

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1941.1—2007

---

### 进出口食品中乳酸菌检验方法 第 1 部分：分离与计数方法

Detection of lactic acid bacteria in food for import and export—  
Part 1: Isolation and enumeration method

2007-08-06 发布

2008-03-01 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

SN/T 1941《进出口食品中乳酸菌检验方法》分为三个部分：

- 第 1 部分：分离与计数方法；
- 第 2 部分：Petrifilm™测试片法；
- 第 3 部分：乳酸杆菌的 PCR 法。

本部分为 SN/T 1941 的第 1 部分。

本部分的附录 A 为规范性附录。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分起草单位：中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：吴斌、秦成、李叶、郑秋月、王玫、齐震玉。

本部分系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

# 进出口食品中乳酸菌检验方法

## 第1部分:分离与计数方法

### 1 范围

SN/T 1941 的本部分规定了乳酸菌的分离与计数方法。

本部分适用于天然或添加乳酸菌的食品及原料中乳酸菌的分离与计数。

### 2 设备和材料

- 2.1 显微镜:10×~100×。
- 2.2 温度计:量程1℃~55℃,分刻度0.1℃。
- 2.3 恒温培养箱:36℃±1℃。
- 2.4 吸管:1 mL、5 mL和10 mL,分刻度0.1 mL。
- 2.5 试管:16 mm×160 mm。
- 2.6 培养皿:直径90 mm。
- 2.7 接种环:3 mm直径。
- 2.8 天平:量程2 kg,感量0.1 g。
- 2.9 灭菌样品处理器具:取样勺、剪刀、镊子。
- 2.10 样品稀释瓶:250 mL和500 mL。
- 2.11 微需氧培养设备:最佳微需氧条件为5%氧气、10%二氧化碳和85%氮气。可用具双相压力计的微需氧培养箱、厌氧罐、蜡烛缸、气袋或其他可代用的装置。

### 3 培养基和试剂

除另有规定外,试剂为分析纯或生化试剂,水为蒸馏水。

- 3.1 MRS肉汤(见第A.1章)。
- 3.2 MRS琼脂(见第A.2章)。
- 3.3 改良TJA培养基(改良番茄汁琼脂培养基)(见第A.3章)。
- 3.4 改良MC培养基(Modified Chalmers培养基)(见第A.4章)。
- 3.5 0.1%美蓝牛乳培养基(见第A.5章)。
- 3.6 6.5%氯化钠肉汤(见第A.6章)。
- 3.7 pH9.6葡萄糖肉汤(见第A.7章)。
- 3.8 40%胆汁肉汤(见第A.8章)。
- 3.9 淀粉水解培养基(见第A.9章)。
- 3.10 精氨酸水解培养基(见第A.10章)。
- 3.11 七叶苷培养基(见第A.11章)。
- 3.12 革兰氏染色液。
- 3.13 3%过氧化氢溶液。
- 3.14 蛋白胨水、靛基质试剂。
- 3.15 明胶培养基。
- 3.16 硝酸盐培养基、硝酸盐试剂。

4 检验方法

4.1 方法提要

食品中乳酸菌的分离与计数方法是应用微生物检验的增菌培养、分离、生化鉴定等方法对食品中可能存在的乳酸菌进行定量的检验。

4.2 检验程序

乳酸菌的检验程序见图 1。

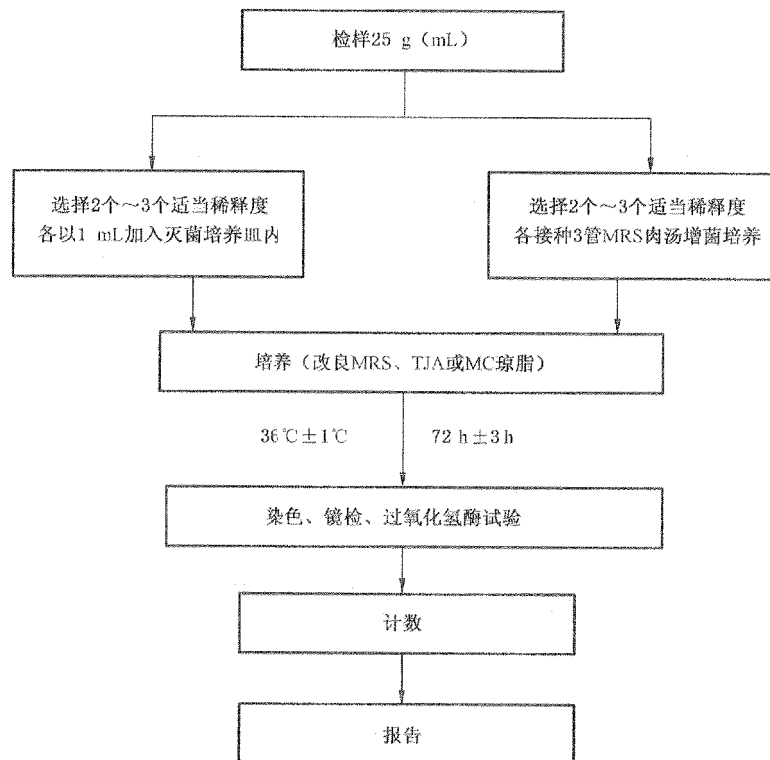


图 1 乳酸菌的检验程序

4.3 乳酸菌计数方法

4.3.1 以无菌操作将经过充分摇匀的检样 25 g(mL)放入含有 225 mL 灭菌生理盐水的灭菌广口瓶内作成 1:10 的均匀稀释液。

4.3.2 用 1 mL 灭菌吸管吸取 1:10 稀释液 1 mL,沿管壁徐徐注入含有 9 mL 灭菌生理盐水的试管内,振荡试管,混合均匀,做成 1:100 的稀释液。

4.3.3 另取 1 mL 灭菌吸管,按上述操作依次做 10 倍递增稀释。

4.3.4 选择 2 个~3 个以上适宜稀释度,分别在做 10 倍递增稀释的同时,即以吸取该稀释度的吸管移 1 mL 稀释液于灭菌平皿内,每个稀释度做两个平皿。

4.3.5 稀释液移入平皿后,应及时将冷至 50°C 的乳酸菌计数培养基(MRS、改良 TJA、或改良 MC 琼脂)注入平皿约 15 mL,并转动平皿使混合均匀,同时做空白对照。

4.3.6 待琼脂凝固后,翻转平板,于厌氧条件下,置 36°C ± 1°C 温箱内培养 72 h ± 3 h,观察乳酸菌菌落特征(见表 1),选取菌落数在 25~250 之间的平板进行计数。计算后,挑取 5 个以上可疑菌落进行革兰氏染色,镜检和过氧化氢酶试验。革兰氏阳性,过氧化氢酶阴性,无芽胞菌可定为乳酸菌。

表 1 乳酸菌在不同培养基上菌落特征

MRS	改良 MC	改良 TJA
菌落为白色,较大,直径 5 mm±1 mm	平皿底为粉红色,菌落较小,圆形,红色,边缘似星状,直径 2 mm±1 mm,有淡淡的晕	平皿底为黄色,菌落中等大小,微白色,湿润,边缘不整齐,直径 3 mm±1 mm,如棉絮团状菌落

4.3.7 根据证实为乳酸菌的菌落数比例,计算出该皿内实际乳酸菌数,然后乘其稀释倍数即得每克(毫升)样品中乳酸菌数。

4.3.8 菌型鉴定:常见乳酸菌属内种的生化特性,见表 2、表 3。

表 2 常见乳酸杆菌的生化特性

乳酸杆菌类型	葡萄糖	木糖	水杨苷	七叶苷	麦芽糖	甘露醇	蔗糖	触酶	吲哚	明胶
嗜酸乳杆菌 ( <i>L. acidophilus</i> )	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-
卷曲乳杆菌 ( <i>L. crispatus</i> )	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-
格氏乳杆菌 ( <i>L. gasseri</i> )	+	-	+	+	d	-	+	-	-	-
詹氏乳杆菌 ( <i>L. jensenii</i> )	+	-	+	+	d	D	+	-	-	-
乳酪乳杆菌 ( <i>L. casei</i> )	+	-	+	+	+ <sup>w</sup>	+	+	-	-	-
植物乳杆菌 ( <i>L. plantarum</i> )	+	d	+	+	+ <sup>w</sup>	+	+	-	-	-
发酵乳杆菌 ( <i>L. fermentum</i> )	+	-	-	-	+ <sup>w</sup>	-	+	-	-	-
短乳杆菌 ( <i>L. brevis</i> )	+	v	-	d	+ <sup>w</sup>	-	d	-	-	-

注:+:90%以上菌株阳性;-:90%以上菌株阴性;d表示不同菌株反应不同;v:为11%~89%以上菌株阳性;  
+<sup>w</sup>:大部分菌株为弱阳性,少数为阳性。

表 3 乳酸链球菌的生化特性

乳酸链球菌类型	生长试验								
	10℃	45℃	0.1%美 蓝牛乳	6.5% 氯化钠	40% 胆汁	pH 9.6	加热 60℃ 30 min	淀粉水解	精氨酸 水解
嗜热链球菌	-	+	-	-	-	-	+	+	-
乳链球菌	+	-	+	-	+	-	d	-	+
乳脂链球菌	+	-	d	-	-	-	d	-	-

注:d有些菌株阳性,有些菌株阴性。

附录 A  
(规范性附录)  
培养基和试剂

A.1 MRS 肉汤

A.1.1 成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉膏	10.0 g
酵母浸膏	5.0 g
葡萄糖	20.0 g
吐温-80	1.0 g
柠檬酸铵	2.0 g
乙酸钠	5.0 g
硫酸镁	0.1 g
硫酸锰	0.05 g
磷酸氢二钾	2.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.1.2 制法

将各成分加入蒸馏水中,加热并不断搅拌,煮沸 1 min,使各成分完全溶解,每管分装 10 mL,121℃ 高压灭菌 15 min,最终 pH 7.3±0.2。

A.2 MRS 琼脂

A.2.1 成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉膏	10.0 g
酵母浸膏	5.0 g
葡萄糖	20.0 g
吐温-80	1.0 g
柠檬酸铵	2.0 g
乙酸钠	5.0 g
硫酸镁	0.1 g
硫酸锰	0.05 g
磷酸氢二钾	2.0 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.2.2 制法

将各成分加入蒸馏水中,加热并不断搅拌,煮沸 1 min,使琼脂完全溶解,121℃ 高压灭菌 15 min,最终 pH 7.3±0.2。

### A.3 改良番茄汁琼脂培养基(改良 TJA 培养基)

#### A.3.1 成分

番茄汁	50 mL
酵母抽提液	5.0 g
牛肉膏	10.0 g
乳糖	20.0 g
葡萄糖	2.0 g
磷酸氢二钾	2.0 g
吐温-80	1.0 g
乙酸钠	5.0 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL

#### A.3.2 制法

番茄汁的制作:将新鲜番茄洗净,切碎(切勿捣碎),放入锥形瓶,置4℃冰箱8 h~12 h,取出后用纱布过滤。将各成分加入蒸馏水中,加热并不断搅拌,煮沸1 min,使琼脂溶解,分装适当的容器,121℃高压灭菌15 min,最终 pH 7.3±0.2。

### A.4 改良 MC 培养基

#### A.4.1 成分

大豆蛋白胨	5.0 g
牛肉浸膏	5.0 g
酵母浸膏	5.0 g
葡萄糖	20.0 g
乳糖	20.0 g
碳酸钙	10.0 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL
1%中性红溶液	5 mL
硫酸多粘菌素 B	100 000 IU

#### A.4.2 制法

将前面七种成分加入蒸馏水中,加热溶解,校正 pH 6.0,加入中性红溶液。分装烧瓶,高压灭菌121℃ 15 min。用时加热融化琼脂,冷至50℃,酌情加或不加硫酸多粘菌素 B。

### A.5 0.1%美蓝牛乳培养基

#### A.5.1 成分

新鲜脱脂牛乳	90 mL
1%美蓝水溶液	10 mL

#### A.5.2 制法

将各成分加入蒸馏水中,加热并不断搅拌,121℃高压灭菌15 min,最终 pH 7.3±0.2。

#### A.6 6.5%氯化钠肉汤

##### A.6.1 成分

肉浸膏(pH 7.6)	100 mL
氯化钠	6.0 g

##### A.6.2 制法

将各成分加入蒸馏水中,加热并不断搅拌,121℃高压灭菌 15 min,最终 pH 7.3±0.2。

#### A.7 pH 9.6 葡萄糖肉汤

普通肉汤经校正 pH 9.6 后,加入 0.2%葡萄糖。将各成分加入蒸馏水中,加热并不断搅拌,121℃高压灭菌 15 min。

#### A.8 40%胆汁肉汤

##### A.8.1 成分

pH 7.6 肉浸液	60 mL
葡萄糖	0.12 g
牛胆汁	40 mL

##### A.8.2 制法

将各成分加入蒸馏水中,加热并不断搅拌,121℃高压灭菌 15 min,最终 pH 7.3±0.2。

#### A.9 淀粉水解培养基

##### A.9.1 成分

pH 7.6 肉浸液琼脂	90 mL
羊血清	5 mL
3%淀粉溶液	10 mL

##### A.9.2 制法

将肉浸液琼脂熔化待冷至 50℃左右,以无菌操作加入淀粉溶液及无菌羊血清混合后,倾注平板。

#### A.10 精氨酸水解培养基

##### A.10.1 成分

蛋白胨	0.1 g
氯化钠	0.5 g
磷酸氢二钾	0.6 g
L-精氨酸	1.0 g
1.6%溴甲酚紫乙醇溶液	1.4 mL
琼脂	0.3 g
蒸馏水	100 mL

##### A.10.2 制法

将各成分加入蒸馏水中,加热并不断搅拌,煮沸 1 min,使各成分完全溶解,调 pH 至 7.2±0.2,再加入 1.6%溴甲酚紫乙醇溶液,121℃高压灭菌 15 min。



**A. 11 七叶苷培养基****A. 11.1 成分**

蛋白胨	5.0 g
磷酸氢二钾	1.0 g
七叶苷	3.0 g
柠檬酸铁	0.5 g
1.6%溴甲酚紫乙醇溶液	1.4 mL
蒸馏水	1 000 mL

**A. 11.2 制法**

将各成分加入蒸馏水中,加热并不断搅拌,煮沸 1 min,使各成分完全溶解,调 pH 至  $7.3 \pm 0.2$ ,再加入 1.6%溴甲酚紫乙醇溶液,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  
进出口食品中乳酸菌检验方法  
第 1 部分:分离与计数方法  
SN/T 1941.1—2007

\*

中国标准出版社出版  
北京复兴门外三里河北街 16 号  
邮政编码:100045

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

电话:68523946 68517548

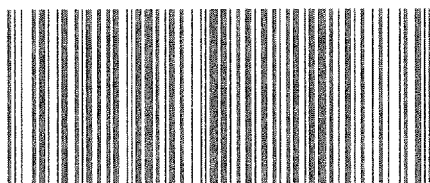
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

\*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 14 千字  
2007 年 11 月第一版 2007 年 11 月第一次印刷  
印数 1—2 000

\*

书号: 155066·2-18196



SN/T 1941.1—2007