ICS 65.120
CCS B 46

# 中华人民共和国国家标准

GB/T 13092—2025
代替 GB/T 13092—2006

# 饲料中霉菌总数的测定

**Enumeration of molds count in feeds**

2025-10-31 发布　　2026-05-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会　发布

# 前　言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则　第 1 部分:标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 GB/T 13092—2006《饲料中霉菌总数的测定》,与 GB/T 13092—2006 相比,除结构调整和编辑性改动外,主要技术变化如下:

a) 更改了适用范围(见第 1 章,2006 年版的第 1 章);

b) 更改了霉菌总数的定义(见 3.1,2006 年版的 3.1);

c) 增加了稀释液种类(见 5.5);

d) 更改了培养基(见 5.7,2006 年版的 6.1);

e) 增加了样品(见第 7 章);

f) 更改了检验程序(见第 8 章,2006 年版的第 7 章);

g) 增加了油脂类试样的制备(见 9.1.1.2);

h) 增加了空白实验(见 9.1.2.3);

i) 更改了培养条件(见 9.2,2006 年版的 9.4);

j) 更改了结果计算和表述的要求(见第 10 章,2006 年版的第 10 章)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本文件起草单位:中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、全国畜牧总站、中国海关科学技术研究中心。

本文件主要起草人:刘晓露、张惠媛、樊霞、崔婕、魏咏新、姚婷、李丽蓓、娄迎霞、李会、赵恩泽。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为:

——1986 年首次发布为 GB/T 13092—1986,1991 年第一次修订,2006 年第二次修订;

——本次为第三次修订。

# 饲料中霉菌总数的测定

## 1 范围

本文件描述了饲料中霉菌总数的测定方法。

本文件适用于饲料原料、饲料添加剂和饲料产品中霉菌总数的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

**霉菌总数 molds count**

试样经处理,在特定的培养基、培养温度和时间等条件下培养,所得的每克(g)或每毫升(mL)试样中霉菌的数量。

## 4 原理

根据霉菌生理特性,选择适宜于霉菌生长而不适宜于细菌生长的培养基,采用平皿计数方法,测定霉菌数。

## 5 试剂或材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

5.1 水:GB/T 6682,三级。

5.2 氢氧化钠溶液(1 mol/L):称取 20.0 g 氢氧化钠,溶于水,冷却至室温后,用水定容至 500 mL,混匀。

5.3 盐酸溶液(1 mol/L):量取 42 mL 盐酸,用水稀释并定容至 500 mL,混匀。

5.4 磷酸盐缓冲储备溶液:称取 34.0 g 磷酸二氢钾溶解于 500 mL 水中,用大约 175 mL 氢氧化钠溶液(5.2)调节 pH 至 7.2 后,用水稀释至 1 000 mL,混匀,2 ℃～8 ℃贮存。

5.5 无菌磷酸盐缓冲溶液:取磷酸盐缓冲储备溶液(5.4)1.25 mL,用水稀释至 1 000 mL,混匀,分装于适宜容器,121 ℃高压灭菌 15 min。

5.6 无菌生理盐水:称取氯化钠 8.5 g,用水溶解并定容至 1 000 mL,混匀,分装于适宜容器,121 ℃高

压灭菌 15 min。

5.7 氯硝胺孟加拉红氯霉素琼脂(DRBC)培养基:按照附录 A 制备,或购买市售培养基。

5.8 无菌液体石蜡:取适量液体石蜡,121 ℃高压灭菌 20 min。

5.9 无菌吐温 80:取适量吐温 80,121 ℃高压灭菌 20 min。

5.10 无菌均质杯。

5.11 无菌均质袋。

5.12 无菌培养皿:直径 90 mm。

## 6 仪器设备

6.1 培养箱:28 ℃±1 ℃。

6.2 天平:精度为 0.1 g、0.01 g 和 0.1 mg。

6.3 均质器:转速 8 000 r/min～10 000 r/min。

6.4 拍打式均质器。

6.5 恒温装置:42 ℃±2 ℃。

6.6 涡旋混合器。

6.7 pH 计:精度±0.02。或精密 pH 试纸。

6.8 放大镜或菌落计数器。

6.9 振荡器:往复式。

## 7 样品

实验室收到样品后应尽快进行检测,以防污染和微生物的变化。

## 8 检验程序

霉菌总数平板计数法的检验程序见图 1。

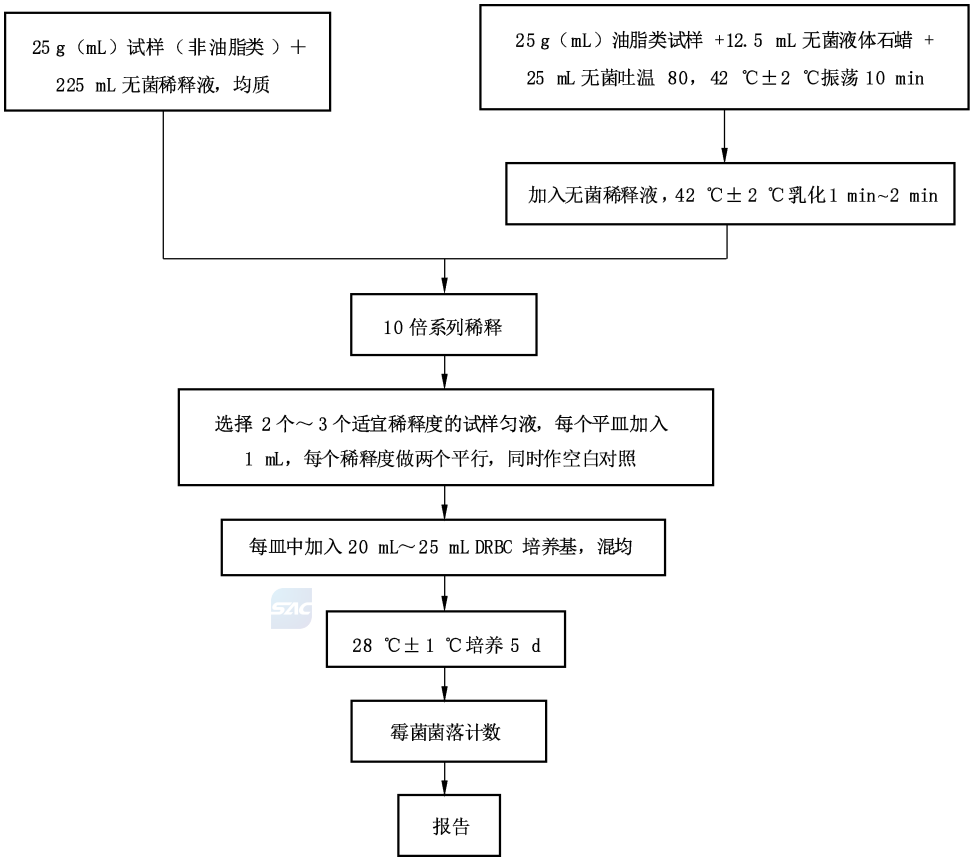


**图 1　霉菌总数平板计数法的检验程序**

## 9　试验步骤

### 9.1　试样溶液的制备和稀释

#### 9.1.1　试样溶液的制备

##### 9.1.1.1　试样(油脂类除外)

以无菌操作取 25 g(mL)试样,按以下三种方式之一进行均质,制成 1∶10 的试样匀液:

——置于含有 225 mL 无菌磷酸盐缓冲溶液(5.5)或无菌生理盐水(5.6)的无菌均质杯(5.10)内,8 000 r/min～10 000 r/min 均质 1 min～2 min;

——放入盛有 225 mL 无菌磷酸盐缓冲液(5.5)或无菌生理盐水(5.6)的无菌均质袋(5.11)中,用拍打式均质器拍打 1 min～2 min;

——放入盛有 225 mL 无菌磷酸盐缓冲液(5.5)或无菌生理盐水(5.6)的无菌玻璃三角瓶中,置振荡器上振摇 30 min。

##### 9.1.1.2　油脂类试样

以无菌操作取 25 g(mL),置于无菌锥形瓶中,先加 12.5 mL 无菌液体石蜡(5.8),再加 25 mL 无菌吐温 80(5.9),42 ℃±2 ℃恒温装置中振荡混合 10 min,加入 42 ℃±2 ℃的无菌磷酸盐缓冲液(5.5)或无菌生理盐水(5.6)187.5 mL,42 ℃±2 ℃ 恒温装置中乳化 1 min～2 min,制成 1∶10 的试样匀液。

#### 9.1.2 试样溶液的稀释

9.1.2.1 用 1 mL 无菌移液管或微量移液器吸取 1∶10 试样匀液(9.1.1.1 或 9.1.1.2)1 mL,沿管壁慢慢注入含有 9 mL 无菌磷酸盐缓冲液(5.5)或无菌生理盐水(5.6)的无菌试管中,涡旋混合 30 s,制成 1∶100 的试样匀液。

9.1.2.2 按 9.1.2.1 操作方法,作 10 倍递增稀释,每递增稀释一次应更换一次无菌移液管或无菌微量移液器吸头,制成 1∶$10^n$ 的试样匀液。

9.1.2.3 选择 2 个～3 个适宜连续稀释度的试样匀液(液体样品可包括原液),每个稀释度分别吸取 1 mL 试样匀液于 2 个无菌平皿内。同时,吸取 1 mL 无菌磷酸盐缓冲液(5.5)或无菌生理盐水(5.6)置于无菌平皿内作空白对照。

### 9.2 培养与结果记录

试样匀液移入无菌平皿后,将 46 ℃～50 ℃的 DRBC 培养基(5.7)20 mL～25 mL 倾注无菌平皿,小心转动平皿使试样匀液与培养基充分混匀。从稀释试样匀液到倾注培养基时间不超过 30 min。待培养基凝固后,水平倒置平板于 28 ℃±1 ℃培养箱中培养,第 3 天观察并记录结果。观察完后将平板放回培养箱中继续培养至第 5 天,再次观察并记录结果。每次观察时应轻拿轻放平板,切勿打开皿盖。

### 9.3 菌落计数

9.3.1 霉菌菌落计数时,可用肉眼观察,必要时可借助于放大镜或菌落计数器检查,以防遗漏。霉菌计数以菌落形成单位(CFU)表示。

9.3.2 选择菌落数在 10 CFU～100 CFU 之间,无蔓延菌落生长的平板计数。低于 10 CFU 的平板记录具体菌落数,大于 100 CFU 的可记录为多不可计。霉菌蔓延生长覆盖整个平板的可记录为菌落蔓延。

## 10 结果和报告

### 10.1 霉菌总数的计算

10.1.1 若只有一个稀释度的平板上的菌落数在 10 CFU～100 CFU 范围内,计算两个平板菌落数的平均值,再将平均值乘以相应稀释倍数,作为每克(g)或每毫升(mL)试样中霉菌总数结果。示例见附录 B 中的示例 1。

10.1.2 若有两个连续稀释度的平板菌落数在 10 CFU～100 CFU 范围内时,则试样中的霉菌总数以 $N$ 计,数值以菌落形成单位每克或每毫升(CFU/g 或 CFU/mL)表示,按式(1)计算:

$$N=\frac{\sum C}{(n_1+0.1n_2)d} \qquad \cdots\cdots(1)$$

式中:

$\sum C$ ——菌落数在 10 CFU～100 CFU 范围内的平板菌落数之和,单位为菌落形成单位(CFU);

$n_1$ ——第一稀释度(低稀释倍数)平板个数;

0.1 ——对第二稀释度平板数量的权重调整系数;

$n_2$ ——第二稀释度(高稀释倍数)平板个数;

$d$ ——稀释因子(第一稀释度,未经稀释的液体试样稀释因子为 1)。

计算结果作为每克(g)或每毫升(mL)试样中霉菌总数结果。示例见附录 B 中的示例 2。

10.1.3 若所有稀释度的平板上菌落数均大于 100 CFU,则对稀释度最高的平板进行计数,其他平板可记录为多不可计,结果按平均菌落数乘以最高稀释倍数计算。示例见附录 B 中的示例 3。

10.1.4 若所有稀释度的平板菌落数均小于 10 CFU,则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数计算。示例见附录 B 中的示例 4。

10.1.5 若所有稀释度平板均无霉菌生长,则以小于 1 乘以最低稀释倍数计算。示例见附录 B 中的示例 5。

10.1.6 若所有稀释度的平板菌落数均不在 10 CFU～100 CFU 之间,其中一部分小于 10 CFU 或大于 100 CFU 时,则以最接近 10 CFU 或 100 CFU 的平均菌落数乘以稀释倍数计算。示例见附录 B 中的示例 6。

### 10.2 结果表述

10.2.1 若所有稀释度平板均无霉菌生长,固体样品结果表述为<10 CFU/g,液体样品结果表述为<1 CFU/mL。

10.2.2 霉菌总数小于 100 CFU 时,按“四舍五入”原则修约,以整数报告。

10.2.3 霉菌总数大于或等于 100 CFU 时,第三位数字采用“四舍五入”原则修约后,采用 2 位有效数字,后面用 0 代替位数;也可用 10 的指数形式来表示,按照“四舍五入”原则修约后,采用 2 位有效数字。

10.2.4 若因菌落蔓延生长等因素导致第 3 天和第 5 天的计数结果不一致,选择两次计数结果中高者报告。

10.2.5 若空白对照上有菌落生长,则此次测定结果无效。

10.2.6 称重取样以 CFU/g 为单位报告,体积取样以 CFU/mL 为单位报告。

# 附　录　A
（规范性）
DRBC 培养基

## A.1　培养基成分

| | |
|---|---|
| 蛋白胨 | 5.0 g |
| 葡萄糖 | 10.0 g |
| 磷酸二氢钾 | 1.0 g |
| 氯硝胺 | 0.002 g |
| 七水硫酸镁 | 0.5 g |
| 孟加拉红 | 0.025 g |
| 氯霉素 | 0.1 g |
| 琼脂 | 15.0 g |
| 水 | 1 000 mL |

## A.2　制法

将上述成分煮沸溶解，用氢氧化钠溶液(5.2)或盐酸溶液(5.3)调节 pH，使灭菌后 pH 为 5.6±0.2。分装于适宜容器中，121 ℃ 高压灭菌 15 min，避光保存备用。

# 附　录　B
（资料性）
霉菌总数计算示例

霉菌总数计算见示例1～示例6。

示例1：

| 项目 | 稀释度 | | | 计算方式 | 计算结果 | 结果表示 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1∶10 | 1∶100 | 1∶1 000 | | | |
| 菌落数/CFU | 多不可计，多不可计 | 82，78 | 6，8 | $\frac{82+78}{2}\times100$ | 8 000 | $8.0\times10^3$或8 000 |

示例2：

| 项目 | 稀释度 | | | 计算方式 | 计算结果 | 结果表示 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1∶10 | 1∶100 | 1∶1 000 | | | |
| 菌落数/CFU | 多不可计，多不可计 | 82，78 | 12，16 | $\frac{82+78+12+16}{[2+(0.1\times2)]\times\frac{1}{100}}$ | 8 545 | $8.5\times10^3$或8 500 |

示例3：

| 项目 | 稀释度 | | | 计算方式 | 计算结果 | 结果表示 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1∶10 | 1∶100 | 1∶1 000 | | | |
| 菌落数/CFU | 多不可计，多不可计 | 多不可计，多不可计 | 102，104 | $\frac{102+104}{2}\times1\ 000$ | 103 000 | $1.0\times10^5$或100 000 |

示例4：

| 项目 | 稀释度 | | | 计算方式 | 计算结果 | 结果表示 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1∶10 | 1∶100 | 1∶1 000 | | | |
| 菌落数/CFU | 8，6 | 1，0 | 0，0 | $\frac{8+6}{2}\times10$ | 70 | 70 |

示例5：

| 项目 | 稀释度 | | | 计算方式 | 计算结果 | 结果表示 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1∶10 | 1∶100 | 1∶1 000 | | | |
| 菌落数/CFU | 0，0 | 0，0 | 0，0 | $<1\times10$ | $<10$ | $<10$ |

示例 6：

| 项目 | 稀释度 | | | 计算方式 | 计算结果 | 结果表示 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1∶10 | 1∶100 | 1∶1 000 | | | |
| 菌落数/CFU | 102，104 | 6，4 | 0，0 | $\frac{102+104}{2}\times 10$ | 1 030 | $1.0\times 10^{3}$或1 000 |