

ICS 65.080
B 10



中华人民共和国国家标准

GB/T 19524.1—2004

肥料中粪大肠菌群的测定

Determination of fecal coliforms in fertilizers

2004-05-31 发布

2004-10-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的附录 A、附录 B 为规范性附录。

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出。

本标准起草单位：农业部微生物肥料质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人：曹凤明、沈德龙、李俊、姜昕、李力。

肥料中粪大肠菌群的测定

1 范围

本标准规定了肥料中粪大肠菌群的测定方法。

2 定义

下列定义适用于本标准。

粪大肠菌群 fecal coliforms

一群在 $44.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 条件能发酵乳糖、产酸产气、需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性无芽胞杆菌。

粪大肠菌群数为每克(毫升)肥料样品中粪大肠菌群的最可能数(MPN)。

3 仪器设备

高压蒸汽灭菌器;显微镜;恒温水浴或隔水式培养箱;恒温旋转式摇床;干燥箱;天平;酸度计或精密 pH 试纸;接种环;试管(15 mm×150 mm);小套管(杜兰管);移液管;三角瓶;培养皿;载玻片;玻璃珠;酒精灯;试管架。

4 培养基和试剂

4.1 培养基:遵照附录 A 的规定。

4.2 革兰氏染色液:遵照附录 B 的规定。

5 检验步骤

5.1 样品稀释

在无菌操作下称取样品 10.0 g 或吸取样品 10 mL,加入到带玻璃珠的 90 mL 无菌水中,置于摇床上 200 r/min 充分振荡 30 min,即成 10^{-1} 稀释液。

用无菌移液管吸取 5.0 mL 上述稀释液加入到 45 mL 无菌水中,混匀成 10^{-2} 稀释液。这样依次稀释,分别得到 10^{-3} , 10^{-4} 等浓度稀释液(每个稀释度须更换无菌移液管)。

5.2 乳糖发酵试验

选取三个连续适宜稀释液,分别吸取不同稀释液 1.0 mL 加入到乳糖胆盐发酵管内,每一稀释度接种 3 支发酵管,置 $44.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴或隔水式培养箱内,培养 $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ 。如果所有乳糖胆盐发酵管都不产酸不产气,则为粪大肠菌群阴性;如果有产酸产气或只产酸的发酵管,则按 5.3 进行。

5.3 分离培养

从产酸产气或只产酸的发酵管中分别挑取发酵液在伊红美蓝琼脂平板上划线,置 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 18 h~24 h。

5.4 证实试验

从 5.3 分离平板上挑取可疑菌落,进行革兰氏染色。染色反应阳性者为粪大肠菌群阴性;如果为革兰氏阴性无芽胞杆菌则挑取同样菌落接种在乳糖发酵管中,置 $44.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ 。观察产气情况,不产气为粪大肠菌群阴性;产气为粪大肠菌群阳性。

5.5 结果

证实试验为粪大肠菌群阳性的,根据粪大肠菌群阳性发酵管数,查 MPN 检索表,得出每克(毫升)肥料样品中的粪大肠菌群数。