附件 16

牙膏中霉菌和酵母菌计数检验方法

 Molds and Yeasts Count

1 范围

本规范规定了牙膏中霉菌和酵母菌数的检验方法。

本规范适用于牙膏中霉菌和酵母菌数的测定。

2 定义

霉菌和酵母菌数测定Molds and yeasts count

牙膏检样经过处理，在一定条件下培养后，1g检样中形成的霉菌和酵母菌总数，藉以判明牙膏被霉菌和酵母菌污染程度及其一般卫生状况。

本方法根据霉菌和酵母菌特有的形态和培养特性，在虎红培养基上，置28℃±2℃培养5d，计算所生长的霉菌和酵母菌数。

3 仪器和设备

3.1 恒温培养箱：28℃±2℃。

3.2 振荡器。

3.3 三角瓶：250mL。

3.4 试管：18mm×150mm。

3.5 灭菌平皿：直径90mm。

3.6 灭菌刻度吸管：10mL、1mL。

3.7 量筒：200mL。

3.8 酒精灯。

3.9 高压灭菌器。

3.10 恒温水浴箱。

4 培养基和试剂

4.1 SCDLP液体培养基

见总则中3.1。

4.2 虎红（孟加拉红）培养基

 成分：蛋白胨 5g

 葡萄糖 10g

 磷酸二氢钾 1g

 硫酸镁（无水） 0.5 g

 琼脂 20g

 1/3000虎红溶液 100mL

（四氯四碘荧光素）

 蒸馏水加至 1000mL

 氯霉素 100mg

制法：将上述各成分（除虎红外）加入蒸馏水中溶解后，再加入虎红溶液。分装后，121℃高压灭菌20min，另用少量乙醇溶解氯霉素，溶解过滤后加入培养基中，若无氯霉素，使用时每1000mL加链霉素30mg。

5 操作步骤

5.1 样品稀释

牙膏样品的稀释分别见菌落总数测定中5.1。

5.2 取1:10、1:100、1:1000的检液各2mL，分别注入2个灭菌平皿内，每皿1mL，注入融化并冷却至45℃±1℃左右的虎红培养基，充分摇匀。凝固后，翻转平板，置28℃±2℃培养5d，观察并记录。另取一个不加检液的灭菌空平皿，加入约15mL虎红培养基，待琼脂凝固后，翻转平皿，置28℃±2℃培养箱内培养5d，为空白对照。

5.3 计算方法：先点计每个平板上生长的霉菌和酵母菌菌落数，求出每个稀释度的平均菌落数。判定结果时，应选取菌落数在5CFU～50CFU范围之内的平皿计数，乘以稀释倍数后，即为每g检样中所含的霉菌和酵母菌数。其他范围内的菌落数报告应参照菌落总数的报告方法报告之。

5.4 每g牙膏含霉菌和酵母菌数以CFU/g表示。