



中华人民共和国国家标准

GB 13093—91

饲料中细菌总数的测定方法

Method for determination of aerobic bacterial count
in feeds

1991-07-16 发布

1992-04-01 实施

国家技术监督局 发布

中华人民共和国国家标准

饲料中细菌总数的测定方法

GB 13093—91

Method for determination of aerobic bacterial count in feeds

本标准参照采用国际标准ISO 4833—1978《食品和动物饲料中微生物学检验方法》。

1 主题内容与适用范围

本标准规定了饲料中细菌总数的测定方法。

本标准适用于饲料中细菌总数的测定。

2 原理

将试样稀释至适当浓度，用特定的培养基，在 $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 下培养 $72\pm 3\text{h}$ ，计数平板中长出的菌落数，计算每克试样中的细菌数量。

3 仪器、设备

3.1 天平：感量为0.1g。

3.2 振荡器：往复式。

3.3 干热灭菌箱： $50\sim 200\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

3.4 高压灭菌锅。

3.5 冰箱：普通冰箱。

3.6 恒温箱： $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

3.7 电炉：可调式。

3.8 平皿：直径为9cm。

3.9 吸管：容量为1、10mL。

3.10 三角烧瓶：容量为250、500mL。

3.11 玻璃珠。

3.12 试管： $18\times 180\text{mm}$ 。

3.13 水浴锅： $46\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

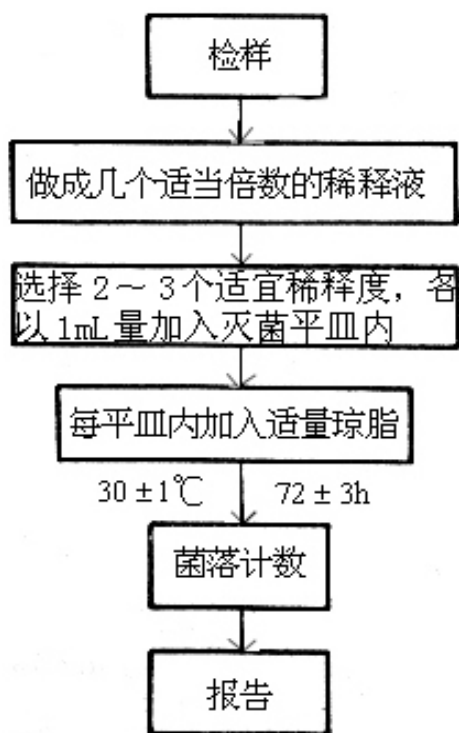
3.14 酒精灯。

3.15 试管架。

3.16 橡皮乳头。

4 检验程序

细菌总数的检验程序如下：



5 操作步骤

5.1 采样

采样时必须特别注意样品的代表性和避免采样时的污染。首先准备好灭菌容器和采样工具，如灭菌牛皮纸袋或广口瓶，金属勺和刀，在卫生学调查基础上，采取有代表性的样品，样品采集后应尽快检验，否则应将样品放在低温干燥处。

根据饲料仓库、饲料垛的大小和类型，分层定点采样，一般可分三层五点或分层随机采样，不同点的样品，充分混合后，取500g左右送检，小量存贮的饲料可使用金属小勺采取上、中、下各部位的样品混合。

海运进口饲料采样：每一船仓采取表层、上层、中层及下层四个样品，每层从五点取样混合，如船仓盛饲料超过10 000t，则应加采一个样品。必要时采取有疑问的样品送检。

5.2 试样稀释及培养

5.2.1 无菌称取试样10.0g，放入含有90mL稀释液的灭菌三角烧瓶内（瓶内预先加有适当数量的玻璃珠）。经充分振摇，制1：10的均匀稀释液。最好置振荡器中以8 000~10 000r / min的速度处理2~3min。

5.2.2 用1mL灭菌吸管吸取1：10稀释液1mL，沿管壁慢慢注入含有9mL稀释液的试管内（注意吸管尖端不要触及管内稀释液），振摇试管，混合均匀，作成1：100的稀释液。

5.2.3 另取一支1mL灭菌吸管，按上述操作顺序，作10倍递增稀释，如此每递增稀释一次，即更换一支吸管。

5.2.4 根据饲料卫生标准要求或对试样污染程度的估计，选择2~3个适宜稀释度，分别在作10倍递增稀释的同时，即以吸取该稀释度的吸管移1mL稀释液于灭菌平皿内，每个稀释度作两个平皿。

5.2.5 稀释液移入平皿后，应及时将凉至 $46\pm 1^{\circ}\text{C}$ 的平板计数用培养基（可放置 $46\pm 1^{\circ}\text{C}$ 水浴锅内保温）注入平皿约15mL，小心转动平皿使试样与培养基充分混匀。从稀释试样到倾注培养基之间，时间不能超过15min。

如估计到试样中所含微生物可能在琼脂平板表面生长时，待琼脂完全凝固后，可在培养基表面倾注凉至 $46\pm 1^{\circ}\text{C}$ 的水琼脂培养基4mL。

5.2.6 待琼脂凝固后，倒置平皿于 $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内培养 $72\pm 3\text{h}$ 取出，计数平板内菌落数目，菌落数乘以稀释倍数，即得每克试样所含细菌总数。

5.3 菌落计数方法

作平板菌落计数时，可用肉眼观察，必要时借助于放大镜检查，以防遗漏。在计数出各平板菌落数后，求出同一稀释度两个平板菌落的平均数。

6 菌落计数的报告

选取菌落数在30~300之间的平板作为菌落计数标准。每一稀释度采用两个平板菌落的平均数，如两个平板其中一个有较大大片状菌落生长时，则不宜采用，而应以无片状菌落生长的平板作为该稀释度的菌落数，如片状菌落不到平板的一半，而另一半菌落分布又很均匀，即可计算半个平板后乘2以代表全平板菌落数。

6.1 稀释度的选择

6.1.1 应选择平均菌落数在30~300之间的稀释度，乘以稀释倍数报告之。

6.1.2 如有两个稀释度，其生长的菌落数均在30~300之间，视两者之比如何来决定，如其比值小于2，应报告其平均数；如大于2，则报告其中较小的数字。

6.1.3 如所有稀释度的平均菌落数均大于300，则应按稀释度最高的平均菌落数乘以稀释倍数报告之。

6.1.4 如所有稀释度的平均菌落数均小于30，则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数报告之。

6.1.5 如所有稀释度均无菌落生长，则以小于（<）1乘以最低稀释倍数报告之。

6.1.6 如所有稀释度的平均菌落数均不在30~300之间，其中一部分大于300或小于30时，则以最接近30或300的平均菌落数乘以稀释倍数报告之。

6.2 结果报告

菌落在100以内时，按其实有数报告；大于100时，采用两位有效数字，在两位有效数字后面的数值，以四舍五入方法计算。为了缩短数字后面的零数，也可用10的指数来表示。

附 录 A

稀释液和培养基制备

（补充件）

除特殊规定外，本标准所用化学试剂为分析纯；生物制剂为细菌培养用；水为蒸馏水或无离子水。要求在试验条件下，所用试剂应无抑制细菌生长的物质存在。

A1 稀释液

A1.1 成分

氯化钠 (GB 1266)	8.5g
蛋白胨	1.0g
蒸馏水	1000mL

A1.2 制法

将上述成分加热溶解，校正pH使其在灭菌后保持 7.0 ± 2 。按9mL / 支分装于试管，90mL / 瓶分装于三角烧瓶中，塞上棉塞包扎后 $121 \pm 1^\circ\text{C}$ 高压灭菌20min。

A2 平板计数用培养基

A2.1 成分

蛋白胨	5.0g
酵母浸膏	2.5g
无水D-葡萄糖	1.0g
琼脂	9~18g
蒸馏水	1000mL

A2.2 制法

将上述成分加热溶化，校正pH使其在灭菌后保持 7.0 ± 2 。过滤、分装三角烧瓶中，包扎后 $121 \pm 1^\circ\text{C}$ 高压灭菌20min。

A3 水琼脂培养基

A3.1 成分

琼脂	9~18g
蒸馏水	1000mL

A3.2 制法

加热使琼脂溶化，校正pH使其在灭菌后保持 7.0 ± 2 。分装三角烧瓶中，包扎后 $121 \pm 1^\circ\text{C}$ 高压灭菌20min。

上述稀释液和培养基如不马上使用，应保持在 $0 \sim 5^\circ\text{C}$ 下，时间不超过一个月。
