

《干米粉中霉菌酵母的快速计数法》 团体标准编制说明

（一）标准制定背景及任务来源：主要阐述标准制定或修订重要性和必要性，技术经济意义和作用。

国际标准化组织的现行标准 ISO 21527-1:2008 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95、ISO 21527-2:2008 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95、美国 FDA 的《Bacteriological Analytical Manual Chapter 18: Yeasts, Molds and Mycotoxins》、国内 现行标准 GB 4789.15-2016 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》，均使用平板倾注计数的方法，培养需要 5-7 天，检验周期长难以满足快速检验的需求。

近年来测试片方法因其检验周期短，操作简便等特点在国外多个行业得到广泛应用。如橙汁、热狗、酸奶、番茄酱、玉米粉、蛋糕粉、冷冻生绞牛肉饼、生杏仁、宠物食品/干宠物食品、鸡肉/鸡块、烘焙商品/蛋糕、果汁/橙汁、乳制品/酸奶、酸奶、酸奶油、杏仁、苹果片、冷冻面包面团、现成馅饼、三明治、脱水汤、发酵香肠、冷冻碎牛肉、肉饼、干大麻花酸奶、生杏仁、切片苹果、沙拉酱、干宠物食品及不锈钢、密封混凝土和橡胶表面。测试片法相继获得多家权威机构的认证。3M™ Petrifilm™ Yeast and Mold Count (YM) Plates **997.02**、3M™ Petrifilm™ Rapid Yeast and Mold Count Plate **2014.05**、MC-Media Pad™ Yeast and Mold Device **2018.02** 获得 AOAC 官方分析方法（OMA）认证。3M™ Petrifilm™ Rapid Yeast and Mold Count Plate（121301）、MC-Media Pad YM(111401)、MicroFast® Yeast & Mold Count Plate(122101)获得 AOAC 性能(PTM)认证。3M™ Petrifilm™ Rapid Yeast and Mold count plate Certificate（3M 01/13-07/14）获得 AFNOR 认证。

测试片法在国内应用于麦麸饲料、蛋白饲料、绿豆、丰桔子、葡萄、深加工鸡肉、鸡肉、猪肉、兔肉、明太鱼干、脱脂奶粉、全脂奶粉、玉米粒、瓜子仁、面条、方便米饭、花生、酱粒粉、人参茶、煎饼、饼干等食品中也取得很好的效果。其中 GB 4789.2-2022 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》已经将测试片法列入标准。另外部分团体和行业标准也采用了测试片法，如 T/CNFIA 156-2022 《食品中霉菌和酵母的快速计数测试片法》、SN/T 5090.1-2018 《商品化试剂盒检测方法 霉菌和酵母菌 方法一》、SN/T 5090.2-2018 《商品化试剂盒检测方法 霉菌和酵母菌 方法二》。但这些测试片大多为国外技术产品，不但价格昂贵，而且难以从根本上提升我国微生物快速检测技术方法和产品的水平。

为了适应行业发展及相关检测机构的实际应用，进一步加强我国自主知识产权的微生物相关快速检测方法与国际先进方法的融合与对接，推进我国食品行业不断健康发展，广西壮族自治区产品质量检验研究院组织广东环凯生物科技有限公司等制定《食品安全团体标准 干米粉中霉菌酵母的快速计数法》。广西分析测试协会于 2023 年 2 月组织专家对《鲜米粉中菌落总数的快速计数法》、《鲜米粉中大肠菌群的快速计数法》、《干米粉中霉菌酵母的快速计数法》团体标准进行了立项评审，经审查，上述申报的团体标准符合立项条件，现予立项。

（二）主要工作过程：主要说明标准主要起草单位和协作单位起草标准的工作过程，以及在标准起草过程中所做的主要工作进展等。

2023 年 03 月 24 日收到正式通知。2023 年 月 日在 召开 2023 年食品安全团体标

准项目启动会，启动会后项目组正式协调成立，在广泛调查研究和讨论的基础上，起草了本标准，并邀请五家专业技术机构进行方法标准实验室间验证工作。

（三）标准编制原则和主要技术内容确定的依据：主要阐述标准制定或修订过程遵循的基本原则；标准主要内容中技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等提出和确定的论据，包括主要试验或验证资料分析、技术经济论证、预期的经济效果、标准查新报告等。

《干米粉中霉菌酵母的快速计数法》是在科学研究的基础上，结合多家实验室和基层检验人员的检测数据，经过科学研究及实际样品验证而制定的。本标准不仅能填补霉菌酵母快速检测的空白，提高我国食品安全水平，而且对打破国外技术垄断确保我国食品安全具有很高的应用价值。此标准的文本编写按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第一部分：标准的结构和编写》中的相关规定进行；方法验证和确认技术综合参考 GB 4789.28-2013《食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求》、GB 4789.15-2016《食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》、SN/T 3266-2012《食品微生物检验方法确认技术规范》、AOAC 食品微生物定性和定量检验方法的确认指南（2002）、ISO 16140:2003 食品和动物饲料微生物学—可替代方法的确认规范、药品微生物检验替代方法验证指导原则。

1、方法原理

Handy Plate®快速霉菌酵母测试片是含与马铃薯葡萄糖琼脂主要成份一致的营养成份、冷水可溶性凝胶、复合的酶底物指示剂。待测样品稀释液经培养基扩增培养后酶底物在霉菌酵母体内参与新陈代谢时发生酶解反应，底物将独立的显色基团释放到霉菌酵母的细胞质中，当显色基团在细胞内累积后，信号自然被放大，菌落在可见光下显示蓝绿色并被计数。

2、实验室内方法性能指标确认实验

选择酵母、霉菌制作孢子菌悬液并梯度稀释，取适宜浓度进行检测，同时采用国标法做对比，每个浓度每个方法各做 10 个平行。将检测结果进行如下分析：首先根据狄克逊(Dixon)准则进行异常值检验，如有异常值，则剔除，然后再进行配对数据 t 检验，以确定两种检验方法是否具有显著性差异。结果显示两种方法对质控菌株的检测结果均无显著性差异。

表 1 质控菌在测试片和国标法的检测结果

| 质控菌 | 快速霉菌酵母测试片 | | | | | PDA | | |
|------------------|-----------|-------|--------|-----------------|-------|-------|-------|--------|
| | M | SD | RSD | Mean difference | P | M | SD | RSD |
| 酿酒酵母 ATCC9763 | 1.056 | 0.166 | 15.76% | 0.001 | 0.987 | 1.055 | 0.110 | 10.39% |
| 黑曲霉 ATCC16404 | 0.607 | 0.150 | 24.7% | -0.080 | 0.175 | 0.688 | 0.130 | 18.95% |

快速霉菌酵母测试片和 PDA 的线性方程： $y=0.95x + 0.05$ ，相关系数 $r=0.9644$ ，霉菌酵母测试片方法与国标 PDA 方法两者拟合度良好。P 检验 T 值 $=0.887 > 0.05$ ，两种方法间无明显差异。

表 2 快速霉菌酵母测试片和 PDA 验证用菌株（n=51 株）

| 名称 | 编号 | 名称 | 编号 |
|-----|------------------|------|---------------|
| 红酵母 | FSCC(I)006367014 | 枝孢属霉 | FSCC(I)136041 |
| 红酵母 | FSCC(I)006365011 | 桔青霉 | FSCC(I)197072 |
| 红酵母 | FSCC(I)017015014 | 黑曲霉 | FSCC(I)114091 |

| | | | |
|-----------|------------------|--------|----------------|
| 红酵母 | FSCC(I)017015016 | 聚多曲霉 | FSCC(I)114092 |
| 近平滑假丝酵母 | FSCC(I)129077 | 金黄色土曲霉 | FSCC(I)114093 |
| 酿酒酵母 | ATCC 9763 | 棘孢属霉 | FSCC(I)114094 |
| 白色念珠菌 | ATCC 10231 | 拟青霉 | FSCC(I)193009 |
| 浅黄隐球酵母 | FSCC(I)140006 | 黑曲霉 | ATCC 16404 |
| 诺维志假丝酵母 | FSCC(I)129086 | 桔青霉 | As 2788 |
| 德巴利酵母 | FSCC(I)306002 | 巴西曲霉 | ATCC 6275 |
| 解脂耶氏酵母 | FSCC(I)310001 | 阿姆斯特丹菌 | FSCC(I)114045 |
| 涎沫假丝酵母 | FSCC(I)129084 | 烟曲霉 | FSCC(I)114062 |
| 涎沫假丝酵母 | FSCC(I)129081 | 鲜红青霉 | FSCC(I)197052 |
| 季也蒙毕赤酵母 | FSCC(I)214023 | 多变根毛霉 | FSCC(I)208001 |
| 克柔念珠菌 | ATCC 6258 | 壮观丝衣霉 | FSCC(I)240002 |
| 热带假丝酵母 | ATCC 1369 | 短梗霉属 | FSCC(I)2550025 |
| 光滑假丝酵母 | ATCC 15126 | 卷枝毛霉 | FSCC(I)2560001 |
| 克鲁斯假丝酵母 | ATCC 34135 | 橘绿木霉 | FSCC(I)2280013 |
| 皮状新丝孢酵母 | FSCC(I)129094 | 假灰绿曲霉 | FSCC(I)114034 |
| 近平滑假丝酵母 | FSCC(I)129066 | 顶青霉 | FSCC(I)197063 |
| 近平滑假丝酵母 | FSCC(I)129061 | 亮白曲霉 | FSCC(I)206695 |
| 串珠皮状新丝孢酵母 | FSCC(I)129075 | 产红青霉 | FSCC(I)197068 |
| 诺维吉假丝酵母 | FSCC(I)129083 | 谢瓦曲霉 | FSCC(I)114044 |
| 浅白隐球菌 | FSCC(I)140003 | 酒青霉 | FSCC(I)197062 |
| 新丝孢酵母 | FSCC(I)129069 | 腐皮镰刀霉 | FSCC(I)156008 |
| 海洋嗜杀酵母 | FSCC(I)206710 | | |

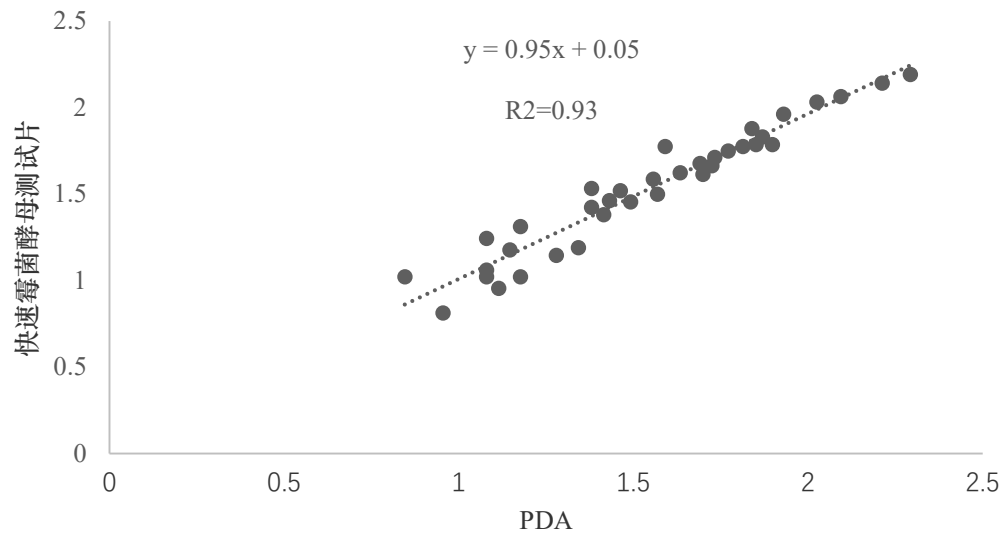


图 2 纯菌株(n=51 株)在霉菌酵母测试片和 PDA 的线性关系

实际样品人工污染酿酒酵母 ATCC9763、黑曲霉 ATCC16404 后在测试片和 PDA 上的检测效果相当。

表 2 人工污染样品霉菌酵母检测结果

| 样品 | 快速霉菌酵母测试片 CFU/plate | PDA CFU/plate |
|-----------|------------------------|------------------|
| 酿酒酵母 | 123 | 132 |
| 益力多 | ATCC9763 | |
| | 黑曲霉 ATCC16404 | 14 |
| 合味道 | 27 | 28 |
| 出前一丁 | 18 | 21 |
| UFO | 22 | 25 |
| 红牛 | 酿酒酵母 | 42 |
| 原味纯酸奶 | ATCC9763 | 29 |
| 原味酸牛奶 | +黑曲霉 | 30 |
| 芝士味原生酪乳 | ATCC16404 | 27 |
| 原生酪乳 | | 25 |
| 杀菌发酵酸牛奶饮品 | | 25 |
| 原味纯酸奶 | | 23 |
| 原味酸牛奶 | | 28 |
| 90 分原味酸奶 | | 24 |

人工污染低菌量的菊花茶，测试片的检出与国标 PDA 和孟加拉红相当。

表 3 低菌量时霉菌酵母测试片的检出效果

| 质控菌 | 培养基 | 菌落数 CFU/plate | 均值 |
|-----|-----|---------------|----|
|-----|-----|---------------|----|

| | | | | | | | | | | | | |
|-----------|------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | RYM | 13 | 17 | 14 | 10 | 9 | 7 | 7 | 14 | 16 | 7 | 12 |
| 酿酒酵母 | | 13 | 21 | 10 | 13 | 6 | 6 | 20 | 10 | 15 | 16 | |
| ATCC9763 | PDA | 11 | 13 | 10 | 11 | 7 | 8 | 17 | 13 | 13 | 14 | 12 |
| | 孟加拉红 | 8 | 8 | 12 | 10 | 12 | 8 | 6 | 9 | 8 | 6 | 9 |
| | RYM | 5 | 5 | 7 | 3 | 2 | 4 | 3 | 5 | 3 | 4 | 4 |
| 黑曲霉 | | 3 | 4 | 4 | 3 | 8 | 3 | 3 | 6 | 5 | 6 | |
| ATCC16404 | PDA | 4 | 7 | 4 | 8 | 4 | 5 | 7 | 4 | 3 | 5 | 5 |
| | 孟加拉红 | 7 | 2 | 7 | 2 | 0 | 10 | 3 | 6 | 7 | 6 | 5 |

19 株纯菌株用滤膜法在快速霉菌酵母测试片上的菌落数与国标平板滤膜法相当（除 1 株光滑念珠菌）。

表 4 滤膜法在测试片的检出效果（CFU）

| 菌种名称 | 菌种编号 | 快速霉菌酵母 测试片 | 孟加拉红 | PDA |
|---------|---------------|---------------|------|------|
| 白色念珠菌 | 90029 | 239 | 245 | 236 |
| 光滑念珠菌 | 001 | 259 | 725 | 848 |
| 酿酒酵母 | GIM R12 | 82 | 35 | 80 |
| 热带念珠菌 | 750 | 118 | 134 | 161 |
| 卡尔斯伯酵母 | 9080 | 173 | 184 | 209 |
| 酿酒酵母 | AS2.1190 | 155 | 78 | 118 |
| 热带假丝酵母 | ACCC 2005 | TNTC | TNTC | TNTC |
| 古迪假丝酵母 | FSCC(I)129078 | TNTC | TNTC | TNTC |
| 宛氏拟青霉 | FSCC(I)193004 | 49 | 54 | 48 |
| 赭曲霉 | FSCC(I)114043 | 46 | 70 | 68 |
| 产红青霉 | FSCC(I)197068 | 50.5 | 37 | 54 |
| 米根霉 | FSCC(I)209003 | 47 | 54 | 51 |
| 聚多曲霉 | FSCC(I)114092 | 18.5 | 27 | 25 |
| 壮观丝衣霉 | FSCC(I)240002 | 89 | 82 | 64 |
| 金黄色土曲霉 | FSCC(I)114093 | 33 | 36 | 32 |
| 近平滑假丝酵母 | FSCC(I)129061 | 124 | 121 | 114 |
| 酒青霉 | FSCC(I)197062 | 15 | 18 | 19 |
| 皮状新丝孢酵母 | FSCC(I)129094 | 86 | 69 | 85 |
| 季也蒙毕赤酵母 | FSCC(I)214014 | TNTC | TNTC | TNTC |

注：以上结果均为 2 个平行的均值。

用菌悬液（黑曲霉 ATCC16404）人工污染不锈钢表面，拭子采集后稀释计数，在测试片上的菌落数与国标 PDA 相当。

表 5 人工污染不锈钢表面的检出结果

| 快速霉菌酵母测试片 (均值) | PDA (均值) |
|---------------------------|---------------------------|
| 159CFU/100cm ² | 144CFU/100cm ² |

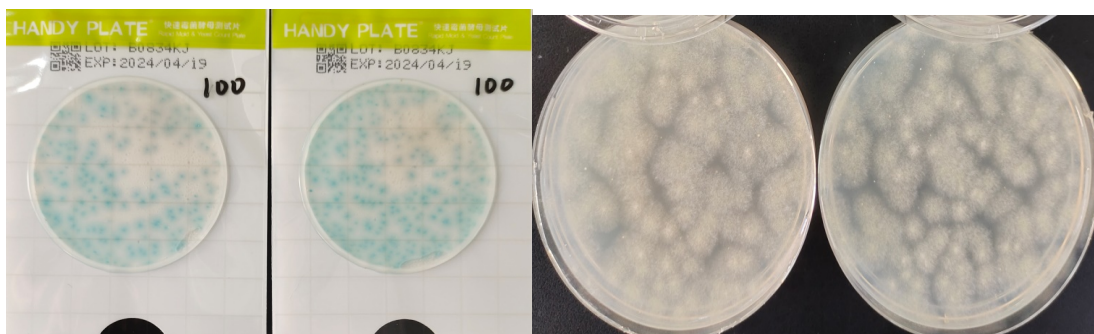


图3 人工污染不锈钢表面霉菌计数结果（左：测试片；右：PDA）

3、实验室间验证结果

（1）准确度实验

三个实验室以相同批次实际样品和有证标准物质（混合菌种，溯源性：CMCC(F) 98003 配制的样品（参考值 627CFU/g，范围 484-759CFU/g）作为方法准确度试验样品，采用快速计数法（参照《干米粉中霉菌酵母的快速计数法》）检测其霉菌酵母的原始测试数据。结果见表 6

表 6 准确度测试数据

| 实验组号 | 浓度 (MPN/g) | 测定值 (CFU/g) | | | | | | 平均值 | 标准偏差 | 相对标准偏差 (%) |
|------|-------------------------|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|------|------|------------|
| | | 第一次 | 第二次 | 第三次 | 第四次 | 第五次 | 第六次 | | | |
| 1 益谱 | 低浓度 $10 \sim 10^2$ | 70 | 60 | 80 | 90 | 60 | 80 | 1.86 | 0.07 | 3.9 |
| | 中浓度 $10^3 \sim 10^4$ | 6300 | 7000 | 7300 | 6100 | 7800 | 7600 | 3.84 | 0.04 | 1.1 |
| | 高浓度 $10^5 \sim 10^6$ | 186000 | 189000 | 176000 | 165000 | 155000 | 161000 | 5.23 | 0.03 | 0.7 |
| | 参考值: 583 | 600 | 790 | 780 | 690 | 620 | 630 | 2.83 | 0.05 | 1.8 |
| 2 益谱 | 低浓度 $10 \sim 10^2$ | 60 | 60 | 70 | 80 | 60 | 70 | 1.82 | 0.05 | 2.8 |
| | 中浓度 $10^3 \sim 10^4$ | 6500 | 6800 | 7500 | 6400 | 7400 | 7000 | 3.84 | 0.03 | 0.7 |
| | 高浓度 $10^5 \sim 10^6$ | 149000 | 153000 | 166000 | 169000 | 175000 | 182000 | 5.22 | 0.03 | 0.6 |
| | 参考值: 627 | 650 | 660 | 690 | 690 | 590 | 600 | 2.81 | 0.03 | 1.0 |
| 3 合创 | 低浓度 $10 \sim 10^2$ | 70 | 70 | 90 | 80 | 70 | 70 | 1.87 | 0.05 | 2.5 |
| | 中浓度 $10^3 \sim 10^4$ | 8000 | 6400 | 7200 | 6600 | 7200 | 7500 | 3.85 | 0.04 | 0.9 |
| | 高浓度 $10^5 \sim 10^6$ | 129000 | 177000 | 168000 | 186000 | 171000 | 152000 | 5.21 | 0.06 | 1.1 |
| | 参考值: 583 | 610 | 820 | 810 | 790 | 630 | 600 | 2.85 | 0.07 | 2.3 |

| | | | | | | | | | | |
|------|-------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|------|------|-----|
| 4 合创 | 低浓度 $10 \sim 10^2$ | 90 | 90 | 50 | 70 | 60 | 70 | 1.85 | 0.10 | 5.4 |
| | 中浓度 $10^3 \sim 10^4$ | 8400 | 7400 | 8200 | 7900 | 7800 | 7500 | 3.90 | 0.02 | 0.5 |
| | 高浓度 $10^5 \sim 10^6$ | 129000 | 167000 | 188000 | 176000 | 151000 | 132000 | 5.19 | 0.07 | 1.3 |
| | 参考值: 627 | 710 | 780 | 770 | 790 | 720 | 740 | 2.88 | 0.02 | 0.7 |
| 5 速竞 | 低浓度 $10 \sim 10^2$ | 70 | 80 | 50 | 40 | 80 | 60 | 1.79 | 0.12 | 6.7 |
| | 中浓度 $10^3 \sim 10^4$ | 1200 | 1200 | 1600 | 1100 | 2100 | 1900 | 3.17 | 0.12 | 3.7 |
| | 高浓度 $10^5 \sim 10^6$ | 123000 | 112000 | 129000 | 119000 | 108000 | 105000 | 5.06 | 0.03 | 0.7 |
| | 参考值: 583 | 470 | 550 | 500 | 500 | 620 | 710 | 2.74 | 0.07 | 2.5 |
| 6 速竞 | 低浓度 $10 \sim 10^2$ | 50 | 50 | 70 | 60 | 50 | 70 | 1.76 | 0.07 | 4.1 |
| | 中浓度 $10^3 \sim 10^4$ | 1250 | 1750 | 1550 | 1760 | 1650 | 1320 | 3.19 | 0.06 | 2.0 |
| | 高浓度 $10^5 \sim 10^6$ | 162000 | 166000 | 156000 | 175000 | 157000 | 163000 | 5.21 | 0.02 | 0.3 |
| | 参考值: 627 | 570 | 530 | 490 | 600 | 610 | 620 | 2.75 | 0.04 | 1.5 |

注：平均值、标准偏差、相对标准偏差为原始数据以 10 为底，对数转化后计算所得。

（2）正确度实验

表 7 为三个实验室以有证标准物质（混合菌种，溯源性：CMCC(F) 98003、ATCC9763）配制的样品（参考值 627CFU/g，范围 484-759CFU/g）作为方法正确度试验样品，采用快速计数法（参照《干米粉中霉菌酵母的快速计数法》）检测其霉菌酵母的原始测试数据。三个实验室的准确度方法验证结果进行统计分析，其结果如表 8。

表 7 正确度测试数据

| 实验组号 | 测定值 (CFU/g) | | | | | | 平均值 | 配制样品 | | 相对误差 (%) |
|------|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-------------|------|----------|
| | 第一次 | 第二次 | 第三次 | 第四次 | 第五次 | 第六次 | | 参考值 (CFU/g) | 对数值 | |
| 1 益谱 | 600 | 790 | 780 | 690 | 620 | 630 | 2.83 | 627 | 2.80 | 1.1 |
| 2 益谱 | 650 | 660 | 690 | 690 | 590 | 600 | 2.81 | | | 0.4 |
| 3 合创 | 610 | 820 | 810 | 790 | 630 | 600 | 2.85 | 627 | 2.80 | 1.8 |
| 4 合创 | 710 | 780 | 770 | 790 | 720 | 740 | 2.88 | | | 2.9 |
| 5 速竞 | 470 | 550 | 500 | 500 | 620 | 710 | 2.74 | 627 | 2.80 | 2.1 |
| 6 速竞 | 570 | 530 | 490 | 600 | 610 | 620 | 2.75 | | | 1.8 |

注：平均值、配制样品对数值、相对误差为原始数据以 10 为底，对数转化后计算所得。

表 8 有证标准物质配制的样品测试数据汇总表

| 实验组号 | 有证标准物质配制的样品 | | | 相对误差（%） |
|---------------|-------------|------------|-------|---------|
| | 测定值平均值 | 参考值（CFU/g） | 参考值对数 | |
| 1 益谱 | 2.83 | 627 | 2.80 | 1.1 |
| 2 益谱 | 2.81 | | | 0.4 |
| 3 合创 | 2.85 | 627 | 2.80 | 1.8 |
| 4 合创 | 2.88 | | | 2.9 |
| 5 速竞 | 2.74 | 627 | 2.80 | 2.1 |
| 6 速竞 | 2.75 | | | 1.8 |
| 实验室内相对误差范围（%） | 0.4-2.9 | | | |
| 相对标准偏差 RSD（%） | 1.97 | | | |

注：表中各项数据均为原始数据以 10 为底，对数转化后计算所得。

(3) 精密度实验

三个实验室方法验证结果精密度的统计分析。其结果如表 9。

表 9 精密度测试数据汇总表

| 实验组号 | 低浓度 | | | 中浓度 | | | 高浓度 | | | 有证标准物质配制的样品 | | |
|--------------|---------|------|------------|---------|------|------------|---------|------|------------|-------------|------|------------|
| | 平均值 | 标准偏差 | 相对标准偏差 (%) | 平均值 | 标准偏差 | 相对标准偏差 (%) | 平均值 | 标准偏差 | 相对标准偏差 (%) | 平均值 | 标准偏差 | 相对标准偏差 (%) |
| 1 益谱 | 1.86 | 0.07 | 3.9 | 3.84 | 0.04 | 1.1 | 5.23 | 0.03 | 0.7 | 2.83 | 0.05 | 1.8 |
| 2 益谱 | 1.82 | 0.05 | 2.8 | 3.84 | 0.03 | 0.7 | 5.22 | 0.03 | 0.6 | 2.81 | 0.03 | 1.0 |
| 3 合创 | 1.87 | 0.05 | 2.5 | 3.85 | 0.04 | 0.9 | 5.21 | 0.06 | 1.1 | 2.85 | 0.07 | 2.3 |
| 4 合创 | 1.85 | 0.10 | 5.4 | 3.90 | 0.02 | 0.5 | 5.19 | 0.07 | 1.3 | 2.88 | 0.02 | 0.7 |
| 5 速竞 | 1.78 | 0.09 | 5.2 | 3.18 | 0.03 | 0.8 | 5.18 | 0.03 | 0.5 | 2.62 | 0.09 | 3.3 |
| 6 速竞 | 1.72 | 0.08 | 4.8 | 3.16 | 0.03 | 0.8 | 5.18 | 0.01 | 0.2 | 2.69 | 0.04 | 1.4 |
| 总平均值 | 1.82 | | | 3.63 | | | 5.20 | | | 2.78 | | |
| 实验室内相对标准偏差范围 | 2.5-5.4 | | | 0.5-1.1 | | | 0.2-1.3 | | | 0.7-3.3 | | |

注：表中各项数据均为原始数据以 10 为底，对数转化后计算所得。

按 HJ 168-2020《环境监测分析方法标准制订技术导则》、《RB/T 033-2020》微生物检测方法确认与验证指南的方法和要求，制定本方法验标技术方案，采用《鲜米粉中大肠菌群的快速计数法》草案开展验证工作。方法的精密度、准确度是评价方法水平的主要技术指标，经方法验证，结果如下：

(1) 3 家实验室 6 个实验组参与了方法验证工作，在进行方法验证报告数据统计时，所有数据全部采用，未进行取舍。

(2) 方法精密度：3 家实验室 6 个实验组分别对低、中、高三个浓度的实际样品及有证标准物质配制的样品进行了 6 次重复测定：实验室内相对标准偏差范围分别为 2.5-5.4%，0.5-1.1%，0.2-1.3%，0.7-3.3%。

(3) 方法正确度：3 家实验室 6 个实验组分别对有证标准物质配制的样品进行了 6 次重复测定：实验室内的相对误差范围为 0.4-2.9%。

(四) 国际标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关资料对比情况。

快速霉菌酵母测试片和 3M 的线性方程： $y=1.03x - 0.08$ ，相关系数 $r=0.99$ ，霉菌酵母测试片方法与 3M 方法两者拟合度良好。P 检验 T 值 $=0.67>0.05$ ，两种方法间无明显差异。

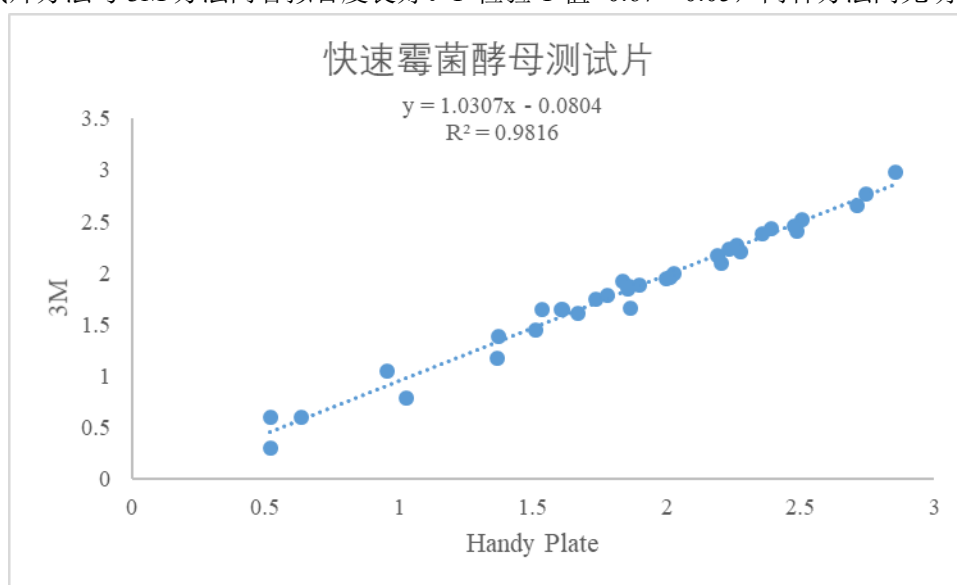


图 4 纯菌株 (n=37 株) 在测试片上和 3M 产品的线性关系

(五) 与现行法律法规和强制性标准的关系：主要说明标准与相应法律法规和强制性标准之间的衔接、协调情况；与现行国标、行标等政府部门颁布标准的衔接情况；科学性、先进性和实用性必要说明。

目前关于食品中霉菌酵母检测的标准主要是：国家标准 GB 4789.15-2016 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌酵母计数》、ISO 21527-1:2008 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95、ISO 21527-2:2008 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95、美国 FDA 的《Bacteriological Analytical Manual Chapter 18: Yeasts, Molds and Mycotoxins》，这些标准使用的平板倾注计数的方法，培养需要 5-7 天，检验周期长难以满足快速检验的需求。

测试片法在国外应用较早并相继获得多家权威机构的认证。3M™ Petrifilm™ Yeast and Mold Count (YM) Plates 997.02、3M™ Petrifilm™ Rapid Yeast and Mold Count Plate 2014.05、MC-Media Pad™ Yeast and Mold Device 2018.02 获得 AOAC 官方分析方法 (OMA) 认证。3M™ Petrifilm™ Rapid Yeast and Mold Count Plate (121301)、MC-Media Pad YM(111401)、MicroFast® Yeast & Mold Count Plate(122101) 获得 AOAC 性能 (PTM) 认证。3M™ Petrifilm™ Rapid Yeast and Mold count plate Certificate (3M 01/13-07/14) 获得 AFNOR 认证。

国内 GB 4789.2-2022 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》已经将测试片法列入标准。另外部分团体和行业标准也采用了测试片法，如 T/CNFIA 156-2022《食

品中霉菌和酵母的快速计数测试片法》、SN/T 5090.1-2018《商品化试剂盒检测方法 霉菌和酵母菌 方法一》、SN/T 5090.2-2018《商品化试剂盒检测方法 霉菌和酵母菌 方法二》。但这些测试片大多为国外技术产品，不但价格昂贵，而且难以从根本上提升我国微生物快速检测技术方法和产品的水平。

本标准为首创制定，发布实施后将填补我国食品行业自主知识产权霉菌酵母快速检测技术的空白。

（六）标准涉及专利的，还应当公开标准涉及专利的信息，获得专利权人的许可声明，并在编制说明中予以注明。

本标准涉及发明专利：ZL 201810097497.1 一种无粉冷水速溶型微量干燥培养基及制备方法和 ZL 201810097490.X 一种耐受嗜中温细菌分解的冷水可溶性凝胶基质及其应用。此专利为广东环凯生物科技有限公司和广东环凯微生物科技有限公司共享知识产权专利，现双方同意使用本专利申报团体标准，特此声明。

（七）重大分歧意见的处理经过和依据：说明各方面专家对标准主要内容（如参数、指标、试验方法）有哪些重大分歧，以及标准起草单位在修改完善标准过程中，对专家分歧意见的处理情况和处理的主要依据。

无。

（八）其它应予说明的事项：主要包括标准项目任务完成中有关标准名称变更、对有争议问题、遗留问题处理、尚需探讨的问题、制定或修订配套标准的说明，以及社会风险评估报告等

无。