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
2017

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по международной 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

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2017

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

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

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—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79* Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.2.007.0—75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 4148—78 Реактивы. Железо (II) сернокислое 7-водное. Технические условия

ГОСТ 4168—79 Реактивы. Натрий азотнокислый. Технические условия

ГОСТ 4198—75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4234—77 Реактивы. Калий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4523—77 Реактивы. Магний сернокислый 7-водный. Технические условия

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

Издание официальное

ГОСТ 5556—81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия
ГОСТ 6038—79 Реактивы. D-глюкоза. Технические условия
ГОСТ ISO 6498—2014 Корма, комбикорма. Подготовка проб для испытаний
ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия
ГОСТ 9412—93 Марля медицинская. Общие технические условия
ГОСТ 13496.0—2016 Комбикорма, комбикормовое сырье. Методы отбора проб
ГОСТ 17206—96 Агар микробиологический. Технические условия
ГОСТ 21669—76* Комбикорма. Термины и определения
ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт 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 с 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 25.02.1985

УДК 636.085.3:006.354 МКС 65.120 С19

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

БЗ 10—2017/196

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 06.10.2017. Подписано в печать 27.10.2017. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,26. Тираж 23 экз. Зак. 2114.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru