—1992

---

## 进出口食品中菌落总数计数方法

The aerobic plate counts in foods for import and export

2015-02-09 发布

2015-09-01 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准主要参考美国食品和药物管理局(FDA)《细菌学分析手册》第八版第三章(2001年)。

本标准代替 SN 0168—1992《出口食品平板菌落计数》。

本标准与 SN 0168—1992 相比,主要变化如下:

- 将原标准名称《出口食品平板菌落计数》修订为《进出口食品菌落总数计数方法》,英文名称也做了相应的修改;
- 按照 GB/T 1.1—2000《标准化工作导则 第1部分:标准的结构和编写》规则增加了“术语和定义”“数字修约和计算”等标准编写要素及相关内容;
- 5.1 中的样品制备程序对原标准有所改动;
- APC 的计算方法和计算公式做了修改。

本标准由国家认证认可监督委员会提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国河南出入境检验检疫局、中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局、中华人民共和国山东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:苗丽、马艳艳、张子宏、李轲、杨娜、卢兴安、雷质文、李志培。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- SN 0168—1992。

# 进出口食品中菌落总数计数方法

## 1 范围

本标准规定了进出口食品中需氧菌及兼性厌氧菌的菌落总数计数方法。

本标准适用于各种进出口食品及其原料,有专门规定检验方法的除外。其他产品可参考使用本标准。

## 2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 2.1

**菌落总数 aerobic plate counts; APC**

食品检样经过处理,在一定条件(如合适的培养基、温度、时间等)下培养后,所得 1 mL(或 1 g)检样形成菌落的总数。本标准规定的培养条件下所得的结果,只包括一群在平板计数琼脂上生长发育的嗜中温需氧菌的菌落总数。

注:菌落总数是指产品中所有需氧微生物含量的高低,是衡量产品受污染程度的一项重要指标。

### 2.2

**估计值 estimation of aerobic plate counts; EAPC**

平板菌落计数的估计值。

### 2.3

**菌落形成单位 colony-forming units; CFU**

一个细菌在平板计数琼脂培养基上生长形成肉眼可见的菌落。

### 2.4

**多不可计 too numerous to count; TNTC**

平板上的菌落数太多而无法计数。

### 2.5

**实验室事故 laboratory accident; LA**

实验过程污染等导致结果无效的情况。

## 3 环境、设备和材料

3.1 环境要求:实验室环境要求干净、光照充足、通风良好,工作台要平稳且台面面积足够大。需定期对工作区域内空气中的微生物密度进行监测,可将倾注有琼脂的平皿在空气中暴露 15 min 后放培养箱(36 °C±1 °C)中进行培养,48 h 后每个平皿上的菌落不能超过 15 个。

3.2 均质器和均质袋或均质杯。

3.3 天平:感量 0.1 g。

3.4 剪刀、镊子、刀子、叉子或大汤勺:各实验室可根据自己的爱好选择,方便取样即可。

3.5 玻璃平皿或塑料平皿:建议使用 15 mm×90 mm 的平皿。

3.6 灭菌吸管或移液器:量程分别为 1 mL、5 mL 和 10 mL,刻度为 0.1 mL。

- 3.7 带橡胶塞或塑料螺旋帽的玻璃稀释瓶:容量 200 mL。
- 3.8 恒温水浴箱:45 °C±1 °C,用来融化凝固的琼脂用。
- 3.9 恒温培养箱:36 °C±1 °C。
- 3.10 冰箱:0 °C~5 °C。
- 3.11 冰柜:-20 °C~-15 °C。
- 3.12 合适温度范围的温度计(已计量)。

#### 4 培养基、试剂

- 4.1 平板计数琼脂(参见附录 A.1)。
- 4.2 磷酸盐缓冲稀释液(参见附录 A.2)。
- 4.3 无菌生理盐水(参见附录 A.3)。
- 4.4 1 mol/L 氢氧化钠(NaOH):称取 40 g 氢氧化钠溶于 1 000 mL 蒸馏水中。

#### 5 程序

##### 5.1 样品制备

以无菌操作取有代表性的样品盛于灭菌容器内。如有包装,则用 75%乙醇在包装开口处擦拭后取样。

##### 5.2 制备样品匀液

5.2.1 固体或半固体样品:以无菌操作,取 25 g 或 25 mL 样品(根据样品分布的均匀性程度,也可酌情增减样品量,如 50 g 或 50 mL 等),放入装有 225 mL 稀释剂(磷酸盐缓冲稀释液或无菌生理盐水,以下同)的灭菌均质杯内,于 8 000 r/min 均质 1 min~2 min,或放入盛有 225 mL 稀释剂的无菌均质袋中,用拍击式均质器拍打 1 min~2 min,制成 1:10 的样品匀液。如样品均质时间超过 2 min,应在均质杯外加冰水冷却。

5.2.2 干燥或干粉食品:以无菌操作取 25 g 样品,放入装有 225 mL 稀释剂和适量玻璃珠的 500 mL 稀释瓶中。迅速振摇,将样品混匀,制成 1:10 的样品匀液。振摇时,幅度为 30 cm,7 s 内振摇 25 次,也可用机械振荡器振荡 15 s 代替手摇。

5.2.3 液体样品:用灭菌吸管吸取 25 mL 样品,放入装有 225 mL 稀释剂的 500 mL 稀释瓶中,按 5.2.2 中所述方法迅速振摇,制成 1:10 的样品匀液。吸取样品时,吸管插入液面下不要超过 2.5 cm。吸管内液体要在 2 s~4 s 内完全排入稀释剂中。不要在稀释剂中吹洗吸管。

##### 5.3 稀释样品均液

5.3.1 取此样品匀液 1 mL 加到 9 mL 的稀释剂中,并以此类推,分别制成  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  三个连续稀释度或其他合适稀释度的样品匀液,每个稀释度换用一个新的无菌吸管。

5.3.2 所有样品匀液都要在 7 s 内沿直径 30 cm 的弧线摇动 25 次,摇动时要避免产生泡沫。

##### 5.4 平板接种

5.4.1 每个稀释度的样品匀液各取 1 mL 注入一个平皿,一式两份,平皿预先要做适当的标记。如果样品匀液在吸取前静置时间超过了 3 min,要按上述方法再次摇动。

5.4.2 在原始样品稀释液制备后的 15 min 内,每个平皿中注入 12 mL~15 mL 平板计数琼脂(预先已

放于  $45\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  的水浴中恒温),即每个样品从开始稀释到倾注最后一个平皿所用的时间不得超过 15 min。每个稀释度的样品分别制两个琼脂平板。

## 5.5 培养

待琼脂凝固后,翻转平皿,放入培养箱  $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养  $48\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 。注意在琼脂凝固前不要叠放平板。

## 6 菌落计数和记录

6.1 培养后,立即计数每个平板上的菌落数,如果不能立即计数,平板存放温度应为  $0\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,但不得超过 24 h。

6.2 对所有成对的平板都要计数,并将计数的结果按下面规定的方法计算后报告。25 个~250 个菌落为正常计数范围。超出 25 个~250 个菌落范围的计数结果可能不是实际菌落数的真实反映。因为菌落数过少的平板(少于 25 个),稀释因素可能会夸大计数结果;而菌落数过多的平板(超过 250 个),一方面因为难以计数,另一方面因为会抑制某些细菌的生长,可能会导致计数结果低于实际菌落数。报告时,将少于 25 个或多于 250 个菌落的需氧平板菌落计数结果报告为平板菌落计数的估计值(EAPC)。

6.3 菌落数在 25 个~250 个正常范围值的平板:选择无蔓延菌落的平板,计数所有菌落形成单位(CFU),包括那些极微小的菌落。记录下计数的每个平板的菌落数和稀释倍数。

6.4 超过 250 个菌落的平板:所有稀释度的平板上的菌落数都超过 250 个时,对于接近 250 个菌落的平板,先划出分布有代表性的区域进行计数,再计算出整块板的菌落数,用 EAPC 来报告计算出的需氧菌数,以表明该数值是从菌落数在 25 个~250 个范围之外的平板得出的估计值。其余平板都记录为“多不可计”(TNTC)。

6.5 无菌落生长的平板。如果所有稀释度的平板都没有菌落生长,则 APC 报告为小于 1 乘以样品的最低稀释倍数,报告时将计算出的 APC 值标上星号,以表明该数值是从菌落数在 25 个~250 个范围之外的平板得出的估计值。

6.6 蔓延菌落通常有 3 种类型。第一种类型是链状菌落,菌落之间没有明显界限,一般由一个细菌簇形成;第二种类型是在琼脂和平皿底部之间生长形成的水膜样菌落;第三种类型是在琼脂的边缘或表面形成的水膜样菌落。

如果平板上生长的蔓延菌落过多而出现下述两种情况:

- a) 蔓延菌落覆盖的面积,包括由于蔓延菌落造成的抑制生长区的面积超过平板面积的 50%;
- b) 由于蔓延菌落造成的抑制生长的面积超过平板面积的 25%。

这样的平板不予计数,结果报告为“蔓延菌落”。

当有必要计数除以上 a)和 b)两种情况以外的蔓延生长菌落时,将三种不同类型的蔓延菌落分别计数。对于第一种类型,如果仅有一条链,将整条链作为一个菌落计数。如果有来源不同的几条链,将每一条链作为一个菌落计数,不要把链上生长的各个菌落分开来计数。第二种和第三种类型的蔓延菌落一般都容易识别,也按上述方法计数。最后将计数的蔓延菌落数和正常菌落数加在一起,计算出平板的总需氧菌数(APC)。

6.7 如果已知平板被污染或有其他方面不满意的因素,将该结果记录为实验室事故(LA)。

## 7 数字修约和计算

### 7.1 数字修约

7.1.1 计算 APC 时为了避免结果在精密度和准确度方面产生误差,结果只报告前两位有效数字。当

第三位数是 6,7,8,9 时,则进 1,即把保留的第二位数字加 1,并且用 0 来代替第二位数字右边的每一个数字。如果第三位数是 1,2,3,4 时则直接舍去尾数;第三位数是 5 时,如果 5 后面一位数是奇数时则进位,是偶数时则舍弃。

也可用 10 的指数形式来表示,按以上原则修约后,保留两位有效数字。

7.1.2 示例,见表 1。

表 1

实际计算数值	修约后的 APC
12 700	13 000 或 $1.3 \times 10^4$
12 400	12 000 或 $1.2 \times 10^4$
15 500	16 000 或 $1.6 \times 10^4$
14 500	14 000 或 $1.4 \times 10^4$

7.2 平板上的菌落数在 25 个~250 个范围之内

7.2.1 计算 APC 公式,见式(1):

$$N = \sum c / [(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)] \times d \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- N ——每克或每毫升产品中的菌落数;
- $\sum c$  ——所有计数的平板上的菌落数之和;
- $n_1$  ——计数的第 1 个稀释度的平板数;
- $n_2$  ——计数的第 2 个稀释度的平板数;
- d ——计数的最低稀释度。

7.2.2 示例,见表 2。

表 2

稀释度	菌落数	
	平板 1	平板 2
1 : 100	232	244
1 : 1 000	33	28

计算过程: $N = (232 + 244 + 33 + 28) / \{ [(1 \times 2) + (0.1 \times 2)] \times 10^{-2} \}$   
 $= 537 / 0.022$   
 $= 24 409$

该数据按 7.1.1 进行数字修约后,表示为 24 000 或  $2.4 \times 10^4$ 。

7.2.3 如果计数的成对平板,其菌落数有的在 25 个~250 个菌落范围内,也有的不在此范围内,那么计算时只用那些菌落数在 25 个~250 个范围内的平板。

7.3 所有平板上的菌落数都少于 25 个

7.3.1 如果两个稀释度的平板产生的菌落数都少于 25 个,记录实际的平板菌落数,但结果报告为小于  $25 \times (1/d)$ ,d 是得到该计数的样品的最低稀释度的稀释因子。

7.3.2 示例,见表 3。

表 3

菌落数		
1 : 100	1 : 1 000	EAPC/mL(g)
18	2	<2 500
0	0	

7.3.3 根据具体情况和要求,也可以用最低稀释度的平均菌落数乘以稀释倍数,得到估计的需氧平板菌落数。例如,在上例中的菌落计数结果也可为: $[(18+0)/2]/10^{-2}=900$ 。

#### 7.4 所有平板上的菌落数都超过 250 个

7.4.1 如果两个稀释度的平板产生的菌落数都超过 250 个(但是少于 100 个/cm<sup>2</sup>),用最接近 250 个菌落的平板菌落数来乘以稀释倍数作为估计的平板菌落计数(EAPC)。

7.4.2 示例,见表 4。

表 4

菌落数		
1 : 100	1 : 1 000	EAPC/mL(g)
TNTC	640	640 000
注 1: TNTC——多不可计。 注 2: EAPC——估计的需氧平板菌落数。		

#### 7.5 对于平均每平方厘米超过 100 个菌落的平板

7.5.1 其结果报告为 EAPC 大于最大稀释倍数乘以平板计数面积的 100 倍的值。

7.5.2 示例(下面的例子每平方厘米计数的平均值为 110),见表 5。

表 5

菌落/稀释倍数		
1 : 100	1 : 1 000	EAPC/mL(g)
TNTC	7 150 <sup>a</sup>	>6 500 000 <sup>b</sup>
TNTC	6 490 <sup>c</sup>	>5 900 000 <sup>b</sup>
<sup>a</sup> 计数平板面积为 65 cm <sup>2</sup> <sup>b</sup> 估计的 APC 值 <sup>c</sup> 计数平板面积为 59 cm <sup>2</sup>		

## 8 结果报告

8.1 平板上的菌落数在 25 个~250 个范围之内,按 7.2 所示方法计算结果并报告;

- 8.2 所有平板上的菌落数都少于 25 个,按 7.3 所示方法计算结果并报告;
- 8.3 所有平板上的菌落数都超过 250 个,按 7.4 所示方法计算结果并报告;
- 8.4 对于平均每平方厘米超过 100 个菌落的平板,按 7.5 所示方法计算结果并报告;
- 8.5 如果所有稀释度的平板都没有菌落生长,按 6.5 所示方法计算结果并报告;
- 8.6 若所有平板上为蔓延菌落而无法计数,报告为蔓延菌落。
- 8.7 符合 6.7 所述实验室事故特征的情况,报告为实验室事故(LA)。
- 8.8 称量取样以 CFU/g 为单位报告,体积取样以 CFU/mL 为单位报告。



附 录 A  
(资料性附录)  
培养基制备

## A.1 平板计数琼脂

### A.1.1 成分

胰蛋白胨	5.0 g;
酵母浸膏	2.5 g;
葡萄糖	1.0 g;
琼脂	15.0 g;
蒸馏水	1 000 mL;

pH7.0±0.2。

### A.1.2 制法

将上述成分加于蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH。分装到合适容量的试管或锥形瓶中,121 °C 高压灭菌 15 min,最终 pH=7.0±0.2。

分装 20 mL~25 mL 培养基到灭菌的 15 mm×100 mm 平皿中,检验酵母菌和霉菌是否存活。

## A.2 磷酸盐缓冲稀释液

### A.2.1 成分

磷酸二氢钾(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	34.0 g;
蒸馏水	500 mL;

pH7.2。

### A.2.2 制法

**A.2.2.1 贮存液:**称取 34.0 g 磷酸二氢钾溶于 500 mL 蒸馏水中,用大约 175 mL 的 1 mol/L 氢氧化钠 (NaOH)调节 pH 至 7.2,加蒸馏水至 1 000 mL,贮存于冰箱中备用。

**A.2.2.2 稀释液:**取上述贮存液 1.25 mL,用蒸馏水稀释至 1 000 mL,分装到适宜容器中,121 °C 高压灭菌 15 min。

## A.3 无菌生理盐水

### A.3.1 成分

氯化钠(NaCl)	8.5 g;
蒸馏水	1 000 mL。

### A.3.2 制法

称取 34.0 g 氯化钠溶于 1 000 mL 蒸馏水中,121 °C 高压灭菌 15 min。

---

中华人民共和国出入境检验检疫  
行 业 标 准  
进出口食品中菌落总数计数方法  
SN/T 0168—2015

\*

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](http://www.spc.net.cn)

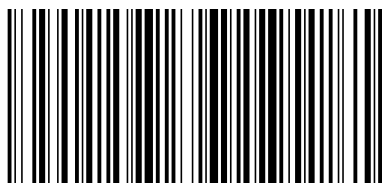
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

\*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 16 千字  
2016年3月第一版 2016年3月第一次印刷  
印数 1—1 100

\*

书号: 155066·2-29849 定价 16.00 元



SN/T 0168-2015