



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX
代替 GB/T 37280-2019

荧光增白剂产品中微生物的测定

Determination of microorganisms in fluorescent brighteners product

（征求意见稿）

（本草案完成时间：2026-06-25）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 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。

本文件代替GB/T 37280—2019《荧光增白剂产品中微生物的测定》，与GB/T 37280—2019相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 更改了标准范围（见 1, 2019 年版的 1）；
- b) 增加了菌落总数测试片培养基（见 6.2）；
- c) 删除了样品匀液的制备（2019 年版的 6.1）；
- d) 更改了培养过程，并将营养琼脂培养规定为仲裁检测法（见 7.2, 2019 年版的 6.3）
- e) 更改了有两个连续稀释度的平板（或测试片）菌落数在适宜计数范围内时菌落数计算公式（见 8.5.2 式（1），2019 年版的 6.5.2 式（2））；

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。

本文件由中国石油和化学工业联合会提出。

本文件由全国染料标准化技术委员会（SAC/TC 134）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件于2019年首次发布，本次为第1次修订。

荧光增白剂产品中微生物的测定

1 范围

本文件规定了液体荧光增白剂产品中菌落总数和霉菌的测定方法。

本文件适用于液体荧光增白剂产品中菌落总数和霉菌的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 4789.28 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 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 8170-2008 数值修约规则与极限数值的表示和判定

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

菌落总数 aerobic plate count

样品经过处理，在一定条件下（如培养基、培养温度和培养时间等）培养后，所得单位体积（每毫升）样品中形成的微生物菌落总数。

4 实验室基本要求

4.1 环境

4.1.1 实验室环境不应影响检验结果的准确性。

4.1.2 实验室的工作区域应与办公室区域明显分开。

4.1.3 实验室工作面积和总体布局应能满足从事检验工作的需要，实验室布局应采用单方向工作流程，霉菌和一般细菌的培养场所应分开，避免交叉污染。

4.1.4 实验室内环境的温度、湿度、照度、噪声和洁净度等应符合工作要求。

4.1.5 一般样品检验应在洁净区域（包括超净工作台或洁净实验室）进行，洁净区域应有明显的标示。

4.1.6 病原微生物分离鉴定工作应在二级生物安全实验室进行。

4.2 人员

4.2.1 检验人员应具有相应的教育、微生物专业培训经历，具备相应的资质，能够理解并正确实施检验。

4.2.2 检验人员应掌握实验室生物检验安全操作知识和消毒知识。

- 4.2.3 检验人员应在检验过程中保持个人整洁与卫生，防止人为污染样品。
- 4.2.4 检验人员应在检验过程中遵守相关预防措施的规定，保证自身安全。
- 4.2.5 有颜色视觉障碍的人员不能执行涉及辨色的实验。

5 仪器和设备

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：

- a) 分析天平，感量 0.001g；
- b) 无菌锥形瓶；
- c) 无菌平皿：直径 9cm；
- d) 无菌刻度吸管：10mL、2mL、1mL；
- e) 无菌试管；
- f) 无菌量筒；
- g) pH 计或精密 pH 试纸；
- h) 高压灭菌锅；
- i) 恒温培养箱；
- j) 放大镜或显微镜；

6 培养基和试剂

6.1 实验室用水

实验室用水应符合GB/T 6682-2008中二级水的要求。

6.2 菌落总数培养基

菌落总数培养基使用胰蛋白胨大豆琼脂培养基（TSA），其制备方法见附录A.1。也可以使用菌落总数测试片，菌落总数测试片应符合GB 4789.28中胰蛋白胨大豆琼脂培养基质量控制要求。

6.3 霉菌总数培养基

霉菌总数培养基使用马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA），其制备方法见附录A.2。

6.4 无菌生理盐水

制备方法见附录A.3。

7 操作步骤

7.1 10 倍稀释液的制备

用1mL无菌吸管吸取样品1mL，沿管壁缓慢注于盛有9mL生理盐水的无菌试管中（注意吸管或吸头尖端不要触及稀释液面），振摇试管或换用1支无菌吸管反复吹打使其混合均匀，制成1:10的样品稀释液。

继续上述操作程序，制备10倍系列样品稀释液。每递增稀释一次，换用1次1mL无菌吸管或吸头。

7.2 培养

7.2.1 营养琼脂培养（仲裁法）

根据对样品污染状况的估计，选择2个或3个适宜稀释度（不小于100）的样品稀释液，用无菌吸管吸取1mL样品稀释液于无菌平皿内，每个稀释度制作两个平皿。同时，分别吸取1mL空白稀释液加入两个无菌平皿内作空白对照。

根据测定要求，及时将15mL~20mL冷却至46℃的菌落总数测定用培养基（TSA）或霉菌总数测定用培养基（PDA）（可放置于46℃±1℃恒温水浴箱中保温）倾注于各平皿，并转动平皿使其混合均匀。待琼脂凝固后，将平板翻转，测定菌落总数需要在37℃±1℃培养48h±2h，测定霉菌需要在28℃±1℃培养120h±2h。

7.2.2 测试片培养

如果使用菌落测试片，同样也是根据对样品污染状况的估计，选择2个或3个适宜稀释度（不小于100）的样品稀释液，用无菌吸管吸取1mL样品匀液于测试片上，每个稀释度制作两个测试片。同时，分别吸取1mL空白稀释液加入两个测试片内作空白对照，然后按照测试片所提供的相关技术规程进行操作。

注：考虑到液体荧光增白剂中含有抑菌剂，为了降低样品的抗菌活性，最低稀释倍数不应小于100。

7.3 菌落计数

7.3.1 可用肉眼观察，必要时用放大镜或显微镜观察，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 如果空白平板（或测试片）有菌落生长，则此次检测结果无效，应重新进行检测。

7.3.3 选取菌落数在30CFU~300CFU之间、无蔓延菌落生长的平板（或测试片）计数菌落总数。低于30CFU的平板（或测试片）记录具体菌落数，大于300CFU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（或测试片）的平均数。

7.3.4 其中一个平板（或测试片）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（或测试片）作为该稀释度的菌落数；若片状菌落不到平板（或测试片）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（或测试片）后乘以2，代表一个平板（或测试片）菌落数。

7.3.5 当平板（或测试片）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。

7.4 菌落数计算方法

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

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

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

式中：

N ——样品中菌落数；

$\sum C$ ——平板（或测试片）（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（或测试片）个数；

n_2 ——第二稀释度（高稀释倍数）平板（或测试片）个数；

d ——稀释倍数（第一稀释度）。

7.4.3 若所有稀释度的平板（或测试片）菌落数均大于300CFU，则对稀释度最高的平板（或测试片）进行计数，结果按平板（或测试片）菌落数乘以最高稀释倍数计算。

7.4.4 若所有稀释度的平板（或测试片）菌落数均小于30CFU，则应按稀释度最低的平板（或测试片）菌落数乘以稀释倍数计算。

7.4.5 若所有稀释度（包括液体样品原液）平板（或测试片）均无菌落生长，则以小于1乘以最低稀

释倍数计算。

7.4.6 若所有稀释度的平板（或测试片）菌落数均不在 30CFU~300CFU 之间，其中既有小于 30CFU，又有大于 300 CFU 时，则以最接近 30CFU 或 300CFU 的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

7.5 结果数值修约

菌落数计算结果按GB/T 8170-2008中第3章的规定，修约到两位有效数字。

7.6 结果单位

结果单位为CFU/mL。

8 试验报告

试验报告应包括以下内容：

- a) 被测荧光增白剂的名称；
- b) 本文件编号；
- c) 试验方法和试验条件；
- d) 使用仪器的名称、型号；
- e) 培养基种类；
- f) 测试结果；
- g) 在测试过程中的特殊情况；
- h) 与本方法的差异；
- i) 试验日期。

附录 A

(资料性)

营养琼脂和试剂的成分和制法

A.1 胰蛋白胨大豆琼脂培养基 (TSA)

A.1.1 成分

胰蛋白胨大豆琼脂培养基 (TSA)。成分为:

胰蛋白胨 15 g

植物蛋白胨 5 g

氯化钠 5 g

琼脂粉 15 g

也可购买能够满足菌落生长的混合好的其他配比的干粉培养基。

A.1.2 制法

将上述成分加于1000mL水中,煮沸至溶解,调节pH=7.3±0.2。分装于试管或锥形瓶,121℃高压灭菌15 min。

A.2 马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA)

A.2.1 成分

马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA)。成分为:

马铃薯浸出粉 10 g

葡萄糖 20 g

琼脂粉 13 g

氯霉素 0.1 g

也可购买能够满足霉菌生长的混合好的其他配比的干粉培养基。

A.2.2 制法

称取各组分溶于1000mL水中,煮沸至溶解,分装后经121℃高压灭菌15min备用。

A.3 无菌生理盐水

A.3.1 成分

氯化钠 8.5g

水 1000mL

A.3.2 制法

称取8.5g氯化钠溶于1000mL水中,121℃高压灭菌15min。