

中华人民共和国国家标准

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

2013-11-29 发布

2014-06-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

前　　言

本标准代替 GB/T 4789.26—2003《食品卫生微生物学检验 罐头食品商业无菌的检验》。

本标准与 GB/T 4789.26—2003 相比主要变化如下：

- 修改了标准的名称；
- 修改了范围；
- 删除了规范性引用文件；
- 删除了术语和定义；
- 修改了设备和材料；
- 修改了培养基和试剂；
- 增加了检验程序图；
- 修改了检验步骤；
- 修改了结果判定；
- 修改了附录 A 和附录 B。

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的基本要求、操作程序和结果判定。

本标准适用于食品商业无菌的检验。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1 低酸性罐藏食品 low acid canned food

除酒精饮料以外，凡杀菌后平衡 pH 大于 4.6，水分活度大于 0.85 的罐藏食品，原来是低酸性的水果、蔬菜或蔬菜制品，为加热杀菌的需要而加酸降低 pH 的，属于酸化的低酸性罐藏食品。

2.2 酸性罐藏食品 acid canned food

杀菌后平衡 pH 等于或小于 4.6 的罐藏食品。pH 小于 4.7 的番茄、梨和菠萝以及由其制成的汁，以及 pH 小于 4.9 的无花果均属于酸性罐藏食品。

3 设备和材料

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) 冰箱：2 ℃～5 ℃；
- b) 恒温培养箱：30 ℃±1 ℃；36 ℃±1 ℃；55 ℃±1 ℃；
- c) 恒温水浴箱：55 ℃±1 ℃；
- d) 均质器及无菌均质袋、均质杯或乳钵；
- e) 电位 pH 计（精确度 pH0.05 单位）；
- f) 显微镜：10 倍～100 倍；
- g) 开罐器和罐头打孔器；
- h) 电子秤或台式天平；
- i) 超净工作台或百级洁净实验室。

4 培养基和试剂

- 4.1 无菌生理盐水：见附录 A 中 A.1。
- 4.2 结晶紫染色液：见附录 A 中 A.2。
- 4.3 二甲苯。
- 4.4 含 4% 碘的乙醇溶液：4 g 碘溶于 100 mL 的 70% 乙醇溶液。

5 检验程序

商业无菌检验程序见图 1。

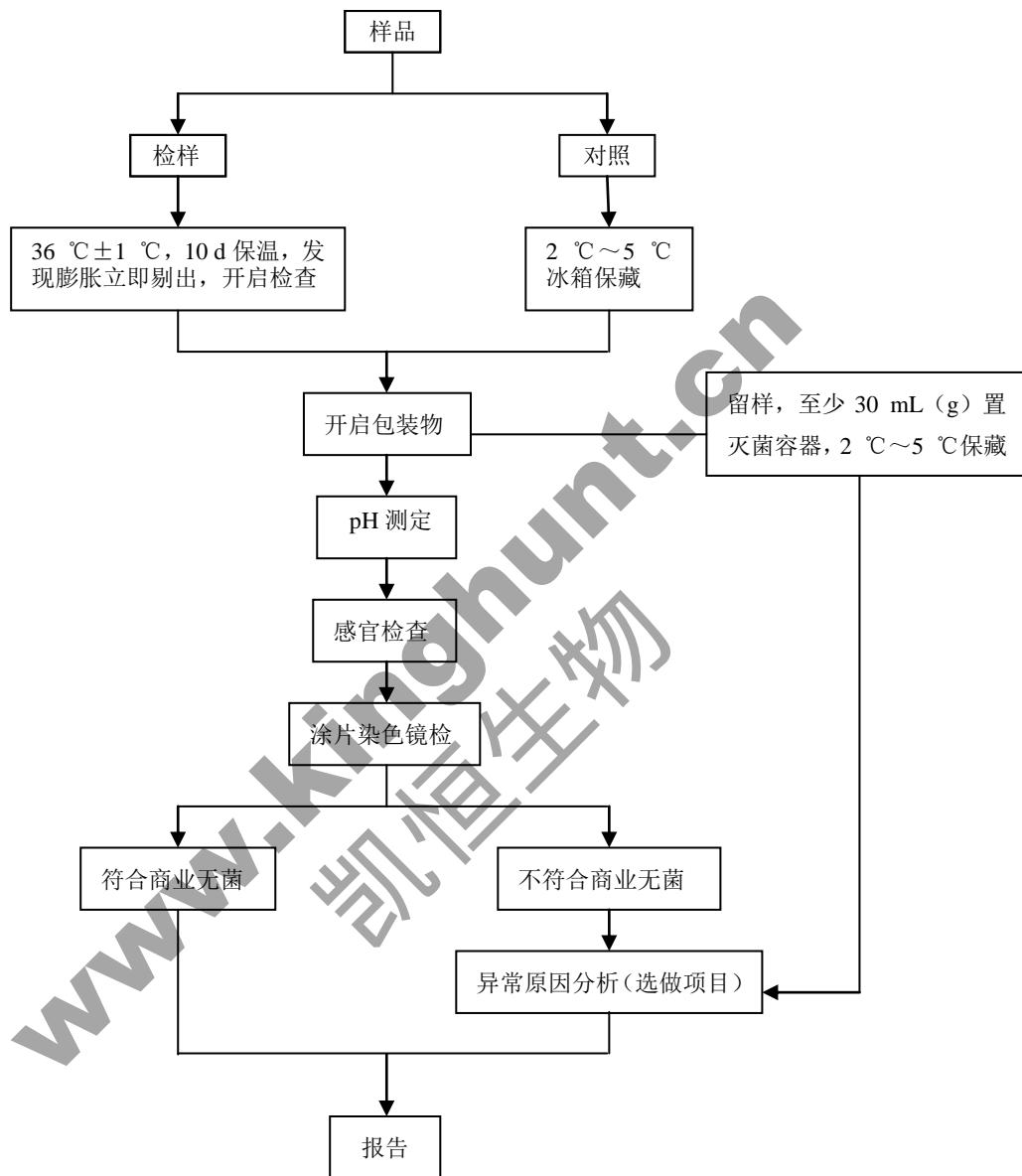


图 1 商业无菌检验程序

6 操作步骤

6.1 样品准备

去除表面标签，在包装容器表面用防水的油性记号笔做好标记，并记录容器、编号、产品性状、泄漏情况、是否有小孔或锈蚀、压痕、膨胀及其他异常情况。

6.2 称重

1 kg 及以下的包装物精确到 1 g，1 kg 以上的包装物精确到 2 g，10 kg 以上的包装物精确到 10 g，

并记录。

6.3 保温

6.3.1 每个批次取1个样品置 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存作为对照，将其余样品在 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保温10d。保温过程中应每天检查，如有膨胀或泄漏现象，应立即剔出，开启检查。

6.3.2 保温结束时，再次称重并记录，比较保温前后样品重量有无变化。如有变轻，表明样品发生泄漏。将所有包装物置于室温直至开启检查。

6.4 开启

6.4.1 如有膨胀的样品，则将样品先置于 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内冷藏数小时后开启。

6.4.2 如有膨用冷水和洗涤剂清洗待检样品的光滑面。水冲洗后用无菌毛巾擦干。以含4%碘的乙醇溶液浸泡消毒光滑面15 min后用无菌毛巾擦干，在密闭罩内点燃至表面残余的碘乙醇溶液全部燃烧完。膨胀样品以及采用易燃包装材料包装的样品不能灼烧，以含4%碘的乙醇溶液浸泡消毒光滑面30 min后用无菌毛巾擦干。

6.4.3 在超净工作台或百级洁净实验室中开启。带汤汁的样品开启前应适当振摇。使用无菌开罐器在消毒后的罐头光滑面开启一个适当大小的口，开罐时不得伤及卷边结构，每一个罐头单独使用一个开罐器，不得交叉使用。如样品为软包装，可以使用灭菌剪刀开启，不得损坏接口处。立即在开口上方嗅闻气味，并记录。

注：严重膨胀样品可能会发生爆炸，喷出有毒物。可以采取在膨胀样品上盖一条灭菌毛巾或者用一个无菌漏斗倒扣在样品上等预防措施来防止这类危险的发生。

6.5 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 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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。开启后的样品可进行适当的保存，以备日后容器检查时使用。

6.6 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内，对产品的组织、形态、色泽和气味等进行观察和嗅闻，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和外部的情况，并记录。

6.7 pH测定

6.7.1 样品处理

6.7.1.1 液态制品混匀备用，有固相和液相的制品则取混匀的液相部分备用。

6.7.1.2 对于稠厚或半稠厚制品以及难以从中分出汁液的制品（如：糖浆、果酱、果冻、油脂等），取一部分样品在均质器或研钵中研磨，如果研磨后的样品仍太稠厚，加入等量的无菌蒸馏水，混匀备用。

6.7.2 测定

6.7.2.1 将电极插入被测试样液中，并将pH计的温度校正器调节到被测液的温度。如果仪器没有温度校正系统，被测试样液的温度应调到 $20\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的范围之内，采用适合于所用pH计的步骤进行测定。当读数稳定后，从仪器的标度上直接读出pH，精确到pH 0.05单位。

6.7.2.2 同一个制备试样至少进行两次测定。两次测定结果之差应不超过0.1 pH单位。取两次测定

的算术平均值作为结果，报告精确到 0.05 pH 单位。

6.7.3 分析结果

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

6.8 涂片染色镜检

6.8.1 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，用二甲苯流洗，自然干燥。

6.8.2 染色镜检

对 6.8.1 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。

7 结果判定

样品经保温试验未出现泄漏；保温后开启，经感官检验、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。

样品经保温试验出现泄漏；保温后开启，经感官检验、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。

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。若需判定样品包装容器是否出现泄漏，可取开启后的样品按照附录 B 进行密封性检查并报告。

附录A

培养基和试剂

A. 1 无菌生理盐水

A. 1. 1 成分

氯化钠	8.5 g
蒸馏水	1 000.0 mL

A. 1. 2 制法

称取8.5 g氯化钠溶于1000 mL蒸馏水中，121 °C高压灭菌15 min。

A. 2 结晶紫染色液

A. 2. 1 成分

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

A. 2. 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. 2. 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。

附录 B

异常原因分析（选做项目）

B. 1 培养基和试剂

B. 1. 1 溴甲酚紫葡萄糖肉汤

B. 1. 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

B. 1. 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。

B. 1. 2 肉培养基

B. 1. 2. 1 成分

牛肉浸液	1000.0 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

B. 1. 2. 2 制法

B. 1. 2. 2. 1 称取新鲜除脂肪和筋膜的碎牛肉 500 g，加蒸馏水 1000 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 1000 mL，即为牛肉浸液。加入 B.1.2.1 除碎肉渣外的各种成分，校正 pH 至 7.8 ± 0.2 。

B. 1. 2. 2. 2 碎肉渣经水洗后晾至半干，分装 15 mm×150 mm 试管约 2 cm~3 cm 高，每管加入还原铁粉 0.1 g~0.2 g 或铁屑少许。将 B.1.2.2.1 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。

B. 1. 3 营养琼脂

B. 1. 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

B. 1. 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 2 mL，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。

B. 1. 4 酸性肉汤

B. 1. 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

B. 1. 4. 2 制法

将 B.1.4.1 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。

B. 1. 5 麦芽浸膏汤

B. 1. 5. 1 成分

麦芽浸膏	15.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL

B. 1. 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。

B. 1. 6 沙氏葡萄糖琼脂

B. 1. 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

B. 1. 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。

B. 1. 7 肝小牛肉琼脂

B. 1. 7. 1 成分

肝浸膏	50.0 g
小牛肉浸膏	500.0 g

朊蛋白胨	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

B. 1. 7. 2 制法

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

B. 1. 8 革兰氏染色液

B. 1. 8. 1 结晶紫染色液

B. 1. 8. 1. 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

B. 1. 8. 1. 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。

B. 1. 8. 2 革兰氏碘液

B. 1. 8. 2. 1 成分

碘	1.0 g
碘化钾	2.0 g
蒸馏水	300.0 mL

B. 1. 8. 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。

B. 1. 8. 3 沙黄复染液

B. 1. 8. 3. 1 成分

沙黄	0.25 g
95% 乙醇	10.0 mL
蒸馏水	90.0 mL

B. 1. 8. 3. 2 制法

将0.25 g沙黄溶解于乙醇中，然后用蒸馏水稀释。

B. 1. 8. 4 染色法

- B. 1. 8. 4. 1 涂片在火焰上固定，滴加结晶紫染液，染 1 min，水洗。
- B. 1. 8. 4. 2 滴加革兰氏碘液，作用 1 min，水洗。
- B. 1. 8. 4. 3 滴加 95%乙醇脱色约15 s~30 s，直至染色液被洗掉，不要过分脱色，水洗。
- B. 1. 8. 4. 4 滴加复染液，复染 1 min，水洗、待干、镜检。

B. 2 低酸性罐藏食品的接种培养 (pH 大于 4. 6)

B. 2. 1 对低酸性罐藏食品，每份样品接种 4 管预先加热到 100 °C 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 低酸性罐藏食品 (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. 2. 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. 2. 3 如果有微生物生长，以接种环沾取液体涂片，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. 2. 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. 2. 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. 2. 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. 2. 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 °C 培养 5 d，按照 GB/T 4789.12 进行肉毒毒素检验。

B. 3 酸性罐藏食品的接种培养 (pH 小于或等于 4. 6)

B. 3. 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 酸性罐藏食品 ($\text{pH} \leq 4.6$) 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. 3. 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. 3. 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. 3. 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. 3. 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. 3. 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. 3. 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. 3. 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。

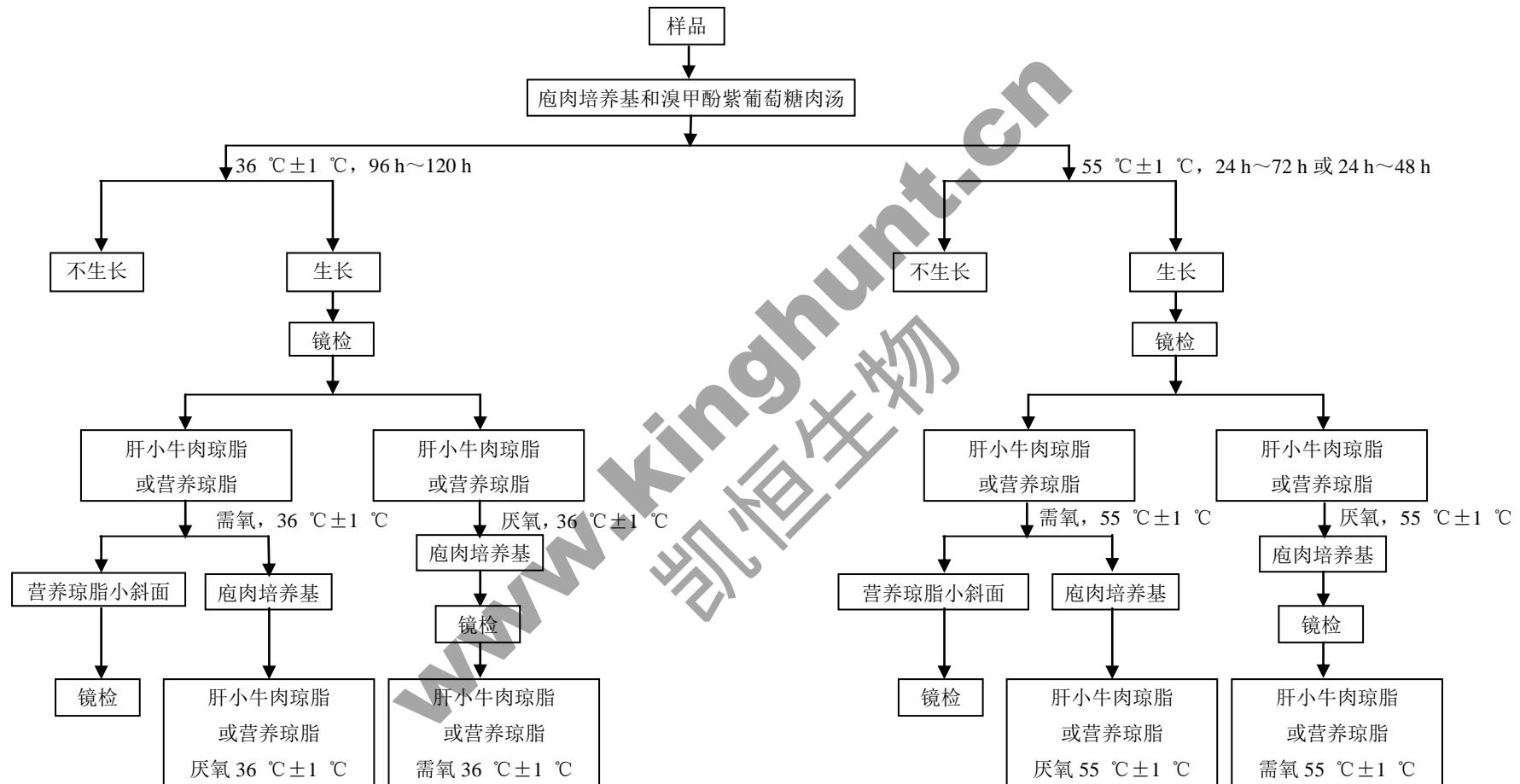


图 B. 1 低酸性罐藏食品接种培养程序

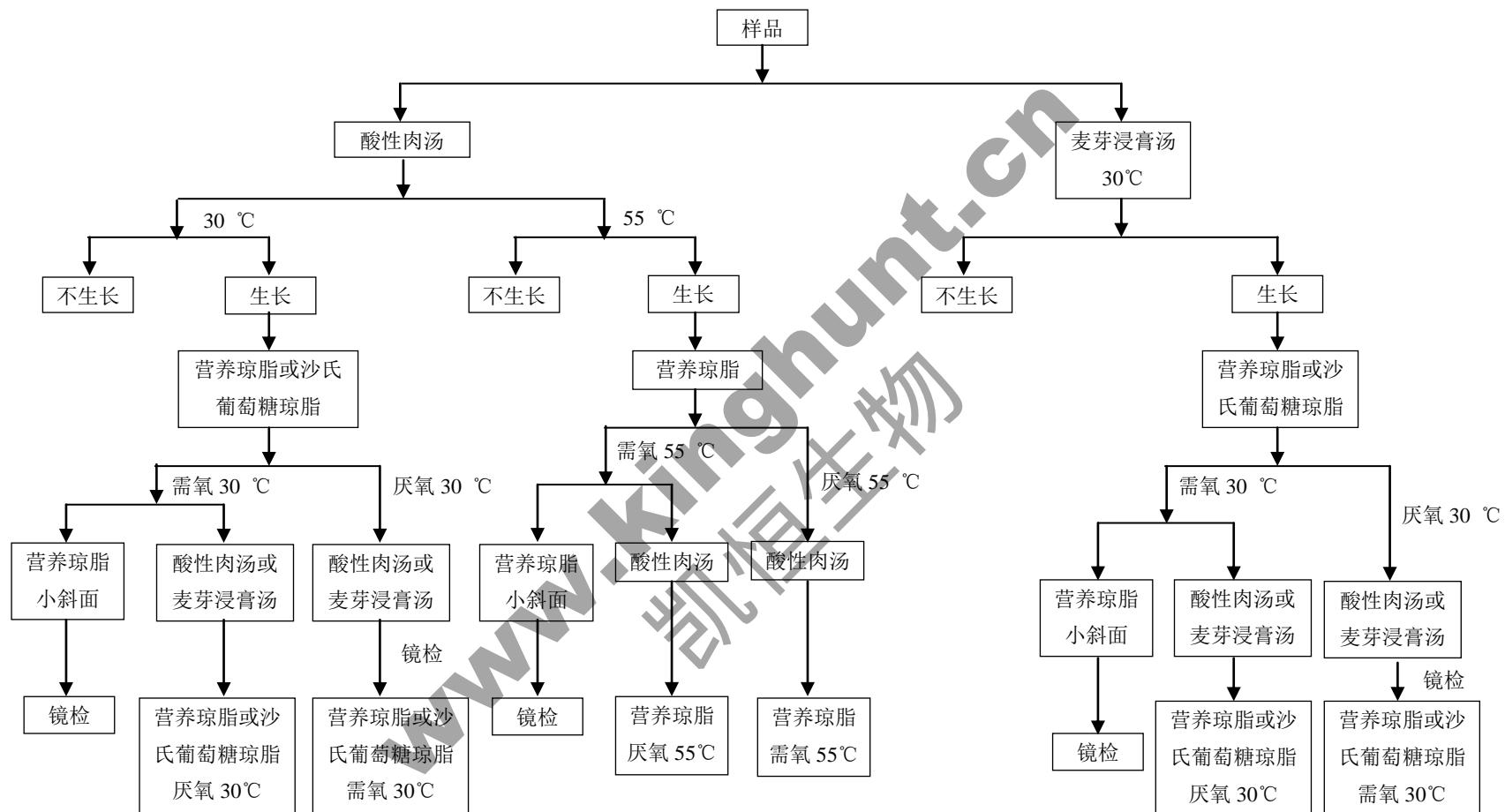


图 B. 2 酸性罐藏食品接种培养程序

B. 3. 9 结果分析

B. 3. 9. 1 如果在膨胀的样品里没有发现微生物的生长, 膨胀可能是由于内容物和包装发生反应产生氢气造成的。产生氢气的量随储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。由于密闭包装前细菌生长的结果, 导致产品的 pH、气味和组织形态呈现异常。

B. 3. 9. 2 包装容器密封性良好时, 在 36 ℃培养条件下若只有芽胞杆菌生长, 且它们的耐热性不高于肉毒梭菌 (*Clostridium botulinum*), 则表明生产过程中杀菌不足。

B. 3. 9. 3 培养出现杆菌和球菌、真菌的混合菌落, 表明包装容器发生泄漏。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. 3. 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, 如嗜温耐酸芽胞杆菌, 或者嗜热微生物, 如嗜热脂肪芽胞杆菌 (*Bacillus 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, 镜检可见芽胞, 表明腐败可能是由肉毒梭菌、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. 3. 9. 5 酸性罐藏食品的变质通常是由于无芽胞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胞杆菌引起的变质, 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胞杆菌所致。

B. 3. 9. 6 许多罐藏食品中含有嗜热菌, 在正常的储存条件下不生长, 但当产品暴露于较高的温度 (50 ℃~55 ℃) 时, 嗜热菌就会生长并引起腐败。嗜热耐酸的芽胞杆菌和嗜热脂肪芽胞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。嗜热解糖梭状芽胞杆菌 (*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. 3. 9. 7 灭菌的真空包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于原始样品。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保存和运送过程中不生长。

B. 3. 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。

B. 4 镀锡薄钢板食品空罐密封性检验方法

B. 4. 1 减压试漏

将样品包装罐洗净，36 ℃烘干。在烘干的空罐内注入清水至容积的80%～90%，将一带橡胶圈的有机玻璃板放置罐头开启端的卷边上，使其保持密封。启动真空泵，关闭放气阀，用手按住盖板，控制抽气，使真空表从0 Pa升到 6.8×10^4 Pa（510 mmHg）的时间在1 min以上，并保持此真空度1 min以上。倾斜并仔细观察罐体，尤其是卷边及焊缝处，有无气泡产生。凡同一部位连续产生气泡，应判断为泄漏，记录漏气的时间和真空度，并标注漏气部位。

B. 4. 2 加压试漏

将样品包装罐洗净，36 ℃烘干。用橡皮塞将空罐的开孔塞紧，将空罐浸没在盛水玻璃缸中，开动空气压缩机，慢慢开启阀门，使罐内压力逐渐加大，直至压力升至 6.8×10^4 Pa并保持2 min。仔细观察罐体，尤其是卷边及焊缝处，有无气泡产生。凡同一部位连续产生气泡，应判断为泄漏，记录漏气开始的时间和压力，并标注漏气部位。