ГОСТ 13496.6—71

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОМБИКОРМ

МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2011

gost.e-ecolog.ru

УДК 636.085.3:006.354 Группа С19

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КОМБИКОРМ

Метод выделения микроскопических грибов

ГОСТ 13496.6—71

Mixed feed. Method of detachment of fungi

МКС 65.120
ОКСТУ 9209

Дата введения 01.01.72

Настоящий стандарт распространяется на все виды комбикормов и устанавливает метод выделения микроскопических грибов из них.

Сущность метода заключается в посеве разбавленных взвесей комбикормов на питательные среды (метод разливки).

Метод основан на свойстве микроскопических грибов расти при определенных условиях на специально приготовленных питательных средах (агаре Чапека или сусловом агаре).

(Измененная редакция, Изм. № 1).

1. ОТБОР ПРОБ

1.1. Отбор проб комбикормов производят по ГОСТ 13496.0.

2. АППАРАТУРА И РЕАКТИВЫ

2.1. Для проведения испытания применяют:

автоклав;

шкаф сушильный;

мельницу лабораторную электрическую;

весы лабораторные по ГОСТ 24104*, 2-го класса точности с пределом взвешивания до 0,01 г;

аппарат для встряхивания жидкостей (шюттель-аппарат);

термостат с автоматическим терморегулятором;

бокс для посевов;

баню водяную;

чашки стеклянные лабораторные типа чБН (чашки Петри) по ГОСТ 25336;

колбы стеклянные вместимостью 500 $см^3$ по ГОСТ 25336;

мензурки или цилиндры мерные вместимостью 500 $см^3$, 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770;

пипетки химические градуированные вместимостью 1 $см^3$, 2 $см^3$ с ценой деления 0,1 $см^3$ с широким концом по ГОСТ 29227;

пробирки стеклянные по ГОСТ 25336;

воронки стеклянные диаметром 100 мм по ГОСТ 25336;

ареометр Баллинга;

горелку газовую или спиртовую;

бумагу универсальную индикаторную;

вату медицинскую гигроскопическую по ГОСТ 5556;

марлю медицинскую по ГОСТ 9412;

глюкозу по ГОСТ 6038;

калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198;

---

* С 1 июля 2002 г. вводится в действие ГОСТ 24104—2001. На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008.

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**

© СТАНДАРТИНФОРМ, 2011

натрий азотнокислый по ГОСТ 4168;
магний сернокислый по ГОСТ 4523;
калий хлористый по ГОСТ 4234;
железо сернокислое закисное, по ГОСТ 4148;
агар-агар по ГОСТ 17206;
воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
воду водопроводную;
пенициллин (натриевая и калиевая соль бензилпенициллина);
стрептомицин (стрептомицина сульфат);
сусло пивное неохмеленное с 12—14 % сахаров;
поверхностно-активное вещество ОП-7;
поверхностно-активное вещество ОП-10;
поверхностно-активное вещество Твин-80.
(Измененная редакция, Изм. № 1, 2).

3. ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЮ

3.1. В состав агаризированной среды Чапека (агара Чапека) входят следующие компоненты:
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;
агар-агар — 20—30 г.

3.2. 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 2—3 раза дистиллированной водой.

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

3.3. Полученную среду фильтруют, разливают по колбам и стерилизуют в автоклаве при давлении 0,05 МПа в течение 20 мин; pH питательной среды должен быть в пределах 6,0—6,8.

3.4. Для приготовления суслового агара неохмеленное пивное сусло, содержащее 12—14 % сахаров, фильтруют через тонкий слой ваты или 3—4 слоя марли, разбавляют дистиллированной водой (1:2 или 1:3) 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.

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

3.3—3.5. **(Измененная редакция, Изм. № 1, 2).**

3.6. Размол образца гранулированного или брикетированного комбикорма производят на лабораторной мельнице.

3.7. Для приготовления разбавленной взвеси 10 г размельченного комбикорма помещают в колбу с 100 $см^3$ стерильного 0,1 %-ного раствора поверхностно-активного вещества (ОП-7, ОП-10, Твин-80) в дистиллированной воде. Таким образом получают первичную взвесь 1 (1:10). Прежде чем приступить к разбавлению первичной взвеси, проводят дезинтеграцию пробы в колбе встряхиванием в течение 15—20 мин на шюттель-аппарате. Затем из взвеси 1 готовят последующие разведения, используя также стерильные растворы вышеназванных поверхностно-активных веществ, следующим способом: 1 $см^3$ взвеси берут стерильной градуированной пипеткой (конец пипетки следует отрезать для свободного прохождения частиц комбикорма, после чего пипетка должна быть откалибрована на 1 $см^3$), приливают в пробирку с 9 $см^3$ раствора и получают взвесь 2 (1:100). Из полученной

взвеси 2 готовят таким же образом взвесь 3 (1:1000), и, если необходимо, взвесь 4 (1:10000). Перед взятием очередной порции взвеси как для получения дальнейшего разведения, так и для посева, необходимо тщательно перемешивать взвесь пипеткой, а также промыть пипетку во взвеси не менее 5 раз.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.8. Степень разбавления основной взвеси зависит от органолептических показателей комбикорма. Комбикорм с нормальными органолептическими показателями разбавляют 1:1000, подвергшийся порче — 1:10000.

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

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4. ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ

4.1. Посев производят сразу же после приготовления последней взвеси (3 или 4), не давая ей отстояться, при этом 1 $см^3$ ее равномерно распределяют по всей поверхности питательной среды, слегка наклоняя чашки Петри в разные стороны.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4.2. Число засеянных чашек зависит от выбранной степени разбавления: 5 чашек при разбавлении 1:1000 и 8 чашек — при разбавлении 1:10000.

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

(Измененная редакция, Изм. № 1, 2).

4.4. **(Исключен, Изм. № 1).**

5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1. Обработку результатов испытания и оценку санитарно-микологического качества комбикорма проводят в соответствии с правилами санитарно-микологических исследований кормов, утвержденными в установленном порядке.

Разд. 5. **(Введен дополнительно, Изм. № 1).**

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Министерством сельского хозяйства СССР**

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 25.12.70 № 233**

3. **ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

4. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 1770—74	2.1
ГОСТ 4148—78	2.1
ГОСТ 4168—79	2.1
ГОСТ 4198—75	2.1
ГОСТ 4234—77	2.1
ГОСТ 4523—77	2.1
ГОСТ 5556—81	2.1
ГОСТ 6038—79	2.1
ГОСТ 6709—72	2.1
ГОСТ 9412—93	2.1
ГОСТ 13496.0—80	1.1
ГОСТ 17206—96	2.1
ГОСТ 24104—88	2.1
ГОСТ 25336—82	2.1
ГОСТ 29227—91	2.1

5. **Ограничение срока действия снято по протоколу № 3—93 Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 5-6—93)**

6. **ИЗДАНИЕ (март 2011 г.) с Изменениями № 1, 2, утвержденными в декабре 1983 г. и июле 1988 г. (ИУС 3—84, 11—88)**

gost.e-ecolog.ru