



中华人民共和国国家标准

GB 4789.26—2023

食品安全国家标准 食品微生物学检验 商业无菌检验

2023-09-06 发布

2024-03-06 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国 家 市 场 监 督 管 理 总 局 发 布

前　　言

本标准代替 GB 4789.26—2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 商业无菌检验》。

本标准与 GB 4789.26—2013 相比,主要变化如下:

- 增加了商业无菌和酸化食品等的定义;
- 增加了食品生产领域商业无菌检验程序;
- 删除了保温后再次称重的要求和罐头密封性检验方法;
- 修改了标准的适用范围、低酸性食品和酸性食品的定义及检验步骤。

食品安全国家标准

食品微生物学检验 商业无菌检验

1 范围

本标准规定了食品商业无菌检验程序、检验步骤、结果判定与报告要求。

本标准适用于食品商业无菌的检验。

2 术语和定义

2.1 商业无菌

食品经过适度的热杀菌，不含有致病性微生物，也不含有在通常温度下能在其中繁殖的非致病性微生物的状态。

2.2 低酸性食品

凡杀菌后平衡 pH 大于 4.6，水分活度大于 0.85 的食品。

2.3 酸性食品

未经酸化，杀菌后食品本身或汤汁平衡 pH 等于或小于 4.6、水分活度大于 0.85 的食品。pH 小于 4.7 的番茄制品为酸性食品。

2.4 酸化食品

经添加酸度调节剂或通过其他酸化方法将食品酸化后，使水分活度大于 0.85、其平衡 pH 等于或小于 4.6 的食品。

3 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养材料、设备外，其他设备如下。

- 3.1 冰箱：2 ℃～5 ℃；
- 3.2 恒温培养箱：30 ℃±1 ℃，36 ℃±1 ℃，55 ℃±1 ℃；
- 3.3 恒温培养室：30 ℃±2 ℃，36 ℃±2 ℃，55 ℃±2 ℃；
- 3.4 恒温水浴箱：55 ℃±1 ℃；
- 3.5 均质器及无菌均质袋、均质杯或乳钵；
- 3.6 电位 pH 计：准确度为 0.01 pH；
- 3.7 显微镜物镜：10 ×～100 ×；
- 3.8 罐头打孔器或容器开启器；
- 3.9 厌氧培养箱（罐）。

4 培养基和试剂

- 4.1 培养基：见附录 A。

- 4.2 结晶紫染色液:见附录 A 中 A.8。
- 4.3 革兰氏染色液:见附录 A 中 A.9。
- 4.4 无菌生理盐水:见附录 A 中 A.10。
- 4.5 二甲苯。
- 4.6 含 4% 碘的乙醇溶液:4 g 碘溶于 100 mL 的 70% 乙醇溶液。
- 4.7 75% 乙醇溶液:分别量取 75 mL 无水乙醇和 25 mL 水,混合均匀后备用。
- 4.8 70% 乙醇溶液:分别量取 70 mL 无水乙醇和 30 mL 水,混合均匀后备用。

5 食品流通领域商业无菌检验

5.1 检验程序

食品流通领域商业无菌检验程序见图 1。

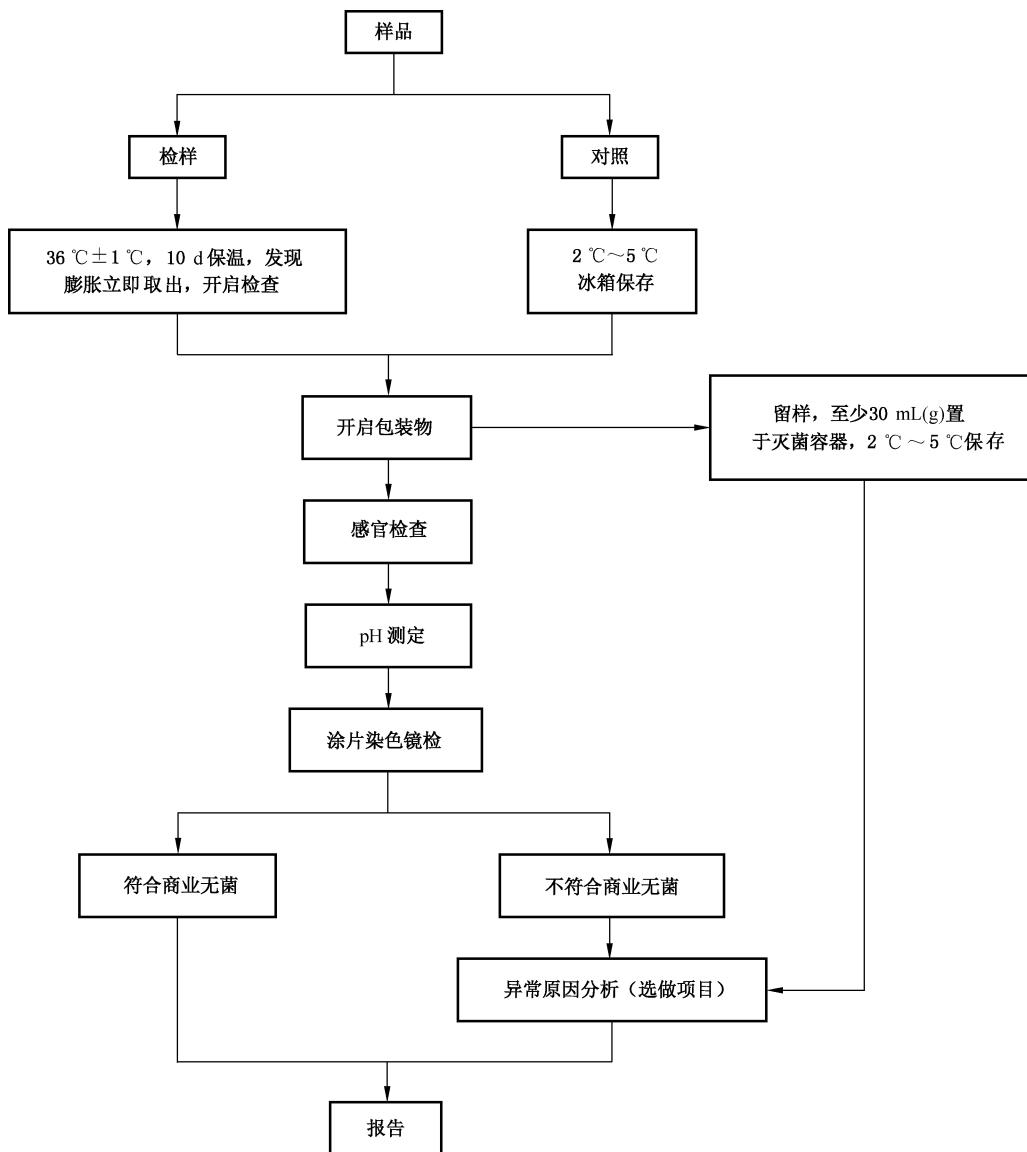


图 1 食品流通领域商业无菌检验程序

5.2 检验步骤

5.2.1 样品准备

抽取样品后,记录产品名称、编号,并在样品包装表面做好标记,应确保样品外观正常,无损伤、锈蚀(仅对金属容器)、泄漏、胀罐(袋、瓶、杯等)等明显的异常情况。

5.2.2 保温

每个批次取1个样品置2℃~5℃冰箱保存作为对照,将其余样品在36℃±1℃下保温10d。保温过程中应每天定时检查,如有胀罐(袋、瓶、杯等)或泄漏现象,应立即取出,按5.2.3开启检查并记录。

5.2.3 开启食品容器

5.2.3.1 所有保温的样品,冷却到常温后,按无菌操作开启检验。

5.2.3.2 保温过程中如有胀罐(袋、瓶、杯等)或泄漏现象,应立即剔出,严重膨胀样品先置于2℃~5℃冰箱内冷藏数小时后,开启食品容器检查。

5.2.3.3 待测样品保温结束后,必要时,可用温水或洗涤剂清洗待检样品的外表面,水冲洗后用无菌毛巾(布或纸)或消毒棉(含75%的乙醇溶液)擦干。用含4%碘的乙醇溶液浸泡(或75%乙醇溶液)消毒外表面30min,再用灭菌毛巾擦干后开启,或在密闭罩内点燃至表面残余的碘乙醇溶液全部燃烧完后开启(膨胀样品及采用易燃包装材料容器的样品不能灼烧)。

5.2.3.4 测试样品应按无菌操作要求开启。带汤汁的样品开启前应适当振摇。对于金属容器样品,使用无菌开罐器或罐头打孔器,在消毒后的罐头光滑面开启一个适当大小的口或者直接拉环开启,开罐时不得伤及卷边结构。每次开罐前,应保证开罐器处于无菌状态,防止交叉污染。对于软包装样品,可以使用灭菌剪刀开启,不得损坏接口处。

注:严重胀罐(袋、瓶、杯等)样品可能会发生爆喷,喷出有毒物,可采取在样品上盖一条无菌毛巾或者用一个无菌漏斗倒扣在样品上等预防措施,防止这类危险的发生。

5.2.4 留样

开启后,用灭菌吸管或其他适当工具以无菌操作取出内容物至少30mL(g)至灭菌容器内,保存于2℃~5℃冰箱中,在需要时可用于进一步试验,待该批样品得出检验结论后可弃去。

5.2.5 感官检查

在光线充足、空气清洁无异味的检验室中,将样品内容物倾入白色搪瓷盘或玻璃容器(适用于液体样品)内,对产品的组织、形态、色泽和气味等进行观察和嗅闻,含固体物样品应按压食品检查产品性状,鉴别食品有无腐败变质的迹象,同时观察包装容器内部的情况,并记录。

5.2.6 pH测定及结果分析

5.2.6.1 测定

罐头食品应按照GB 5009.237规定的方法测定。其他食品参照执行。

5.2.6.2 结果分析

与同批中冷藏保存的对照样品相比,比较是否有显著差异。pH相差0.5及以上判为显著差异。

5.2.7 涂片染色镜检

5.2.7.1 涂片

取样品内容物进行涂片。带汤汁的样品可用接种环挑取汤汁涂于载玻片上,固态食品可直接涂片

或用少量灭菌生理盐水稀释后涂片,待干后用火焰固定。油脂性食品涂片自然干燥并火焰固定后,用二甲苯等脱脂剂流洗,自然干燥。

5.2.7.2 染色镜检

对 5.2.7.1 中涂片用结晶紫染色液进行单染色,干燥后镜检,至少观察 5 个视野,记录菌体的形态特征以及每个视野的菌数。与同批冷藏保存对照样品相比,判断是否有明显的微生物增殖现象。菌数有百倍或百倍以上的增长则判为明显增殖。

5.3 结果判定与报告

5.3.1 样品经保温试验未胀罐(袋、瓶、杯等)或未泄漏时,保温后开启,经感官检查、pH 测定、涂片镜检,确证无微生物增殖现象,则可报告该样品为商业无菌。

5.3.2 样品经保温试验未胀罐(袋、瓶、杯等)或未泄漏时,保温后开启,经感官检查、pH 测定、涂片镜检,确证有微生物增殖现象,则可报告该样品为非商业无菌。

5.3.3 样品经保温试验发生胀罐(袋、瓶、杯等)且感官异常或泄漏时,直接判定为非商业无菌;若需核查样品出现膨胀、pH 或感官异常、微生物增殖等原因,可取样品内容物的留样按照附录 B 进行接种培养并报告。

6 食品生产领域商业无菌检验

6.1 食品生产领域商业无菌检验程序

食品生产领域商业无菌检验程序参见图 2。

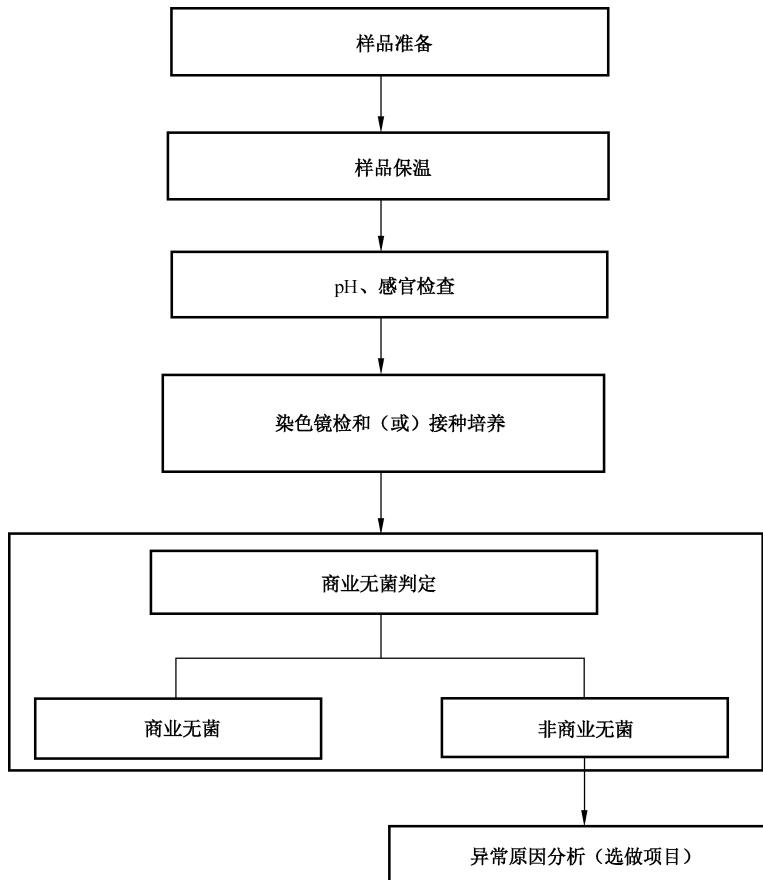


图 2 食品生产领域商业无菌检验程序

6.2 检验步骤

6.2.1 样品准备

食品生产加工结束后,生产企业应根据产品特性和企业质量目标、产品的杀菌方式、规格、批量大小等因素,参照相关国家标准,建立合适的抽样方案和 AQL(接收质量限)。

根据检验目标,抽取样品后检查并记录,应确保样品外观正常,无损伤、锈蚀(仅对金属容器)、泄漏、胀罐(袋、瓶、杯等)等明显的异常情况。

6.2.2 保温

食品生产企业可参考表 1 制定适合本企业产品检验的保温方案。对抽取的样品,应按保温方案要求,进行恒温培养室或恒温培养箱保温,保温过程中应每天定时检查,如有胀罐(袋、瓶、杯等)或泄漏现象,应立即取出,按 6.2.3 开启检查并记录。

表 1 样品保温时间和温度推荐方案

样品属性	种类	温度 ℃	时间 d
低酸性食品、酸化食品	乳制品、饮料等液态食品	36±1	7
	罐头食品	36±1	10
	预定销售时产品贮存 温度 40 ℃以上的低酸性食品	55±1	6±1
酸性食品	罐头食品、饮料	30±1	10

注: 恒温培养室温度偏差可为±2 ℃。

6.2.3 开启食品容器

应按照 5.2.3 规定的步骤开启。

6.2.4 留样

开启后,用灭菌吸管或其他适当工具以无菌操作取出内容物至少 30 mL(g)至灭菌容器内,保存于 2 ℃~5 ℃冰箱中,在需要时可用于进一步试验,待该批样品得出检验结论后可弃去。开启后的样品容器可进行适当的保存,以备日后容器检查时使用。

6.2.5 感官检查

应按照 5.2.5 规定的步骤留样。

6.2.6 pH 测定及结果分析

生产企业应根据产品的特性,建立对该类产品的 pH 正常控制范围。应按照 GB 5009.237 或相关标准测定 pH。pH 值若超过正常控制范围,应进行染色镜检。

6.2.7 涂片染色镜检

6.2.7.1 涂片

对感官或 pH 检查结果认为可疑的,以及腐败时 pH 反应不灵敏的(如肉、禽、鱼等)罐头样品,均应进行涂片染色镜检。

取样品内容物进行涂片。带汤汁的样品可用接种环挑取汤汁涂于载玻片上,固态食品可直接涂片或用少量灭菌生理盐水稀释后涂片,待干后用火焰固定。油脂性食品涂片自然干燥并火焰固定后,用二甲苯等脱脂剂流洗,自然干燥。

6.2.7.2 染色镜检

对 6.2.7.1 中涂片用结晶紫染色液进行单染色,干燥后镜检,至少观察 5 个视野,记录菌体的形态特征以及每个视野的菌数。

生产企业可根据产品特性,建立该类产品微生物明显增殖的判断标准,与判断标准或同批正常样品(如未胀罐(袋、瓶、杯等)、感官无异常样品)相比,判断是否有明显的微生物增殖现象。

6.2.8 接种培养

保温期间出现的胀罐(袋、瓶、杯等)、泄漏或开启检查发现 pH、感官质量异常、腐败变质,进一步镜检发现有异常数量细菌的样品,均可按照附录 B 进行微生物接种培养和异常分析。

6.3 结果判定与报告

6.3.1 抽取样品经保温试验未胀罐(袋、瓶、杯等)或未泄漏时,经感官检查、pH 检验或染色镜检或接种培养,确证无微生物增殖现象,则报告该样品为商业无菌;

6.3.2 抽取样品经保温试验未胀罐(袋、瓶、杯等)或未泄漏时,经感官检查、pH 检验或染色镜检或接种培养,确证有微生物增殖现象,则报告该样品为非商业无菌。

6.3.3 抽取样品经保温试验发生胀罐(袋、瓶、杯等)且感官异常或泄漏时,报告该样品为非商业无菌。

附录 A
培养基和试剂

A.1 溴甲酚紫葡萄糖肉汤**A.1.1 成分**

蛋白胨	10.0 g
牛肉浸膏	3.0 g
葡萄糖	10.0 g
氯化钠	5.0 g
溴甲酚紫	0.04 g(或 1.6%乙醇溶液 2.0 mL)
蒸馏水	1 000.0 mL

A.1.2 制法

将除溴甲酚紫外的各成分加热搅拌溶解,校正 pH 至 7.0±0.2,加入溴甲酚紫,分装于带有小倒管的试管中,每管 10 mL,121 °C 高压灭菌 10 min。

A.2 肉培养基**A.2.1 成分**

牛肉浸液	1 000.0 mL
蛋白胨	30.0 g
酵母膏	5.0 g
葡萄糖	3.0 g
磷酸二氢钠	5.0 g
可溶性淀粉	2.0 g
碎肉渣	适量

A.2.2 制法

A.2.2.1 称取新鲜除脂肪和筋膜的碎牛肉 500 g,加蒸馏水 1 000 mL 和 1 mol/L 氢氧化钠溶液 25.0 mL,搅拌煮沸 15 min,充分冷却,除去表层脂肪,澄清,过滤,加水补足至 1 000 mL,即为牛肉浸液。加入 A.2.1 除碎肉渣外的各种成分,校正 pH 至 7.8±0.2。

A.2.2.2 碎肉渣经水洗后晾至半干,分装 15 mm×150 mm 试管,高 2 cm~3 cm,每管加入还原铁粉 0.1 g~0.2 g 或铁屑少许。将 A.2.2.1 配制的液体培养基分装至每管内超过肉渣表面约 1 cm。上面覆盖溶化的凡士林或液体石蜡 0.3 cm~0.4 cm。121 °C 灭菌 15 min。

A.3 营养琼脂

A.3.1 成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉膏	3.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	15.0 g~20.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL

A.3.2 制法

将除琼脂以外的各成分溶解于蒸馏水内,加入15%氢氧化钠溶液约2mL,校正pH至7.2~7.4。加入琼脂,加热煮沸,使琼脂溶化。分装烧瓶或13 mm×130 mm试管,121 °C高压灭菌15 min。

A.4 酸性肉汤

A.4.1 成分

多价蛋白胨	5.0 g
酵母浸膏	5.0 g
葡萄糖	5.0 g
磷酸二氢钾	5.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL

A.4.2 制法

将A.4.1中各成分加热搅拌溶解,校正pH至5.0±0.2,121 °C高压灭菌15 min。

A.5 麦芽浸膏汤

A.5.1 成分

麦芽浸膏	15.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL

A.5.2 制法

将麦芽浸膏在蒸馏水中充分溶解,滤纸过滤,校正pH至4.7±0.2,分装,121 °C灭菌15 min。

A.6 沙氏葡萄糖琼脂

A.6.1 成分

蛋白胨	10.0 g
琼脂	15.0 g
葡萄糖	40.0 g

蒸馏水	1 000.0 mL
-----	------------

A.6.2 制法

将各成分在蒸馏水中溶解, 加热煮沸, 分装在烧瓶中, 校正 pH 至 5.6 ± 0.2 , 121 °C 高压灭菌 15 min。

A.7 肝小牛肉琼脂

A.7.1 成分

肝浸膏	50.0 g
小牛肉浸膏	500.0 g
胰蛋白胨	20.0 g
新蛋白胨	1.3 g
胰蛋白胨	1.3 g
葡萄糖	5.0 g
可溶性淀粉	10.0 g
等离子酪蛋白	2.0 g
氯化钠	5.0 g
硝酸钠	2.0 g
明胶	20.0 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL

A.7.2 制法

在蒸馏水中将各成分混合。校正 pH 至 7.3 ± 0.2 , 121 °C 灭菌 15 min。

A.8 结晶紫染色液

A.8.1 成分

结晶紫	1.0 g
95%乙醇	20.0 mL
1%草酸铵水溶液	80.0 mL

A.8.2 制法

将 1.0 g 结晶紫完全溶解于 95% 乙醇中, 再与 1% 草酸铵溶液混合。

A.8.3 染色法

将涂片在酒精灯火焰上固定, 滴加结晶紫染液, 染 1 min, 水洗。

A.9 革兰氏染色液

A.9.1 结晶紫染色液

同 A.8。

A.9.2 革兰氏碘液

A.9.2.1 成分

碘	1.0 g
碘化钾	2.0 g
蒸馏水	300.0 mL

A.9.2.2 制法

将 1.0 g 碘与 2.0 g 碘化钾先行混合, 加入蒸馏水少许充分振摇, 待完全溶解后, 再加蒸馏水至 300 mL。

A.9.3 沙黄复染液

A.9.3.1 成分

沙黄	0.25 g
95%乙醇	10.0 mL
蒸馏水	90.0 mL

A.9.3.2 制法

将 0.25 g 沙黄溶解于乙醇中, 然后用蒸馏水稀释。

A.9.4 染色法

A.9.4.1 涂片在火焰上固定, 滴加结晶紫染液, 染 1 min, 水洗。

A.9.4.2 滴加革兰氏碘液, 作用 1 min, 水洗。

A.9.4.3 滴加 95%乙醇脱色 15 s~30 s, 直至染色液被洗掉, 不要过分脱色, 水洗。

A.9.4.4 滴加复染液, 复染 1 min, 水洗、待干、镜检。

A.10 无菌生理盐水

A.10.1 成分

氯化钠	8.5 g
蒸馏水	1 000.0 mL

A.10.2 制法

称取 8.5 g 氯化钠溶于 1 000 mL 蒸馏水中, 121 °C 高压灭菌 15 min。

附录 B
接种培养和异常分析

B.1 低酸性食品的接种培养

B.1.1 对低酸性食品,每份样品接种 4 管预先加热到 100 ℃并迅速冷却到室温的庖肉培养基内;同时接种 4 管溴甲酚紫葡萄糖肉汤。每管接种 1 mL(g)~2 mL(g)样品(液体样品为 1 mL~2 mL,固体为 1 g~2 g,两者皆有时,应各取一半)。培养条件见表 B.1。

表 B.1 低酸性食品($\text{pH} > 4.6$)接种的庖肉培养基和溴甲酚紫葡萄糖肉汤

培养基	管数	培养温度 ℃	培养时间 h
庖肉培养基	2	36±1	96~120
庖肉培养基	2	55±1	24~72
溴甲酚紫葡萄糖肉汤	2	55±1	24~48
溴甲酚紫葡萄糖肉汤	2	36±1	96~120

B.1.2 经过表 B.1 规定的培养条件培养后,记录每管有无微生物生长。如果没有微生物生长,则记录后弃去。

B.1.3 如果有微生物生长,以接种环蘸取液体涂片,革兰氏染色镜检。如在溴甲酚紫葡萄糖肉汤管中观察到不同的微生物形态或单一的球菌、真菌形态,则记录并弃去。在庖肉培养基中未发现杆菌,培养物内含有球菌、酵母、霉菌或其混合物,则记录并弃去。将溴甲酚紫葡萄糖肉汤和庖肉培养基中出现生长的其他各阳性管分别划线接种 2 块肝小牛肉琼脂或营养琼脂平板,一块平板作需氧培养,另一平板作厌氧培养。培养程序见图 B.1。

B.1.4 挑取需氧培养中单个菌落,接种于营养琼脂小斜面,用于后续的革兰氏染色镜检;挑取厌氧培养中的单个菌落涂片,革兰氏染色镜检。挑取需氧和厌氧培养中的单个菌落,接种于庖肉培养基,进行纯培养。

B.1.5 挑取营养琼脂小斜面和厌氧培养的庖肉培养基中的培养物涂片镜检。

B.1.6 挑取纯培养中的需氧培养物接种肝小牛肉琼脂或营养琼脂平板,进行厌氧培养;挑取纯培养中的厌氧培养物接种肝小牛肉琼脂或营养琼脂平板,进行需氧培养。以鉴别是否为兼性厌氧菌。

B.1.7 如果需检测梭状芽孢杆菌的肉毒毒素,挑取典型菌落接种庖肉培养基作纯培养。36 ℃培养 5 d,按照 GB 4789.12 进行肉毒毒素检验。

B.2 酸性和酸化食品的接种培养

B.2.1 每份样品接种 4 管酸性肉汤和 2 管麦芽浸膏汤。每管接种 1 mL(g)~2 mL(g)样品(液体样品为 1 mL~2 mL,固体为 1 g~2 g,两者皆有时,应各取一半)。培养条件见表 B.2。

表 B.2 酸性和酸化食品接种的酸性肉汤和麦芽浸膏汤

培养基	管数	培养温度 ℃	培养时间 h
酸性肉汤	2	55±1	48
酸性肉汤	2	30±1	96
麦芽浸膏汤	2	30±1	96

B.2.2 经过表 B.2 中规定的培养条件培养后,记录每管有无微生物生长。如果没有微生物生长,则记录后弃去。

B.2.3 对有微生物生长的培养管,取培养后的内容物的直接涂片,革兰氏染色镜检,记录观察到的微生物。

B.2.4 如果在 30 ℃培养条件下在酸性肉汤或麦芽浸膏汤中有微生物生长,将各阳性管分别接种 2 块营养琼脂或沙氏葡萄糖琼脂平板,一块作需氧培养,另一块作厌氧培养。

B.2.5 如果在 55 ℃培养条件下,酸性肉汤中有微生物生长,将各阳性管分别接种 2 块营养琼脂平板,一块作需氧培养,另一块作厌氧培养。对有微生物生长的平板进行染色涂片镜检,并报告镜检所见微生物型别。培养程序见图 B.2。

B.2.6 挑取 30 ℃需氧培养的营养琼脂或沙氏葡萄糖琼脂平板中的单个菌落,接种营养琼脂小斜面,用于后续的革兰氏染色镜检。同时接种酸性肉汤或麦芽浸膏汤进行纯培养。

挑取 30 ℃厌氧培养的营养琼脂或沙氏葡萄糖琼脂平板中的单个菌落,接种酸性肉汤或麦芽浸膏汤进行纯培养。

挑取 55 ℃需氧培养的营养琼脂平板中的单个菌落,接种营养琼脂小斜面,用于后续的革兰氏染色镜检。同时接种酸性肉汤进行纯培养。

挑取 55 ℃厌氧培养的营养琼脂平板中的单个菌落,接种酸性肉汤进行纯培养。

B.2.7 挑取营养琼脂小斜面中的培养物涂片镜检。挑取 30 ℃厌氧培养的酸性肉汤或麦芽浸膏汤培养物和 55 ℃厌氧培养的酸性肉汤培养物涂片镜检。

B.2.8 将 30 ℃需氧培养的纯培养物接种于营养琼脂或沙氏葡萄糖琼脂平板中进行厌氧培养,将 30 ℃厌氧培养的纯培养物接种于营养琼脂或沙氏葡萄糖琼脂平板中进行需氧培养,将 55 ℃需氧培养的纯培养物接种于营养琼脂中进行厌氧培养,将 55 ℃厌氧培养的纯培养物接种于营养琼脂中进行需氧培养,以鉴别是否为兼性厌氧菌。

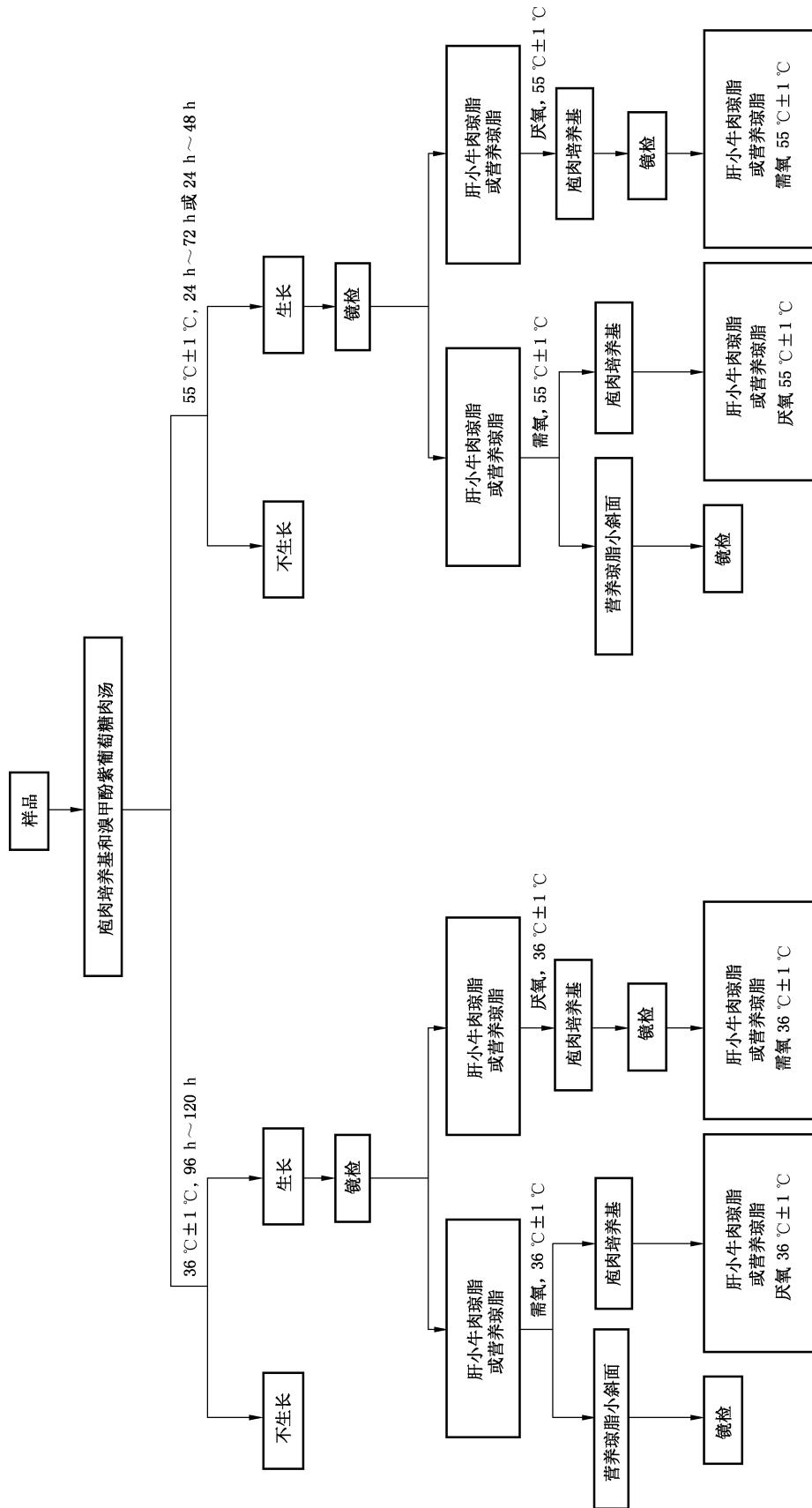


图 B.1 低酸性食品接种培养程序

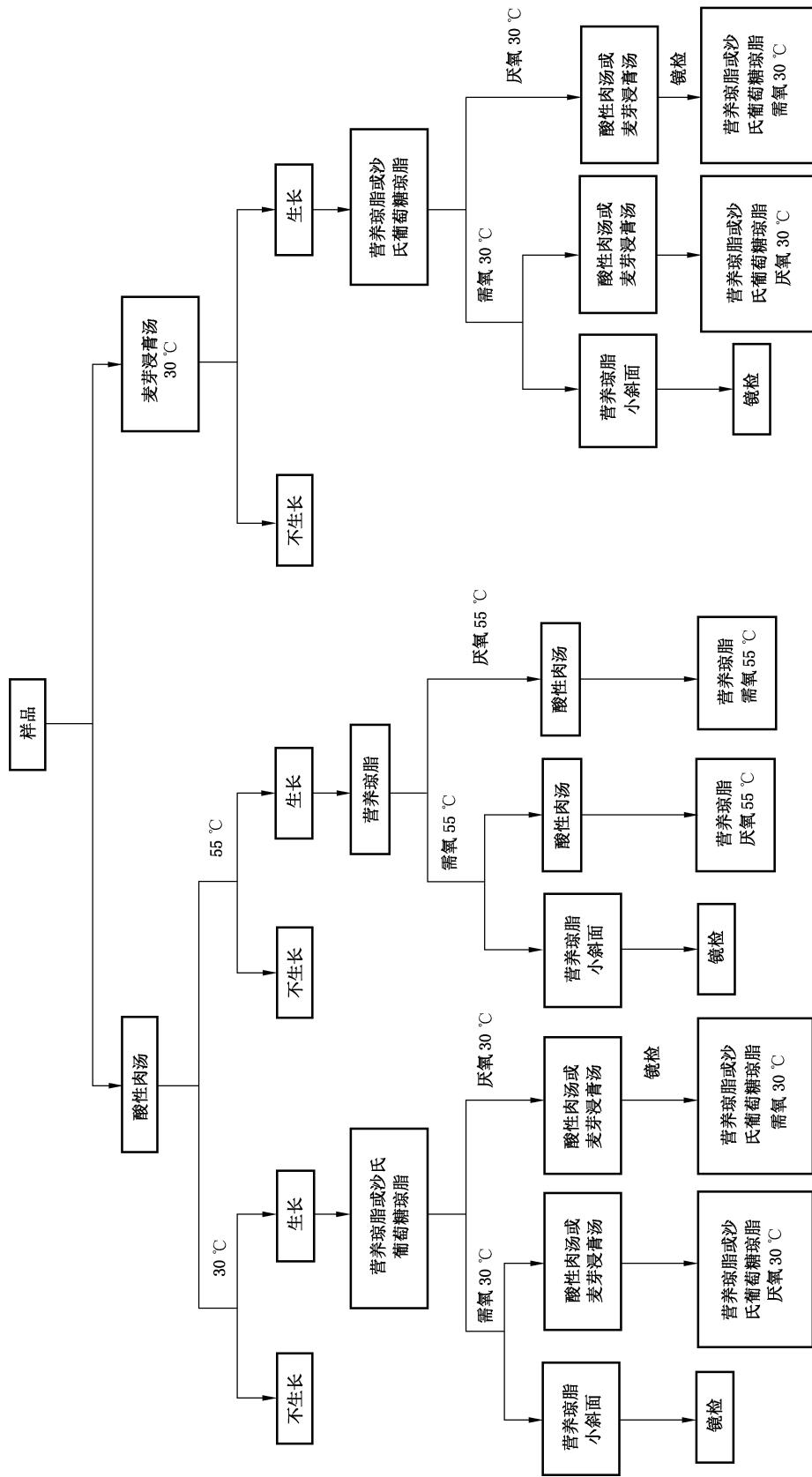


图 B.2 酸性和酸化食品接种培养程序

B.2.9 结果分析

B.2.9.1 如果在胀罐的样品里没有发现微生物的生长, 胀罐可能是由于内容物和金属容器发生反应产生氢气造成的。产生氢气的量随贮存的时间长短和存储条件而变化。填装过满也可能导致轻微的膨胀, 可以通过称重来确定是否由于填装过满所致。

在直接涂片中看到有大量细菌的混合菌相, 但是经培养后不生长, 表明杀菌前发生的腐败。由于容器密封前细菌生长的结果, 导致产品的 pH、气味和组织形态呈现异常。

B.2.9.2 食品容器密封性良好时, 在 36 ℃培养条件下, 若只有芽孢杆菌生长, 且它们的耐热性不高于肉毒梭菌(*C.botulinum*), 则表明生产过程中杀菌不足。

B.2.9.3 培养出现杆菌和球菌、真菌的混合菌落, 表明食品容器发生泄漏。也有可能是杀菌不足所致, 但在这种情况下同批产品的膨胀率将很高。

B.2.9.4 在 36 ℃或 55 ℃溴甲酚紫葡萄糖肉汤培养观察产酸产气情况, 如有产酸, 表明是有嗜中温的微生物, 如嗜温耐酸芽孢杆菌, 或者嗜热微生物, 如嗜热脂肪芽孢杆菌(*B.stearothermophilus*)生长。

在 55 ℃的庖肉培养基上有细菌生长并产气, 发出腐烂气味, 表明样品腐败是由嗜热的厌氧梭菌所致。

在 36 ℃庖肉培养基上生长并产生带腐烂气味的气体, 镜检可见芽孢, 表明腐败可能是由肉毒梭菌(*C.botulinum*)、生孢梭菌(*C.sporogenes*)或产气荚膜梭菌(*C.perfringens*)引起的。有需要可以进一步进行肉毒毒素检测。

B.2.9.5 酸性食品的变质通常是由于无芽孢的乳杆菌和酵母所致。一般 pH 低于 4.6 的情况下不会发生由芽孢杆菌引起的变质, 但变质的番茄酱或番茄汁罐头并不出现膨胀, 但有腐臭味, 伴有或不伴有 pH 降低, 一般是由于需氧的芽孢杆菌所致。

B.2.9.6 有些罐头因杀菌强度或冷却工序不规范有可能含有嗜热菌的芽孢, 在正常的贮存条件下不生长, 但当产品贮存于较高的温度(50 ℃~55 ℃)时, 嗜热菌就会生长并引起腐败。嗜热耐酸的芽孢杆菌和嗜热脂肪芽孢杆菌分别在酸性和低酸性的食品中引起腐败但是并不出现包装容器膨胀。在 55 ℃培养不会引起包装容器外观的改变, 但会产生臭味, 伴有或不伴有 pH 的降低。番茄、梨、无花果和菠萝等类罐头的腐败变质, 有时是由于巴斯德梭菌(*C.pasteurianum*)引起。嗜热解糖梭状芽孢杆菌(*C.thermosaccharolyticum*)就是一种嗜热厌氧菌, 能够引起膨胀和产品的腐烂气味。

嗜热厌氧菌也能产气, 由于在细菌开始生长之后迅速增殖, 可能混淆膨胀是由于氢气引起的还是嗜热厌氧菌产气引起的。化学物质分解将产生二氧化碳, 尤其是集中发生在含糖和一些酸的食品如番茄酱、糖蜜、甜馅和高糖的水果的罐头中。这种分解速度随着温度上升而加快。

B.2.9.7 无菌灌装和正常的产品直接涂片, 分离出任何微生物应该怀疑是实验室污染。为了证实是否实验室污染, 在无菌的条件下接种该分离出的活的微生物到另一个正常的对照样品, 密封, 在 36 ℃培养 14 d。如果发生膨胀或产品变质, 这些微生物就可能不是来自原始样品。如果样品仍然是平坦的, 无菌操作打开样品包装并按上述步骤做再次培养; 如果同一种微生物被再次发现并且产品是正常的, 认为该产品商业无菌, 因为这种微生物在正常的运输和贮存过程中不生长。

B.2.9.8 如果食品本身发生混浊, 肉汤培养可能得不出确定性结论, 这种情况需进一步培养以确定是否有微生物生长。