

ICS 07.100.30
CCS C 53

团体标准

T/CIQA 125—2025

食品中霉菌和酵母快速计数 测试片法

Rapid enumeration of molds and yeasts in food—

Dry rehydratable film method

2025-07-04 发布

2025-07-04 实施

中国出入境检验检疫协会 发布

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》的规定起草。

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。

本文件由中国出入境检验检疫协会进出口食品标准化技术委员会（CIQA/TC10）提出并归口。

本文件起草单位：山东美正生物科技有限公司、国家食品安全风险评估中心、深圳海关食品检验检疫技术中心、通标标准技术服务有限公司、中农孚德检测技术（北京）有限公司、光明乳业股份有限公司、河南双汇投资发展股份有限公司、内蒙古伊利实业集团股份有限公司、内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司、元气森林（北京）食品科技集团有限公司、北京美正生物科技有限公司。

本文件主要起草人：陶文靖、王伟、王琦、付敏、吕敬章、肖晶、贾晨、许冉冉、李志君、王丹、孙丹丹、张娜、董彬、王剑铭、苏政、王蕊、吴萍、孙英丽、孙宏伟、刘磊、曲连海、凌空、刘赫东、周琦。

本文件知识产权归中国出入境检验检疫协会所有。任何单位或个人未经许可，不得以营利为目的，印制、出版、翻译、转发或复制全文或部分文字。

食品中霉菌和酵母快速计数 测试片法

1 范围

本文件规定了食品中霉菌和酵母测试片快速计数的方法。

本文件适用于食品中霉菌和酵母的快速计数。

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 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数

GB 4789.25 食品安全国家标准 食品微生物学检验 酒类、饮料、冷冻饮品采样和检样处理

GB 4789.28 食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 19489 实验室生物安全通用要求

3 术语和定义

GB 4789.15 中界定的术语和定义适用于本文件。

4 检测原理

MicroFast[®]霉菌酵母测试片法是用一种预先制备的含有指示剂及冷水可溶性凝胶的培养基系统进行微生物培养的方法。培养基中含有霉菌和酵母生长的主要营养物质和功能性物质（如显色底物、冷水可溶性凝胶等）。霉菌和酵母生长过程中代谢产生的酶与测试片中的显色底物发生特异性反应释放显色基团，随霉菌和酵母生长，显色集团不断积累，显色效应逐渐增强，最终形成可见光下可计数的蓝绿色菌落。冷水可溶性凝胶遇水形成凝胶层，起固定营养与隔离保护作用。

1) MicroFast[®]霉菌酵母测试片是由山东美正生物科技有限公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本文件使用者。如果其他产品具有相同的效果,那么可使用这些等效的产品。

5 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外，其他设备和材料如下：

- 5.1 恒温培养箱：28 °C±1 °C。
- 5.2 电子天平：感量 0.1 g。
- 5.3 pH 计或精密 pH 试纸。
- 5.4 均质器（拍击式）或等效的设备、无菌均质袋。
- 5.5 旋涡振荡器。
- 5.6 无菌移液管：1 mL(具 0.01 mL 刻度)、10 mL(具 0.1 mL 刻度)无菌移液管或移液器及无菌吸头。
- 5.7 无菌滤膜（直径 47 mm，孔径 0.45 μm）。
- 5.8 无菌锥形瓶（或其他合适容器）。
- 5.9 测试片压板装置。
- 5.10 膜过滤装置。
- 5.11 菌落计数装置：放大镜或低倍镜或全自动菌落计数仪等。
- 5.12 恒温装置：46 °C±1 °C。

6 培养基和试剂

- 6.1 MicroFast®霉菌酵母测试片：见附录 A.1、附录 B。
- 6.2 磷酸盐缓冲液：见附录 A.2。
- 6.3 生理盐水：见附录 A.3。
- 6.4 高酶活性样品专用稀释液：见附录 A.4。
- 6.5 1 mol/L 氢氧化钠溶液：见附录 A.5。
- 6.6 1 mol/L 盐酸溶液：见附录 A.6。
- 6.7 沙氏葡萄糖琼脂：见附录 A.7。
- 6.8 沙氏葡萄糖肉汤：见附录 A.8。
- 6.9 胰酪大豆胨液体培养基：见附录 A.9。

7 检验程序

具体操作程序见图 1。

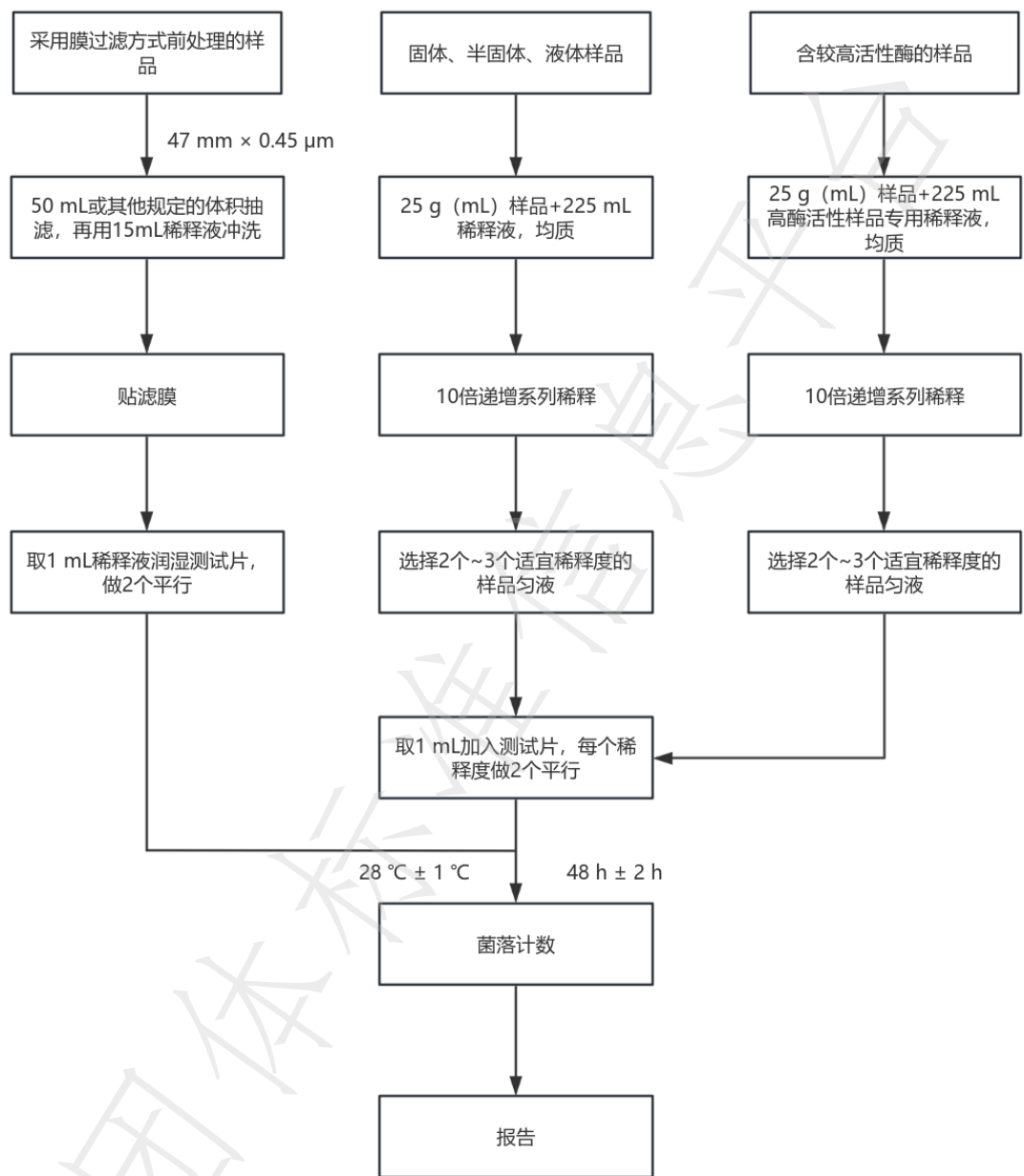


图 1 食品中霉菌和酵母快速计数 测试片法操作程序

8 操作步骤

8.1 样品的稀释

8.1.1 固体、半固体、液体样品：取 25 g (mL) 样品，置于盛有 225 mL 无菌稀释液（无菌水或生理盐水或磷酸盐缓冲液）的无菌锥形瓶（或其他适宜容器）中，充分混匀，或置于盛有 225 mL 无菌稀释液的无菌均质袋内，用拍击式均质器拍打 1 min~2 min，制成 1:10 的样

品匀液。无菌操作吸取 1:10 样品匀液 1 mL，沿管壁缓慢注于 9 mL 无菌稀释液中（注意吸管或吸头尖端不要触及液面），在漩涡振荡器混匀，制成 1:100 的样品匀液，以此类推，制备 10 倍系列稀释样品匀液。

8.1.2 采用膜过滤方式前处理的样品：取适量（50 mL 或其他规定的体积）样品经直径 47 mm、孔径 0.45 μm 无菌滤膜抽滤，再用 15 mL 无菌稀释液冲洗抽滤。必要时可用检样稀释液冲洗滤杯内壁 1 次~3 次，以确保将附着在滤杯壁上的检样完全冲洗下来。抽滤完成后取下滤杯，无菌操作用镊子取出滤膜待检，用于 8.2.3 的接种。

8.1.3 蛋黄粉/制品、芒果、牛油果、生鲜鱼、生虾等含较高活性酶的样品：用无菌高酶活性样品专用稀释液，参照 8.1.1 进行样品稀释。

8.1.4 样品匀液（液体样品包括原液）的 pH 应在 5.0~8.5 之间，必要时用 1 mol/L 氢氧化钠溶液或 1 mol/L 盐酸溶液调节样品匀液的 pH（采用膜过滤方式前处理的样品除外）。

8.2 接种培养

8.2.1 根据对样品微生物污染状况的估计，选择 2 个~3 个适宜的连续稀释度样品匀液（液体样品包括原液）进行接种，每个稀释度接种两张测试片。

8.2.2 测试片使用前，平衡至室温。测试片平放在水平实验台上，缓慢揭开上膜。将 1 mL 样品匀液垂直滴加在测试片中心区域。缓慢盖上上膜，尽量避免气泡的产生。将压板放在测试片中央，轻轻压下，使样液均匀分布于圆形培养基上，拿起压板，静置 2 min，再移动测试片。

8.2.3 对于采用膜过滤方式前处理的样品，无菌操作用镊子将抽滤后的滤膜贴在揭开上膜后的测试片中心区域，正面向上，缓慢滴加 1 mL 无菌稀释液。缓慢盖上上膜，并按 8.2.2 进行后续操作。

8.2.4 吸取 1 mL 无菌稀释液接种两张测试片，作空白对照。

8.2.5 将测试片正置于培养箱内，最多可堆叠至 20 片，于 $28\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $48\text{ h}\pm 2\text{ h}$ ，如有必要可适当延长培养时间至 60 h。

8.3 计数

8.3.1 肉眼观察，也可使用菌落计数装置观察计数，在霉菌酵母测试片上，酵母菌落较小，边界清晰，呈蓝绿色；霉菌菌落较大，边缘不规则，呈蓝绿色。随培养时间延长，可能会伴随黑色、紫色等其他颜色（见附录 C）。记录稀释倍数和相应的菌落数量，计数以菌落形成单位（colony forming unite, CFU）表示。

8.3.2 选取菌落数在 10 CFU~150 CFU 范围的霉菌酵母测试片，按照 8.3.1 和附录 C 计数。当测试片上菌落数多至无法计数时，即测试片整片变成蓝色，记录为“多不可计”。

9 结果与报告

结果的计算方法和报告规按照GB 4789.15执行。

对于采用膜过滤方式前处理的样品，报告单位为：CFU/实际过滤体积（mL）。

10 废弃物处理

检验后样品和废弃物按照GB 4789.1和GB 19489的相关要求进行处置。

附录 A
(规范性)
培养基和试剂

A.1 MicroFast®霉菌酵母测试片

A.1.1 主要营养成分：蛋白胨、酵母粉、葡萄糖等。

A.1.2 功能性成分：酶底物显色剂、氯霉素等选择剂。

A.1.3 辅助材料：冷水可凝胶，热熔胶，合成纸，泡棉，聚碳酸酯膜（PC膜）等。

A.1.4 保存条件：未开封的测试片宜在2℃~8℃保存。运输或短期保存时，可置于常温。开封后未使用完的测试片放回包装袋中，折叠袋口并密封，常温避光保存不超过一个月。

A.2 磷酸盐缓冲液

A.2.1 成分：磷酸二氢钾（KH₂PO₄）34.0 g，蒸馏水500 mL。

A.2.2 制法：贮备液：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至7.2，用蒸馏水稀释至1 000 mL后，密封贮存于2℃~8℃冰箱。工作液：取贮备液1.25 mL，用蒸馏水稀释至1 000 mL，分装于适宜容器中，121℃高压灭菌15 min，用于样品稀释。

A.3 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8.5 g 氯化钠溶于1 000 mL蒸馏水中，121℃高压灭菌15 min。

A.4 高酶活性样品专用稀释液

A.4.1 主要成分：MicroFast®霉菌酵母测试片专用补充剂（按A.1.4保存）、生理盐水或磷酸盐缓冲液工作液。

A.4.2 制法：取适量补充剂加入生理盐水或磷酸盐缓冲液工作液中（见表A.1），搅拌至完全溶解，121℃灭菌15 min，制成专用稀释液。

表A.1 高酶活性样品专用稀释液配方

检测基质	专用补充剂（g）	生理盐水或磷酸盐缓冲液工作液（mL）
蛋黄粉/制品	2.0	1 000
芒果	2.0	1 000
牛油果	8.0	1 000
生鲜鱼	4.0	1 000
生虾	8.0	1 000

A.5 1 mol/L 氢氧化钠溶液

A.5.1 成分: 氢氧化钠 (NaOH) 40.0 g, 蒸馏水1 000 mL。

A.5.2 制法: 称取40.0 g氢氧化钠溶于1 000 mL蒸馏水中。

A.6 1 mol/L 盐酸溶液

A.6.1 成分: 浓盐酸 (HCl) 90 mL, 蒸馏水1 000 mL。

A.6.2 制法: 移取浓盐酸90 mL, 用蒸馏水稀释至1 000 mL。

A.7 沙氏葡萄糖琼脂

A.7.1 成分: 蛋白胨10.0 g, 葡萄糖40.0 g, 琼脂15.0 g, 蒸馏水1 000 mL。

A.7.2 制法: 称取蛋白胨10.0 g, 葡萄糖40.0 g, 琼脂15.0 g, 溶于1 000 mL蒸馏水中, 加热煮沸至完全溶解, 121 °C高压灭菌15 min, 备用。可按照厂家提供技术规程操作。

A.8 沙氏葡萄糖肉汤

A.8.1 成分: 葡萄糖20.0 g, 动物组织胃蛋白酶水解物和胰酪胨等量混合物10.0 g, 蒸馏水1 000 mL。

A.8.2 制法: 称取葡萄糖20.0 g, 动物组织胃蛋白酶水解物和胰酪胨等量混合物10.0 g, 溶于1 000 mL蒸馏水中, 加热煮沸至完全溶解, 121 °C高压灭菌15 min, 备用。可按照厂家提供技术规程操作。

A.9 胰酪大豆胨液体培养基

A.9.1 成分: 胰酪胨17.0 g, 大豆木瓜蛋白酶水解物 3.0 g, 氯化钠5.0 g, 磷酸氢二钾2.5 g, 葡萄糖2.5 g, 蒸馏水1 000 mL。

A.9.2 制法: 称取胰酪胨17.0 g, 大豆木瓜蛋白酶水解物 3.0 g, 氯化钠5.0 g, 磷酸氢二钾2.5 g, 葡萄糖2.5 g, 溶于1 000 mL蒸馏水中, 加热煮沸至完全溶解, 121 °C高压灭菌15 min, 备用。可按照厂家提供技术规程操作。

附录 B

(规范性)

MicroFast®霉菌酵母测试片的验收

B.1 执行标准

参照GB 4789.28相关规定进行操作。

B.2 文件信息验收

厂家提供的配方中主要营养成分与孟加拉红琼脂培养基配方相近，质控报告应符合GB 4789.28中孟加拉红琼脂培养基质量控制要求。

B.3 产品外观验收

测试片包装完整，无破损，在有效期内。

B.4 技术指标验收

B.4.1 菌落特征：霉菌酵母测试片上，酵母菌落较小，边界清晰，呈蓝绿色；霉菌菌落较大，边缘不规则，呈蓝绿色。

B.4.2 测试片上霉菌和酵母菌的生长率不小于0.7；大肠埃希氏菌和金黄色葡萄球菌生长率小于0.1。

B.5 技术指标验收操作

B.5.1 标准菌株

酿酒酵母 CMCC(F)98017或 ATCC 9763，黑曲霉 CICC 2089或 ATCC 16404，大肠埃希氏菌CMCC(B)43201或 ATCC 25922，金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305或 ATCC 6538。也可使用GB 4789.28附录G中等效菌株。

B.5.2 培养基和试剂

胰酪大豆胨液体培养基（TSB）、沙氏葡萄糖肉汤（SDB）、MicroFast®霉菌酵母测试片（YM）、沙氏葡萄糖琼脂（SDA）、无菌水。

B.5.3 检验程序

B.5.3.1 菌悬液制备

接种大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌至TSB液体培养基中或采用其他方法，培养条件为36℃培养18 h~24 h，取1 mL用无菌水制成菌悬液，备用。

接种酿酒酵母至SDB液体培养基中或采用其他方法，培养条件为28℃±1℃培养48 h±2 h，取1 mL用无菌水制成菌悬液，备用。

接种黑曲霉至SDA固体培养基上，培养条件为28℃±1℃培养5 d，用无菌水制成孢子悬液，备用。

也可直接使用符合要求的即用型定量标准菌株，具体操作参照生产厂商说明书。

B.5.3.2 接种及培养

B.5.3.2.1 选择适宜稀释度的菌悬液，分别接种于测试片和无菌培养皿，接种量均为1 mL，每一稀释度做2个平行，每平板或测试片的接种水平为50 CFU~250 CFU（黑曲霉接种水平不高于50 CFU）。

B.5.3.2.2 参比培养基

将15 mL~20 mL冷却至46 °C±1 °C的SDA倾注无菌培养皿，转动培养皿使其混合均匀，水平放置待琼脂凝固后，翻转平板，于28 °C±1 °C培养5 d。

B.5.3.2.3 测试片

测试片使用前，平衡至室温。测试片平放在水平实验台上，缓慢揭开上膜。将1 mL样品匀液垂直滴加在测试片中心区域。缓慢盖上上膜，尽量避免气泡的产生。将压板放在测试片中央，轻轻压下，使样液均匀分布于圆形培养基上，拿起压板，静置2 min，再移动测试片。从样品稀释开始至测试片接种完毕的时长不应超过20 min。

将测试片正置于培养箱内，于28 °C±1 °C培养48 h±2 h。

B.5.3.3 计数

选择菌落数适中的平皿、测试片进行计数，按式（B.1）计算生长率。

$$P_R = \frac{N_S}{N_O} \dots\dots\dots (B.1)$$

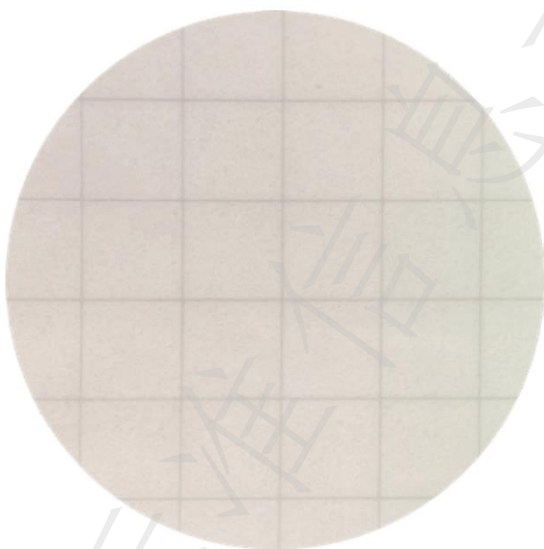
式中：

- P_R ——生长率；
- N_S ——测试片上得到的菌落总数；
- N_O ——SDA培养基平板上获得的菌落总数。

附录 C (资料性)

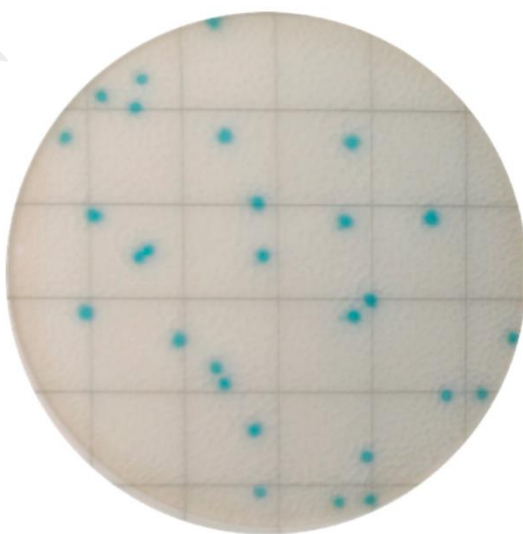
MicroFast[®]霉菌酵母测试片判读示例

示例1：无任何菌落生长，如图C.1。计数：酵母=0 CFU、霉菌=0 CFU。



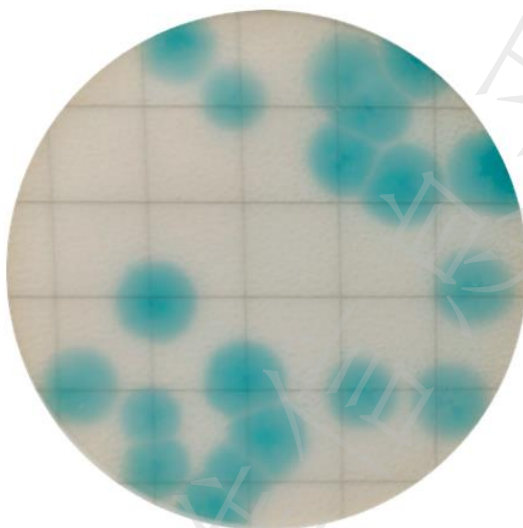
图C. 1

示例2：仅有酵母菌生长，菌落颜色为蓝绿色，颜色均匀，如图C.2。计数：酵母=28 CFU、霉菌=0 CFU。



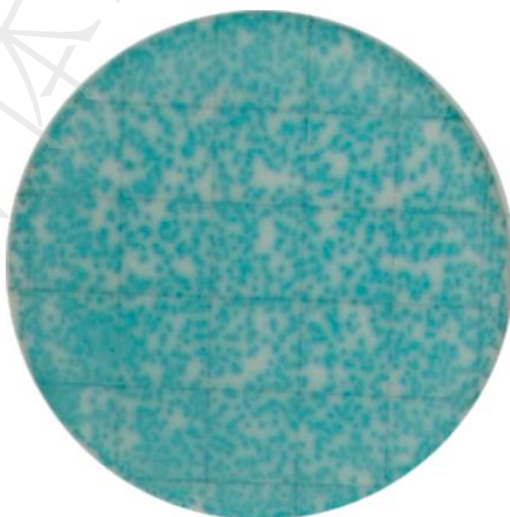
图C. 2

示例3：仅有霉菌生长，菌落较大，边缘不规则，颜色为蓝绿色，如图C.3。计数：酵母=0 CFU、霉菌=19 CFU。



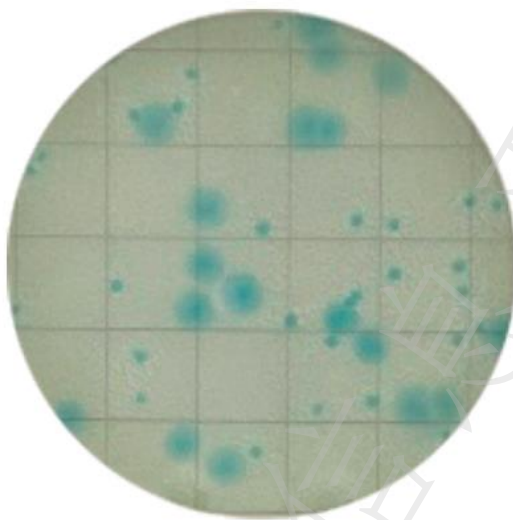
图C.3

示例4：仅有酵母菌生长，超过计数范围，如图C.4。计数：酵母=TNTC、霉菌=0 CFU。



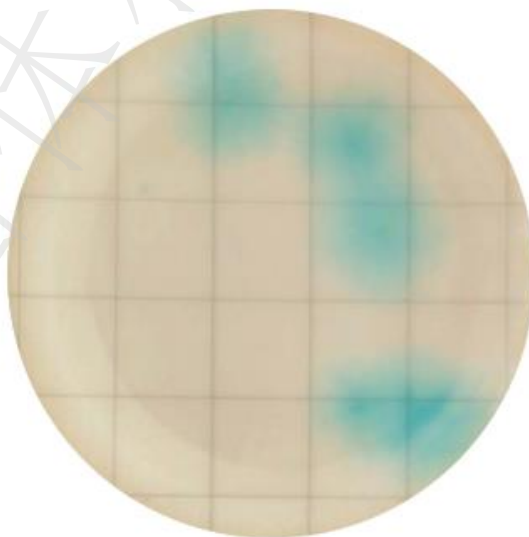
图C.4

示例5：酵母菌和霉菌均生长，酵母菌落较小，边界清晰，呈蓝绿色；霉菌菌落较大，边缘不规则，呈蓝绿色，如图C.5。计数：酵母=28 CFU、霉菌=18 CFU。



图C. 5

示例6：采用膜过滤方式前处理样品的结果，仅有霉菌生长，边缘不规则，呈蓝绿色，如图C.6。计数：酵母=0 CFU、霉菌=4 CFU。



图C.6