

饲料中有毒有害物质的 控制与测定

杨曙明 张 辉

北京农业大学出版社

饲料中有毒有害物质的控制与测定

杨曙明 张 辉 编著

内 容 提 要

本书共分六章,前五章逐一讨论了42种饲料中天然、次生和外源性有毒有害物质的理化性质,在饲料中的分布特点,对饲料和动物的危害、检测方法和国内外饲料中有毒有害物质在饲料中的允许限量标准以及控制和防治措施。第六章介绍了饲料中毒害物质的快速定性和定量检验方法。

本书可供从事动物营养、畜牧兽医、饲料加工等方面的研究、管理和畜禽养殖以及有关专业人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

饲料中有毒有害物质的控制与测定/杨曙明,张辉编著。

北京:北京农业大学出版社,1994

ISBN 7-81002-633-x

I. 饲… II. ①杨…②张… III. 饲料-有毒物质-检测

IV. S816.17

中国版本图书馆 CIP 数据核字(94)第 04755 号

北京农业大学出版社出版发行

(北京海淀区圆明园西路2号)

中国农业科学院区划印刷厂印刷 全国书店经销

1994年6月第1次印刷 1994年6月第一版

787×1092毫米 开本1/16 印张15 字数38万字

印数0~1000册

定价25元

目 录

第一章 饲料中的有害细菌

第一节 饲料中细菌的概述	(1)
第二节 饲料中有害细菌的污染情况	(2)
第三节 细菌对动物及饲料的危害	(4)
第四节 有关检测方法	(7)
一、饲料中细菌总数的测定方法 (GB 13093-91)	(7)
二、饲料中大肠菌群测定	(10)
三、饲料中沙门氏菌的检验方法 (GB 13091-91)	(14)
四、饲料中志贺氏菌检验方法	(24)
五、饲料中肉毒梭菌及肉毒毒素检验	(27)
第五节 允许量及控制措施	(20)

第二章 霉菌及霉菌毒素

第一节 概述	(33)
第二节 饲料中的霉菌	(24)
第三节 饲料中的霉菌毒素	(48)
I 黄曲霉毒素	(51)
II 玉米赤霉烯酮	(58)
III 赭曲霉毒素	(62)
IV T-2 毒素	(65)
V 脱氧雪腐镰刀菌烯醇	(67)
VI 二醋酸蔗草镰刀菌烯醇	(71)
VII 麦角碱	(72)
VIII 杂色曲霉毒素	(74)
第四节 饲料防霉去毒技术	(78)

第三章 饲料中有毒有害元素

第一节 铅	(83)
第二节 砷	(89)
第三节 硒	(95)
第四节 汞	(100)
第五节 氟	(104)
第六节 钼	(109)
第七节 镉	(113)
第八节 铬	(117)

第四章 饲料中有毒有害的化合物

第一节 亚硝酸盐	(122)
第二节 氰化物	(129)
第三节 草酸及草酸盐	(138)
第四节 植酸及植酸盐	(139)
第五节 生物碱	(142)

第六节	组胺	(145)
第七节	3-硝基丙酸	(148)
第八节	单宁	(152)
第九节	红细胞凝集素	(156)
第十节	皂角质	(158)
第五章	饲料中特征性的有毒有害物	
第一节	棉籽饼中的有毒成分	(162)
第二节	菜籽饼粕中有毒成分	(174)
第三节	大豆饼粕中的有害成分	(189)
第四节	蓖麻饼	(197)
第五节	马铃薯中有毒成分	(200)
第六节	草木樨	(201)
第六章	饲料中毒素的快速检验	
第一节	植物性饲料中有毒有害物快速检验	(206)
第二节	饲料中霉菌及其毒素的快速检验	(217)
第三节	饲料中有毒元素的快速检验	(226)
第四节	饲料中有毒农药的快速检验	(228)

第一章 饲料中的有害细菌

第一节 饲料中细菌的概述

细菌是自然界中数量最多的生物，自然会对饲料有所侵蚀。但由于细菌的生长所需的环境水分含量一般在15%以上，而饲料尤其在配合饲料中，水分一般在13%以下，因此饲料中细菌的产生就不如霉菌那么严重。对此方面的研究也不太多。但是对一些营养成分含量高，例如肉骨粉，或含油含水分高的饲料，如植物油料的饼粕，或由含菌物产生的饲料如发酵产生的饲料，在消毒不好等情况下，饲料中细菌含量会显著增加，其中有些细菌使饲料变质变色变味直至产生毒素，危害畜牧生产。

细菌是用显微镜才能看得见的非常小的单细胞植物。大多数细菌细胞长度只有几微米，其直径小于长度。它们能穿透极小的孔隙，进入各种饲料内部。

在饲料生产、处理、加工或供应过程中，细菌可能进入饲料。因为细菌需要有利于生长的营养、温度和湿度，不是所有的细菌都能在饲料中生长。对一种细菌能生长旺盛的环境，对另一种细菌也许不能。有些细菌需要空气中的氧，这就是好氧细菌；另一些细菌的生长必须在没有氧的情况下进行，这就是厌氧细菌。有些细菌喜欢冰点以下的温度；另一些则喜欢高温。对大多数细菌来说，适应的最低温度是-12℃，最高温度是60~88℃。

在自然界存在的大约万种细菌中，大多数细菌是对人、动物有益的，没有它们，地球上就不会有生命存在，这些细菌被称为是有益细菌。在饲料的加工、生产中也广泛地使用细菌，例如反刍动物的青贮饲料就是利用乳酸菌的大量繁殖，产生大量的乳酸能抑制其它细菌繁殖，使青绿饲料得以长期保存。利用细菌生产蛋白质饲料开始于在低级石油产品（重油、长链石等）原料上生产细菌蛋白，现在这种技术已广泛地应用在酿酒、制革、生产淀粉等工业的废水、废渣上发酵生产蛋白质饲料。但饲料中也有许多细菌可以造成饲料腐败或由饲料传染疾病，这些被称为饲料中的有害细菌，这是本章讨论的重点。饲料中有害细菌对畜牧生产的危害，一是通过饲料传染疾病例如沙门氏菌、志贺菌；另一个是产生细菌毒素使动物中毒，此外，还能引起饲料的变质变味营养价值下降。

共存于饲料中的细菌种类及其相对数量的构成，通称为饲料的细菌菌相。其中数量较大的细菌称为优势菌种，饲料在细菌作用下所发生的变化程度和特征，主要决定于菌相，特别是优势菌种。目前饲料卫生学中推测总细菌繁殖量有两个指标，一个是细菌总数；另一个是大肠杆菌数。

细菌总数是指单位（g、ml 或 cm²）饲料中细菌的个数，它不考虑其种类。因所用检测计数方法不同而有两种表示方法。一种是在严格规定的条件下（样品处理、培养基主基pH、培养温度与时间、计数方法等），经处理的样品直接和平皿培养或经微孔滤器过滤再行培养，使适应培养条件的每个活菌细胞必须而且只能生成一个肉眼可见菌落，结果称为该饲料的菌落总数。另一种方法是将样品适当处理后，经涂片染色或放入托玛氏血细胞计数室，在镜下对细菌细胞直接计数，其中既包括活菌，也包括尚未消失的死菌，结果应称为该饲料的细菌总数。我国均采用前者。

饲料中细菌来自饲料产储运销各环节的外界污染，如空气、土壤、水、尘埃、器物、人

手等，所以饲料细菌数量的第一方面意义是饲料清洁状态的标志。我国和许多国家均在饲料卫生标准中规定各种饲料的菌落总数的容许限量，以促进提高饲料的清洁状态。细菌通过自己产生的酶分解饲料的营养物质，因而饲料细菌数量越多越能加速饲料腐败变质。在0℃下的肉骨粉，菌落总数为 10^5 个/cm²时可保存18天，而当菌落总数增至 10^5 个/cm²时，则只能保存7天，利用菌落总数预测饲料的耐保藏性，是饲料细菌数量的第二方面的意义。

大肠菌群 (coliform group) 包括肠杆菌科的埃希氏菌属、柠檬酸杆菌属、直菌属和克雷伯菌属。这些菌属中的细菌，一向认为均系直接间接来自人与温血动物肠道、需氧与兼性厌氧、不形成芽包，在35~37℃下能发酵乳糖产酸产气的革兰氏阴性杆菌。仅极个别菌种例外。大肠菌群现已广泛用作许多国家的饲料卫生质量鉴定指标，包括我国在内。

一般认为，大肠菌群都是直接间接来自人与温血动物粪便。国内有人研究人、畜、禽类104份粪便，结果大肠菌群检出率为88.8~100%。本群中典型大肠杆菌以外的三属，除直接来自粪便外，也可能来自典型大肠杆菌排出体外7天~1个月后的环境中的变异。所以饲料中检出大肠菌群，表示饲料受到人与温血动物粪便污染；其中典型大肠杆菌说明粪便近期污染，其它菌属可能为粪便的陈旧污染。考虑到大肠菌群在环境中广泛存在，所以实际上它也是饲料一般污染的指标。大肠杆菌另一个重要意义是作为肠道致病菌污染饲料的指示剂。

从影响饲料卫生的质量来看，常要考虑的致病细菌类型为：沙门氏菌、志贺菌、肉毒梭菌、这些菌的特点：

一、沙门氏菌

沙门氏菌为革兰氏染色阴性杆菌，大小为 $0.6 \times 2 \sim 3 \mu\text{m}$ ，大多有周鞭毛（鸡沙氏杆菌和白痢杆菌除外）能运动，不产生芽胞，一般无荚膜；为兼性好氧菌。营养要求不高，普通培养基生长良好，能分解多种糖类；多能产酸，产气；生长温度为10~42℃，最适宜的温度为37℃，本菌不耐热，在60℃水中10~20min即可死亡。消毒药物如来苏儿、石炭酸、漂白粉等在5~10%的浓度下也能迅速将其杀死。在水中和土壤中可存活数日至数月，所以在不清洁的水池中也常有大量沙氏杆菌存在。

沙门氏属细菌种类很多，最常见的有肠炎杆菌、猪、鸡伤寒菌和猪霍乱杆菌、鸡白痢沙门氏杆菌、鸡副伤寒沙门氏杆菌及马流产沙门氏菌等。这些细菌本来就是动物的病原菌。

沙门氏菌不属于腐败菌，不分解蛋白质、不产生吲哚，所以饲料中虽有大量细菌繁殖，也不能从视觉和味觉上识别出来。

二、肉毒梭菌

肉毒梭菌是革兰氏阳性的厌氧杆状细菌，长 $4 \sim 6 \mu\text{m}$ ，宽 $1 \mu\text{m}$ ，两端浑圆，无荚膜，周围有鞭毛，能运动，并能产生比菌体大的芽胞，形似网球拍。肉毒梭菌本身无致病力，但在适宜条件下能产生强烈的毒素，动物吃了被肉毒杆菌污染的肉类或其它饲料便发生中毒。

繁殖型的细胞抵抗力弱，但形成芽胞后抵抗力很强，A型肉毒梭状芽胞杆菌能耐煮沸6h以上，只有加热到120℃30min，125℃20min，才能杀死芽胞。10℃的盐酸经1h、5%的石炭酸及20%的福尔马林须经24h才能杀死芽胞。E型耐热性较低，加热100℃经1min即死。

肉毒杆菌毒素对动物的毒性很大，这种细菌所形成的外毒素，是目前已知的细菌外毒素中最强烈的一种。注入0.01μg就可使豚鼠死亡。

外毒素有A，B，C，D，E五型，致病的主要是A，B两型，E型毒性较小，C，D两型

无致病性。各型毒素致病作用相同，但其抗原不同，故不能交叉免疫。外毒素遇热不稳定，90℃ 40min，100℃ 10min 均能被破坏；对低温耐受性强；对碱性易破坏而失去毒性；但对酸类不易破坏，故在胃内不受胃酸破坏，因而易吸收中毒。

三、志贺杆菌

志贺杆菌是由日本医生志贺价发现的一种人畜共患病菌。

第二节 饲料中有害细菌的污染情况

饲料中细菌的污染程度因饲料种类不同而变化很大。各种有害细菌中以沙门氏菌的危害程度最大。日本 1976~1989 年对饲料中沙门氏菌的污染情况进行了连续而系统地调查，从调查的结果来看，在日本家畜生产上所消耗的动物性饲料原料的量在 120 万 t 至 130 万 t 之间，所消耗的动物性饲料原料中由国外而来的输入品所占的比率视年度而有些差异，但大体在 24~45% 的范围内。各种饲料原料中沙门氏菌检出率差异很大。配合饲料也因所用原料配比不同而表现出不同的检出率。

表 1-1 各种饲料原料的采取年度沙门氏菌阳性率 (%)

种 类	采 取 年 度											
	1976~ 1977	1978~ 1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989
鱼粉	18.0	15.3	9.0	10.5	6.4	13.6	18.6	13.8	11.3	11.5	6.7	4.9
肉骨粉	26.9	24.6	6.3	38.1	26.3	17.6	32.1	25.0	21.4	18.5	9.5	27.8
肉粉	65.4	44.4	33.3	83.3	85.7	50.0	55.6	14.3	33.3	40.0	66.7	33.3
羽毛粉	0	16.0	25.0	0	0	20.0	0	0	0	0	0	33.3
动物性												
蛋白质	42.9	40.0	33.3	0	33.3		22.2	28.6	50.0	0	0	0
混合饲料												
植物性油粕										18.5	12.5	0
配合饲料										25.0		
其他	0		20.0		0	0	0	0	0	0	0	
平均检出率	4.8	19.9	11.8	18.2	14.3	16.0	20.6	15.8	14.9	12.9	8.7	13.4
检验总数	306	281	102	121	126	119	223	160	171	202	161	119

动物性饲料原料中阳性率最高者是肉粉，在 102~306 个检体中有 14.3~85.7% 是阳性。其次，肉骨粉的阳性率亦很高，检体之中有 6.3~38.1% 是阳性。以鱼粉及肉骨粉为基础而混合羽毛粉的某种动物性蛋白质混合饲料，其消耗量为其他饲料原料的 1/10 左右。此种饲料原料的沙门氏菌阳性率很高，检体之中有 22.2~50% 是阳性。

除了动物性饲料原料外，植物性饲料原料的油粕类亦有沙门氏菌污染。植物性油粕类有

大豆粕、油菜籽粕、亚麻仁粕、葵花油粕、椰子油粕、芝麻粕、棉籽粕等。其中油菜籽粕、亚麻仁粕、葵花油粕的沙门氏菌污染率很高。植物性油粕类方面，1987 年度的检查平均检出率达 18.5%，1988 年度的检查阳性率为 12.5%。

以样品采取年度来看沙门氏菌阳性率在各年度间有些变动，但 1976~1989 年阳性率差异并不很大，此显示沙门氏菌污染不易改善。但对于污染率特别高的肉粉，若检查数只有 3 例的 1988 年度的成绩不考虑在内的话，自 1985 年度以后阳性率显著降低，显示沙门氏菌污染已获得改善。饲料原料的沙门氏菌污染率以月来看时，一年当中不论是那一季节都有沙门氏菌检出。

美国的 Cox 等 (1983) 也对饲料中的沙门氏菌和大肠杆菌的污染情况进行研究，他们发现 (见表 2)，肉骨粉是这两种菌检出率最高的饲料，其检出率达 92%。而配合饲料中颗粒料沙门氏菌检出率 (0%) 比粉状料 (58%) 要低的多。

表 1-2 饲料中沙门氏菌 (S) 和大肠杆菌 (E) 检出率

样 品	S+ (%)	E+ (%)
肉骨粉	92	92
颗粒料	0	60
粉 料	58	100

我们曾对部分国产鱼粉、肉骨粉、血粉等动物性饲料进行了检测，发现沙门氏菌污染率平均为 17.37%。

总之，从饲料中病原性细菌的危害来看，以沙门氏菌的危害最大，饲料中的污染率最高。动物性饲料原料中所含的沙门氏菌数，通常饲料 100g 中为 100 个以下。动物性饲料原料在配合饲料中的添加比率是 5~20%，故每 100g 配合饲料中沙门氏菌的数目应在 20 个以下。但沙门氏菌的危害除其数量因素外，还要视沙门氏菌的血清型，有时一个菌亦会使雏鸡发生感症，故应多加留意。

第三节 细菌对动物及饲料的危害

饲料中细菌的危害有三个方面，一是含有致病性细菌如沙门氏菌、志贺菌、肉毒梭菌的饲料将使动物产生疾病；二是细菌的繁殖使某些饲料营养成分如脂肪、动物蛋白产生腐败作用；三是非致病性细菌寄生于饲料中，消耗饲料中的养分，使饲料营养价值下降。

一、饲料中致病菌对动物的危害

1. 肉毒梭菌对动物的危害

[毒理作用] 肉毒梭菌外毒素是一种嗜神经毒素。动物摄入后对胃肠道有一定的刺激作用，在胃及小肠上段吸收而入血液循环，选择性地作用于神经，主要作用于神经末梢，神经与肌肉接连处。由于抑制神经传导化学介质乙酰胆碱的释放或合成，因而发生肌肉麻痹，所以本病以唇、舌、咽喉等的麻痹为特征。毒素可作用于血管的神经感受器，而引起中枢神经系统运动中枢的病损，如延脑的神经核和脊髓的神经细胞。脑及脑膜显著充血水肿。有多发性的点状出血区域。肝、脾、肾、胃、肠等可见明显的充血、水肿，并有出血点。

〔中毒症状〕 牛、羊等反刍动物中毒时，最急性者常不表现任何症状而突然死亡。急性型病初精神沉郁，个别有兴奋状态，有顶人恶癖。以后发生吞咽困难，运动麻痹，卧地不起，头向后弯，颈部、腹部和股部肌肉松弛，饮食停止，咀嚼及吞咽麻痹，舌尖露于口外，口流白色粘性泡沫状唾液；但知觉、反射和体温均正常，于1~5天内死亡。慢性者除有上述症状外，常并发肺炎，病畜消瘦而死亡。各型病例均有自愈者。

猪中毒时，运动失调，步行不稳，食欲不振，胃肠发炎，粘膜发黄，以后卧地不起，头向后弯，感觉迟钝，视力减退。

马属动物，中毒时有最急性、急性和慢性三型症状。最急性者突然倒地，昏迷，全身痉挛，不发生麻痹现象而在几小时死亡。急性者肌体虚弱，步行摇摆，唇、舌、咽喉和下肢麻痹，采食、饮水、咀嚼和吞咽都困难；脉搏快，呼吸急，但体温正常，神志清醒，于5~6天内死亡。慢性者初期舌、咽麻痹，但可迅速消退，主要表现为运动困难，站立不稳，步伐摇摆，经常跌倒，起立时象牛样，呈后肢先起立的异态。病程可拖延几个月。

家禽中毒时，颈、翅和腿部麻痹，昏睡，头颈着地向前伸，不能抬起。急性者几小时内死亡。慢性者羽毛脱落，拉稀，虚脱而死亡。

2. 沙门氏菌

〔毒理作用及中毒症状〕 沙门氏菌的中毒作用是不耐热的菌体内毒素的作用。内毒素是一种多糖一类脂一蛋白质化合物。动物随着被污染饲料摄入大量活菌，并在肠道内继续繁殖，才能引起中毒。摄入的活菌，经肠系膜淋巴系统进入血循环，形成一过性菌血症，肠道内大量的细菌及菌体崩解后释放出来的内毒素，对肠道粘膜，肠壁及肠壁的神经、血管有强烈的刺激作用，造成肠道粘膜肿胀、渗出、粘膜脱落，因而中毒动物表现呕吐、腹痛及不同性状的腹泻。内毒素由肠壁排入肠内，对肠管局部有致敏作用，因而引起局部炎症或加重局部炎症。

不同的沙门氏菌类型，对畜禽的危害略有不同的临床症状：

(1) 鸡白痢沙门氏杆菌：主要侵害雏鸡，引起败血症。对成年母鸡，则引起卵巢炎。该菌还可在卵黄内存在而传给幼雏。能感染大鸡，但对其他畜禽不致病。因此，在雏鸡和产蛋鸡的饲料中，一定要特别注意鸡白痢沙门氏菌的检测；

(2) 鸡伤寒沙门氏杆菌：主要感染鸡，也可感染火鸡、鸭、鹌鹑等。在中鸡和成年鸡中较常见。也可经蛋传染给雏鸡，使其发生急性或慢性的败血症；

(3) 马流产沙门氏杆菌：主要侵害怀孕母马（包括驴）的胎盘，引起流产或继发性子宫炎，使初生幼驹发生败血症或局部感染，引起关节炎、肺炎等。公马则引起睾丸炎。被感染的母马，血清凝集价在1:500以上，流产后10天凝集价达最高峰，可以达到1:5000以上；

(4) 猪霍乱沙门氏杆菌：主要引起仔猪的副伤寒，成年猪为急性带菌者或猪瘟继发感染。因此，这种沙门氏杆菌具有潜在的威胁性。成年猪感染沙门氏杆菌后不表现出症状，而是源源不断地向外界排菌，再污染饲料或食品，影响畜禽健康和生产力，造成觉察不到而有很大的经济损失。

二、细菌引起的饲料腐败变质

1. 引起饲料腐败变质的条件 由细菌引起的饲料腐败变质是饲料腐败变质的一种形式。是饲料本身、环境因素和微生物三者互为条件，相互影响的综合作用的结果。

饲料营养成分，水分多少，pH 高低和渗透压大小等，影响饲料中细菌增殖速度，菌丝组

成和优势菌种，从而决定饲料的腐败倾向和腐败变质的进程和特征。例如蛋白质含量很高的动物性饲料，常以各种腐败菌为优势菌种，并以蛋白质腐败为基本特征；谷类饲料在细菌作用下以产酸发酵为最基本特征；高脂肪含量的饲料如饲用油脂，一般不适于细菌增殖，其腐败主要是由活化因素引起。饲料中细菌的最适 pH 值大约为 6，高蛋白质饲料 pH 约为 8，谷物饲料 pH 平均为 5。

饲料中细菌增殖的必要条件之一是从饲料吸取一定的水分，所以饲料中水分含量是影响微生物相及其增殖以及腐败变质的重要因素。饲料中含水量愈高则愈易于细菌的生长繁殖。一般饲料原料及配合饲料中，水分在 12~13% 以下，对细菌的繁殖不利，因此由细菌造成的饲料腐败变质营养价值下降并不严重。在高湿地区或特殊环境下，一般易吸潮的高蛋白质饲料如肉骨粉、鱼粉等，水分或表面水含量达 15~18%，这时这些高蛋白质饲料就成为细菌繁殖的良好培养基。

2. 引起饲料腐败变质的细菌 分解饲料中蛋白质的细菌主要是需氧的芽胞杆菌属、假单胞菌属、变形杆菌属、厌氧的梭菌属。

分解脂肪的细菌主要有产碱杆菌等。

分解淀粉和纤维素类的有芽胞杆菌属，梭菌属以及八迭球菌属。

3. 饲料腐败变质的化学反应及结果 细菌引起的饲料腐败变质是在细菌酶和其他因素作用下饲料组成成分的分解。如前所述，引起腐败变质的原因和条件相当复杂多变，因而饲料成分分解的化学过程及其形成产物与饲料表现的特征也变化不定。因此，建立饲料腐败变质的定量的客观鉴定指标相当困难，许多问题尚待研究，在此仅作一简要讨论。

(1) 饲料中蛋白质的分解 肉骨粉、鱼粉和其他含蛋白质较多的饲料，主要是以蛋白质分解为其腐败变质特征。蛋白质在芽胞杆菌属、梭菌属、假单胞菌属、链球菌属细菌的蛋白酶 (protease) 和肽链内切酶 (endopeptidase) 等作用下，首先分解为肽，并经断链形成氨基酸。氨基酸及其它含氮低分子物质在相应酶作用下进一步分解，饲料即将表现出腐败特征。氨基酸经脱羧、脱氨分别形成胺类和羧酸，氧化脱氨亦可生成酮酸，进而形成羟酸、醇等。由甘氨酸、鸟氨酸、精氨酸、组氨酸和色氨酸可分别形成甲胺、腐胺、组胺、色胺等著名的腐败胺类。

饲料腐败变质的鉴定一般是从感官、物理、化学和微生物等四个方面确定其适宜指标。关于微生物指标已见上述。对蛋白质性饲料，目前仍以感官指标最为敏感可靠。由于蛋白质分解，所以饲料的硬度和弹性下降，组织失去原有的坚韧，以致各种饲料产生外形和结构的特有变化或发生颜色异常。蛋白质分解产物所特有的气味更为明显。有人对 192 种有臭味的蛋白质分解产物进行测定，在空气中的嗅觉刺激更为明显。嗅觉刺激值为 $10^{-7} \sim 10^{-12} \text{mol/L}$ 者占 90% 以上，例如氨 2.14×10^{-6} ，三甲胺 5.01×10^{-9} ，乙硫醇 2.09×10^{-9} ，硫化氢 1.91×10^{-10} ，粪臭素 1.29×10^{-11} 等。对如此微量的物质过去不能用客观检测技术检出，随着检测技术的进步，今后有可能将一向依靠感官检查的气味改用客观测定指标。

(2) 碳水化合物的分解 饲料中的碳水化合物在各种酶及其它因素作用下，可发生水解并顺次形成其低级产物，如醇、醛、酮或产气 (CO_2 等)，也时常伴随产生特有的气味。

(3) 脂肪的酸败 饲用油脂与饲料中脂肪的酸败程度 (rancidity) 受脂肪酸的饱和程度、紫外线、氧、水分、天然抗氧化物质及饲料中细菌的解脂酶等多种因素的影响。对于油脂酸败的化学过程、特别是与细菌的关系了解尚不够充分，但主要是经水解与氧化产生相应的分解产物。如水解后分解成甘油、甘油二酯或甘油一酯以及相应脂肪酸。氧化后形成氢过氧化

物，再分解为羰基化合物，低分子脂酸与醇、酯等，或者由氢过氧化物分解为羧酸与聚合、缩合化合物。

上述反应过程中的某些具体步骤和产物极为复杂，目前各家主张不尽一致，有些尚待研究。但脂肪分解早期，酸败尚不明显时，由于产生过氧化物和氧化物即可使脂肪的过氧化物值上升；其后则由于形成的各种脂酸、以致油脂酸度（或酸价）增高；醛、酮等羰基化物的出现是不同脂酸在不同条件下发生醛酸败与酮酸败的产物。油脂酸败过程中，脂酸的分解必定影响其固有的碘价（值）、凝固点（熔点）、比重、折光指数、皂化价等发生变化。所形成的醛、酮和某些羧酸能使酸败油脂带有特殊刺激臭气，即所谓“油豪”气味。这些都是油脂酸败鉴定中较为敏感和实用的指标。值得注意的是，油脂中水分含量及油脂前身的动植物残渣，虽不是酸败的标准，但可促进酸败，因而常为人们所注意。

由上述可见，腐败变质饲料首先是带有使动物难以接受的感官性质，如刺激气味，异常颜色、酸臭味道和组织溃烂、粘液污秽感等。其次是成分分解、营养价值严重降低；腐败变质饲料一般由于微生物污染严重，菌相复杂和菌量增多。因而增加了致病菌和产毒霉菌等存在的机会；由于菌量增多，可能使某些致病性微弱的细菌，引起动物的不良反应，甚至中毒。由致病性细菌引起的饲料中毒，都有菌量异常增大这个必要条件。至于腐败变质分解产物对动物的直接毒害虽然从19世纪初就不断进行研究。但迄今仍不够明确。然而这方面的报告与中毒事例却越来越多。脂肪酸败产物引起动物的不良反应及中毒，以及腐败可为亚硝胺类形成提供充分的胺类等都已经成为重要的问题。有机胺类和硫化氢等虽然具有的一定的毒性，但动物有足够的解毒功能，可与体内相同代谢产物一起代谢转化，但如果在短时间内摄入量过大，也有一定不良作用。纵然如此，目前仍不能把饲料腐败变质与饲料中毒直接联系起来。

畜禽生产特别是家禽生产中，一直受细菌尤其是沙门氏菌的困扰，因而饲料细菌污染是威胁畜牧生产的重要的一环。据美国的统计报告显示，每年因沙门氏菌导致畜禽饲料中毒次数达4万起以上，由此而造成的直接或间接经济损失达10亿美元左右。

第四节 有关检测方法

一、饲料中细菌总数的测定方法（GB 13093—91）

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 $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 下培养 $72\pm3\text{h}$ ，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： $50\sim200\pm1^{\circ}\text{C}$ ；

3.4 高压灭菌箱；

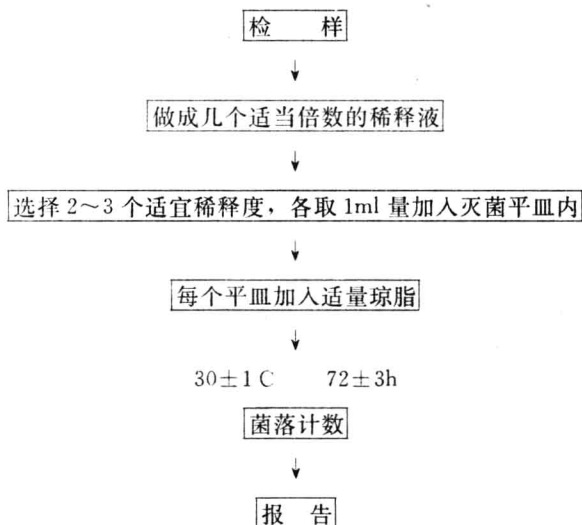
3.5 冰箱：普通冰箱；

3.6 恒温箱： $30\pm1^{\circ}\text{C}$ ；

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 mm：18×180；
- 3.13 水浴锅：46±1℃；
- 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。必须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。最好置均质中以 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大于30,则应按稀释度最高的平均菌落数乘以稀释倍数报告之。

6.1.5 如所有稀释度均无均菌落生长,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,应保存在 $0 \sim 5^\circ\text{C}$ 下,时间不超过一个月。

二、饲料中大肠菌群测定

大肠菌群系指一群在 37°C 24h 能发酵乳糖、产酸、产气、需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性无芽胞杆菌。该菌主要来源于人畜粪便,故以此作为粪便污染指标来评价饲料卫生的质量,具有广泛的卫生学意义。

饲料中大肠菌群数系以每 100ml (g) 检样内大肠菌群最可能数 (MPN) 表示。

1. 设备和材料

- 1.1 温箱: $36 \pm 1^\circ\text{C}$;
- 1.2 水浴: $44 \pm 0.5^\circ\text{C}$;
- 1.3 天平;
- 1.4 显微镜;
- 1.5 均质器或乳钵;
- 1.6 温度计;
- 1.7 平皿;
- 1.8 试管;
- 1.9 吸管;
- 1.10 载玻片。

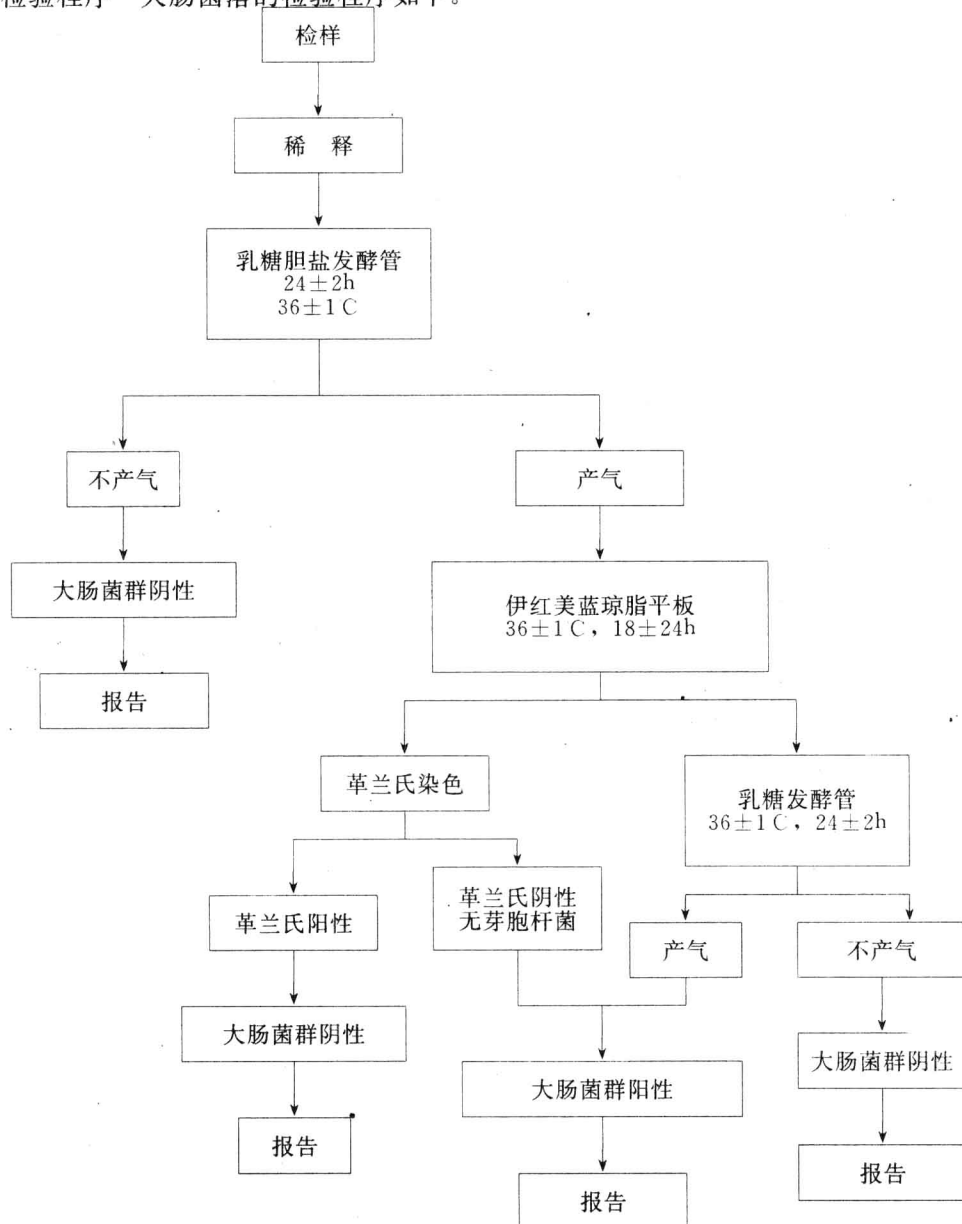
2. 培养基及试剂

2.1 乳糖胆盐发酵管: GB 4789.28-84《食品卫生微生物学检验、染色法、培养基和试》中 3.9。

2.2 伊红美蓝琼脂 GB 4789.28-84 中 3.23;

- 2.3 乳糖发酵管：GB 4789.28-84 中 3.10；
 2.4 蛋白胨水：GB 4789.28-84 中 2.13；
 2.5 靛基质试剂：GB 4789.28-84 中 2.13；
 2.6 革兰氏染色液：GB 4789.29-84 中 1.2。

3. 检验程序 大肠菌落的检验程序如下。



4. 操作步骤

4.1 检样稀释

4.1.1 以无菌操作将检样 25ml (或 25g) 放于含有 225ml 灭菌生理盐水或其他稀释液的灭菌玻璃瓶内 (瓶内预置适当数量的玻璃珠) 或灭菌乳钵内，经充分振摇或研磨作成 1:10 的均匀稀释液。固体检样最好用均质器，以 8000~10000r/min 的速度处理 1min 作用 1:10 的

表 1-3 大肠菌群最可能数 (MPN) 检索表

阳性管数			MPN	95%可信限	
1ml (g) × 3	0.1ml (g) × 3	0.01ml (g) × 3	100ml (g)	下限	上限
0	0	0	<30		
0	0	1	30	<5	90
0	0	2	60		
0	0	3	90		
0	1	0	30	<5	130
0	1	1	30		
0	1	2	60		
0	1	3	90		
0	2	0	60		
0	2	1	90		
0	2	2	120		
0	2	3	160		
0	3	0	90		
0	3	1	130		
0	3	2	160		
0	3	3	190		
1	0	0	40	<5	200
1	0	1	70	10	210
1	0	2	110		
1	0	3	150		
1	1	0	70	10	230
1	1	1	110	30	260
1	1	2	150		
1	1	3	190		
1	2	0	110	30	360
1	2	1	150		
1	2	2	200		
1	2	3	240		
1	3	0	160		
1	3	1	200		
1	3	2	240		
1	3	3	290		
2	0	0	90	10	360
2	0	1	140	30	370
2	0	2	200		
2	0	3	260		
2	1	0	150	30	440
2	1	1	200	70	890
2	1	2	270		
2	1	3	340		
2	2	0	210	40	470
2	2	1	280	100	500
2	2	2	350		
2	2	3	420		
2	3	0	290		
2	3	1	360		
2	3	2	440		