МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 13496.6— 2017

КОМБИКОРМА

Метод выделения микроскопических грибов

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт комбикормовой промышленности» (АО «ВНИИКП»)

2 ВНЕСЕН Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 4 «Комбикорма, белково-витаминные добавки, премиксы»

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 июля 2017 г. № 101-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004 – 97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004 – 97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 5 октября 2017 г. № 1356-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 13496.6—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2019 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 13496.6—71

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Август 2020 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2017, 2020

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Требования безопасности 2
5 Условия проведения испытаний 2
6 Требования к квалификации оператора 2
7 Сущность метода 3
8 Отбор проб 3
9 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы 3
10 Подготовка к проведению испытания 4
11 Проведение испытания 4
12 Обработка результатов испытаний 5
Библиография 6

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОМБИКОРМА

Метод выделения микроскопических грибов

Mixed feeds. Method of detachment of fungi

Дата введения — 2019—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на комбикорма, кормовые смеси, концентраты, кормовые добавки и комбикормовое сырье (далее — корма) и устанавливает метод выделения микроскопических грибов.

Настоящий стандарт не распространяется на сырье минерального происхождения.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.005 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.2.007.0 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.4.009 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 4148 Реактивы. Железо (II) сернокислое 7-водное. Технические условия

ГОСТ 4168 Реактивы. Натрий азотнокислый. Технические условия

ГОСТ 4198 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4234 Реактивы. Калий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4523 Реактивы. Магний сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 5556 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 6038 Реактивы. D-глюкоза. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9412 Марля медицинская. Общие технические условия

ГОСТ 13496.0 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб

Издание официальное

ГОСТ 17206 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 21669* Комбикорма. Термины и определения

ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ OIML R 76-1 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ ISO 6498 Корма, комбикорма. Подготовка проб для испытаний

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru казателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ 21669, ГОСТ ISO 6498.

4 Требования безопасности

4.1 При выполнении испытаний необходимо соблюдать требования безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроприборами по ГОСТ 12.1.019 и ГОСТ 12.2.007.0, требования, изложенные в технической документации на используемые приборы.

4.2 Работа с химическими реактивами должна проводиться в вытяжном шкафу.

4.3 Помещение должно быть оснащено вентиляционными системами по ГОСТ 12.4.021, соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

4.4 Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005.

5 Условия проведения испытаний

При подготовке и проведении испытаний должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды . . . . . от 15 °С до 25 °С;
- относительная влажность воздуха . . . . . не более 80 %;
- атмосферное давление . . . . . (97 ± 10) кПа.

6 Требования к квалификации оператора

К выполнению испытаний и обработке их результатов допускают специалиста, имеющего опыт работы в химической лаборатории, прошедшего инструктажи на рабочем месте, по электробезопасности, по противопожарной безопасности, освоившего метод в процессе обучения и уложившегося в нормативы оперативного контроля при выполнении испытаний.

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 51848—2001 «Продукция комбикормовая. Термины и определения».

7 Сущность метода

Сущность метода заключается в посеве разбавленных взвесей кормов на питательные среды (метод разливки), инкубации посевов в термостате при определенных условиях и выявлении роста и спороношения грибов, контаминирующих корма.

8 Отбор проб

Отбор проб кормов проводят по ГОСТ 13496.0 или в соответствии с нормативными документами на исследуемые продукты.

9 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

Автоклав.
Шкаф сушильный.
Мельница лабораторная электрическая.
Весы лабораторные неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,01 г.
Аппарат для встряхивания жидкостей (шюттель-аппарат).
Термостат с автоматическим терморегулятором.
Бокс для посевов.
Баня водяная.
Чашки ЧБН-1-100 (чашки Петри) по ГОСТ 25336.
Колбы Кн-1-500-34 ТХС по ГОСТ 25336.
Цилиндры мерные 1-500 (1000)-2 по ГОСТ 1770.
Пипетки градуированные 1-2-2-1 (2) по ГОСТ 29227.
Пробирки П1-16-150 ХС по ГОСТ 25336.
Воронки ВФ-3-100 ХС по ГОСТ 25336.
Ареометр Баллинга.
Горелка газовая или спиртовая.
Бумага универсальная индикаторная.
Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.
Марля медицинская по ГОСТ 9412.
Глюкоза по ГОСТ 6038.
Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198.
Магний сернокислый по ГОСТ 4523.
Калий хлористый по ГОСТ 4234.
Натрий азотнокислый по ГОСТ 4168.
Железо сернокислое закисное, по ГОСТ 4148.
Агар-агар по ГОСТ 17206.
Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
Вода водопроводная.
Пенициллин (натриевая и калиевая соль бензилпенициллина).
Стрептомицин (стрептомицина сульфат).
Сусло пивное неохмеленное с 12 %—14 % сахаров.
Сито с размером стороны квадратной ячейки 1 мм.
Поверхностно-активное вещество ОП-7.
Поверхностно-активное вещество ОП-10.
Поверхностно-активное вещество Твин-80.

Примечание — Допускается применение средств измерений и вспомогательных устройств с аналогичными метрологическими и техническими характеристиками, а также реактивов и материалов по качеству не хуже указанных.

10 Подготовка к проведению испытания

10.1 Подготовка проб

Подготовка проб — по ГОСТ ISO 6498 со следующим уточнением.

Размол пробы гранулированного корма производят на лабораторной мельнице до прохода через сито с размером стороны квадратной ячейки 1 мм.

10.2 Для предупреждения загрязнения посевов применяемая посуда должна быть стерильной. Стерилизацию чашек и пипеток, завернутых в бумагу, проводят в сушильном шкафу при температуре 140 °С—160 °С в течение 2 ч. Все процессы, связанные с разливкой питательных сред, приготовлением разбавленной взвеси корма, посевом ее на питательную среду, должны проводиться в стерильных условиях — около пламени горелки в специальном боксе.

10.3 Состав и приготовление агаризированной среды Чапека

Состав агаризированной среды Чапека (агара Чапека):

- глюкоза — 30,0 г;
- натрий азотнокислый — 2,0 г;
- калий фосфорнокислый однозамещенный — 1,0 г;
- магний сернокислый — 0,5 г;
- калий хлористый — 0,5 г;
- железо сернокислое закисное — 0,01 г;
- вода дистиллированная — 1000 $см^3$,
- агар-агар — 20—30 г.

Для приготовления агара Чапека берут 20—30 г агар-агара, заливают его 1000 $см^3$ водопроводной воды и вымачивают 2 ч при комнатной температуре. Воду сливают и измеряют ее объем для определения количества воды, впитавшейся агаром. Затем агар промывают два или три раза дистиллированной водой.

Взвешивают остальные компоненты среды и растворяют их в таком объеме дистиллированной воды, который составляла вода, слитая при вымачивании агара. К полученному раствору добавляют отмытый агар-агар, после чего варят среду в автоклаве текучим паром в течение 1 ч.

Полученную среду фильтруют, разливают по колбам и стерилизуют в автоклаве при давлении 0,05 МПа в течение 20 мин. pH питательной среды должен быть от 6,0 до 6,8 ед. pH.

10.4 Приготовление суслового агара

Для приготовления суслового агара неохмеленное пивное сусло, содержащее (12—14) % сахаров, фильтруют через тонкий слой ваты или 3—4 слоя марли, разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:2 или 1:3 по объему до 4°—7° по ареометру Баллинга, затем добавляют 2 % агар-агара. Разливают по колбам и стерилизуют в автоклаве при температуре (110—112) °С и давлении 0,05 МПа в течение 20 мин.

Перед посевом сусловой агар расплавляют в водяной бане, затем, после охлаждения до (45—50) °С, добавляют антибиотики для подавления сопутствующей бактериальной флоры — пенициллина 50000 ЕД и стрептомицина 100000 ЕД на 1 $дм^3$ среды. После этого агар разливают в стерильные чашки Петри и дают остыть до комнатной температуры на горизонтальной поверхности. Слой агара должен быть не менее 0,5 см.

Допускается использовать готовые питательные среды.

11 Проведение испытания

11.1 Приготовление разведений

11.1.1 В колбу с 100 $см^3$ стерильного 0,1 %-ного раствора поверхностно-активного вещества (ОП-7, ОП-10, Твин-80) в дистиллированной воде (далее — растворитель) помещают (10,00 ± 0,01) г подготовленного по 10.1 корма. Полученную взвесь с соотношением корма и растворителя 1:10 (далее — взвесь № 1) встряхивают в течение 15—20 мин на шюттель-аппарате.

11.1.2 Приготовление последующих десятикратных разведений

Для получения взвеси № 2 (соотношение корма и растворителя 1:100) стерильной градуированной пипеткой берут 1 $см^3$ взвеси № 1 и помещают в пробирку с 9 $см^3$ растворителя.

Примечание — Конец пипетки следует отрезать для свободного прохождения частиц корма, после чего пипетка должна быть откалибрована на 1 $см^3$.

Из полученной взвеси № 2 готовят таким же образом взвесь № 3 (соотношение корма и растворителя 1:1000) и, если необходимо, то из взвеси № 3 готовят взвесь № 4 (соотношение корма и растворителя 1:10000).

Перед взятием очередной порции взвеси, как для получения дальнейшего разведения, так и для посева, необходимо новой стерильной пипеткой сначала тщательно перемешать взвесь.

Степень разведения основной взвеси зависит от органолептических показателей корма, а именно наличия признаков порчи: потемнения, побурения, грибного налета различного цвета (черный, белый, сероватый и др.), слежавшихся пластов, наличия головни и спорыньи и/или наличия затхлого, плесневого, гнилостного и других запахов, не свойственных данному корму.

При отсутствии признаков порчи в корме для посева используют взвесь № 3.

Если в корме присутствуют признаки порчи, то для посева используют взвесь № 4.

11.2 Проведение посева

11.2.1 Посев проводят сразу же после приготовления последней взвеси, не давая ей отстояться, при этом 1 $см^3$ взвеси равномерно распределяют по всей поверхности питательной среды, слегка наклоняя чашки Петри в разные стороны.

Для идентификации различных микроскопических грибов применяют агар Чапека для аспергиллов и пенициллов, а сусловый агар — для мукоров и фузариев.

11.2.2 Число засеянных чашек зависит от выбранной степени разбавления: при посеве взвеси № 3 используют пять чашек, при посеве взвеси № 4 — восемь чашек.

11.3 Инкубация посевов

Посевы инкубируют в термостате при (22—25) °С в течение 5—7 сут. Рост и спороношение большинства грибов, контаминирующих корм, становится заметным уже через 2—3 сут.

12 Обработка результатов испытаний

Обработку результатов испытания и оценку санитарно-микологического качества корма проводят в соответствии с правилами санитарно-микологических исследований кормов [1] и по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

Библиография

[1] Методические указания по санитарно-микологической оценке и улучшению качества кормов, утвержденные Министерством сельского хозяйства СССР 25 февраля 1985 г.

УДК 636.085.3:006.354 МКС 65.120

Ключевые слова: корма, комбикорма, кормовые смеси, концентраты, кормовые добавки, комбикормовое сырье, выделение, питательная среда, микроскопические грибы

Редактор переиздания *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *М.В. Лебедевой*

Сдано в набор 10.08.2020. Подписано в печать 01.10.2020. Формат 60×84¼. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,26.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru