

前 言

本标准是对 GB/T 10288—1988《出口羽毛检验方法》、GB/T 10289—1988《出口水洗羽毛检验方法》的修订。

本标准与 GB/T 10288—1988、GB/T 10289—1988 相比,主要变化如下:

- 将原料羽毛和水洗羽毛检验方法合二为一,并去掉“出口”二字,定名为《羽绒羽毛检验方法》;
- 除采用 GB/T 17685—2003《羽绒羽毛》中的术语和定义外,还增加部分术语和定义,如抽样批、试样等;
- 抽样数量和样品处理方法基本采用了国际羽毛局(简称 IDFB)的方法;
- 组成成分检验基本采用 IDFB 方法,即不用小样除灰机、竹筛、拣样盘,而是采用分拣箱,杂质检验采用手检方法;
- 鹅鸭毛绒的种类鉴定也基本采用 IDFB 方法,该方法与我国现行方法比较接近;
- 耗氧量检验方法的修订基本与 IDFB 方法和欧洲方法接近;
- 改进了透明度仪器的结构。

本标准自生效之日起,同时代替 GB/T 10288—1988 和 GB/T 10289—1988。

本标准的附录 A 为规范性附录。

本标准由对外贸易经济合作部提出。

本标准起草单位:中国食品土畜进出口商会、中华供销合作总社、国家质量监督检验检疫总局、浙江出入境检验检疫局、山东出入境检验检疫局、上海出入境检验检疫局、南京出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:王永、王华雄、李玉祥、顾鸣、侯玉峰、张志彪、游中民。

羽 绒 羽 毛 检 验 方 法

1 范围

本标准规定了羽绒羽毛的定义、检验抽样方案、检验项目、检验方法和结果计算。

本标准适用于各种品种、规格的羽绒羽毛及其制品填充料的检验。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 17685—2003 羽绒羽毛

3 术语和定义

GB/T 17685—2003 确立的以及下列术语和定义适用于本标准。

3.1

抽样批 lot

一批出自同一个供货商的相同品种和规格的羽绒羽毛或制成品的填充料。

3.2

实验室样品 laboratory sample

从一批货物中抽取的、用于实验室检测的代表性样品。

3.3

试样 test sample

从实验室样品中抽取的、满足单个检测项目所需的样品。

3.4

组成成分 composition analysis

羽毛绒样品中包含的各种成分如绒子、毛片、损伤毛等。

3.5

原始滤液 initial extract

按规定的条件从蛋白胨生理盐水处理的试样中获得的滤液。

3.6

十进制稀释 decimal dilutions

从原始滤液开始的一系列 10 倍连续递增稀释。

3.7

菌落形成单位 colony forming units, CFU

在一块选择性琼脂上,通过一个单一细菌的扩增生成的上百万个同种细菌所形成的菌落。该菌落肉眼可见,并根据细菌种属、所用琼脂及培养条件的不同而具有不同的形状(如透镜状、放射状等)。

4 仪器设备与试剂

4.1 仪器设备

4.1.1 玻璃器皿:烧杯,规格:150 mL、250 mL、1 000 mL、2 000 mL;平皿,规格:直径 95 mm;载玻片,规格:25 mm×75 mm;10 mL 吸管;150 mL 称量瓶;索氏抽提器;抽提烧瓶;1 000 mL 带盖广口瓶;量筒,规格:100 mL、1 000 mL;玻璃棒。

4.1.2 塑料袋、布袋或其他容器:抽取水分检验样品时,应使用清洁、完好的塑料袋、布袋或其他容器密封的容器。

4.1.3 大拌样盘尺寸:长 180 cm×宽 90 cm,底面离地面高度 60 cm,边框高 25 cm。

4.1.4 分拣箱尺寸:底部 60 cm×40 cm,前面高 25 cm,后面高 40 cm。箱的顶部为玻璃,箱子应有充足的外部照明。

4.1.5 拣样盘尺寸:边框高 10 cm,直径 80 cm。

4.1.6 镊子。

4.1.7 分析天平精确度 0.1 mg 或普通托盘天平,最大称量 1 000 g,精确度 0.1 g。

4.1.8 15 cm 尺子。

4.1.9 投影仪或显微镜(40×以上)。

4.1.10 水平振荡器频率 150 次/min,振荡幅度 40 mm,可定时。

4.1.11 微量滴定管(器)每格刻度≤0.02 mL。

4.1.12 可加盖密封的广口塑料瓶,容量 2 000 mL。

4.1.13 标准筛孔径 0.1 mm(150 目)。

4.1.14 秒表。

4.1.15 磁力搅拌器。

4.1.16 透明度计 600 mm 和大于 600 mm 各一套(见图 1)。

4.1.17 蓬松度仪:防静电有机玻璃圆桶,高 60 cm,内径为 24.5 cm。桶壁两对面有两排刻度。桶内有一圆形铝质压板,直径 24 cm,质量为 68.4 g。

4.1.18 前处理箱:木头或其他材料制,内部尺寸 50 cm×50 cm×50 cm,箱底为底板,上为活络门,四周绷以金属或塑料纱网,使之能通风。

4.1.19 多孔水浴锅。

4.1.20 旋转蒸发器。

4.1.21 干燥器。

4.1.22 用中性滤纸和脱脂棉线做成的纸筒,其大小刚好能放入抽提器内。

4.1.23 八篮烘箱。

4.1.24 通风干燥箱温度可调至 $(105\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 。

4.1.25 恒温培养箱。

4.1.26 坩埚钳。

4.1.27 恒温恒湿室或恒温恒湿箱可调至温度 $(20\pm 2)^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $(65\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 。

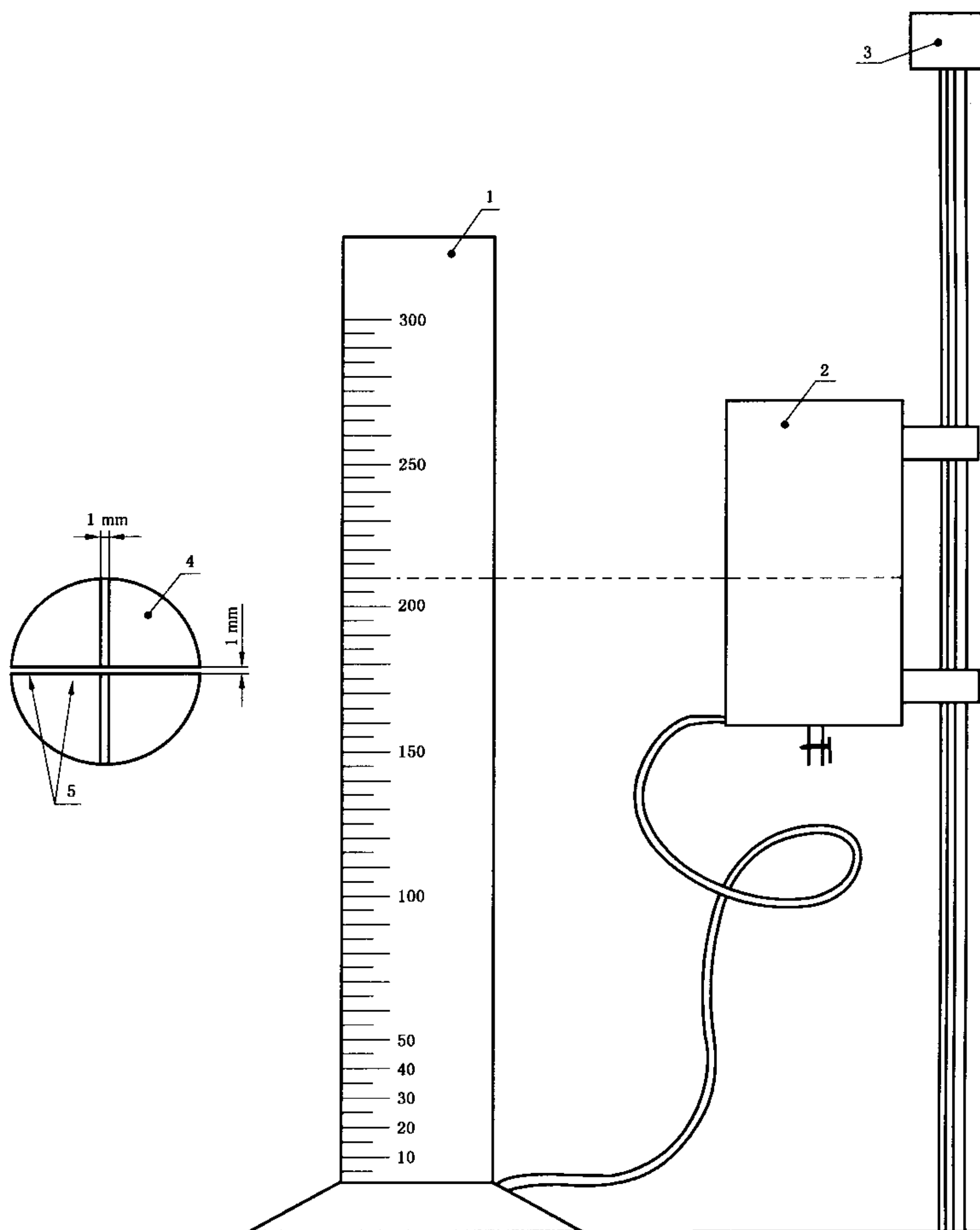
4.2 试剂

4.2.1 蒸馏水符合 GB/T 6682—1992 规定的三级水。

4.2.2 硫酸 3 mol/L。

4.2.3 高锰酸钾溶液 0.1 mol/L。

4.2.4 无水乙醚(分析纯)。



- 1——带刻度圆筒；
 2——容器；
 3——能使容器升高和降低的轨道；
 4——位于圆桶底部带十字线的小圆片；
 5——黑色双十字线。

图 1 透明度计

5 抽样

5.1 抽样方式

在尚未打包的临时包中抽取,或包装完全的条件下抽取,也可以从羽绒制品中抽取。

5.2 抽样数量

5.2.1 单件质量 500 g 以上制品的抽样数量

羽毛羽绒单件质量 500 g 及以上的包、袋、箱及羽绒制品的抽样数量见表 1。

表 1

货物数量/ 箱、包、件	取样数量 $X \times 3$	单个质量/g $\geq$	样品总质量/g $\geq$
1	1	135	405
2~8	2	70	420
9~25	3	45	405
26~90	5	30	450
91~280	7	20	420
281~500	9	20	540
501~1 200	11	20	660
1 201~3 200	15	15	675
3 201~10 000	19	15	855

5.2.2 填充量 500 g/件(条)以下的制品的抽样数量

填充量 500 g/件(条)以下的羽绒羽毛填充的制品的抽样数量见表 2。

表 2

货物数量/ 件、条	取样数量 $X \times 3$	单独样品的单个 质量/g $\geq$	样品总质量/g (实验室样品)数量 $\geq$
1	1	70	210
2~25	2	35	210
26~280	3	25	225
281~500	5	15	225
501~1 200	7	10	210
1 200 以上	9	10	270

5.3 抽样要求

按 5.2 规定的数量随机抽取有代表性的样品。从包装的上、中、下位置,各抓取一把羽毛(绒)置于样袋中。如为羽绒制品,则至少从三个部位拆开,从每个口子各抓起一把置于样袋中。但枕芯、靠垫等较小而且中间无分隔的制品允许只拆开一个口子。

5.4 样品的处理

5.4.1 匀样和缩样

将所取样品全部置于大拌样盘中,逐把铺匀、逐层铺平,用四角对分法反复缩至 200 g(样品原已在此范围内的,不必缩样),然后从中抽取试样。剩余样品用作留样。

5.4.2 检测项目所需的试样数量

各检测项目所需的试样数量见表 3。

表 3

检测项目		单个试样质量/g	试样个数
成分分析	含绒 $\geq 30\%$	≥ 4	3, 两个用于检测, 一个备用
	含绒 $< 30\%$	≥ 6	3, 两个用于检测, 一个备用
	纯毛片	≥ 30	3, 两个用于检测, 一个备用
耗氧量		10	2
透明度		10	2
残脂率	含绒 $\geq 30\%$	2~3	2
	含绒 $< 30\%$	4~5	2
蓬松度		28.4	1
水分	含绒 $\geq 30\%$	≥ 50	2
	含绒 $< 30\%$	≥ 100	2
气味		10	2

将各项目试样分别抽出, 按表 3 要求的数量分别置于 250 mL 烧杯中称取质量, 做好标记, 用平皿盖好待检。

5.5 留样

在通风、干燥、防虫的条件下至少保存半年, 样品应注明标签, 水洗和未水洗分开放置。

5.6 水分检测样品

用于水分含量检测的样品按 5.3 的要求, 与其他检测项目的实验室样品同时抽取, 每批货物抽取 20 g, 并放在可密封的容器中密封。

6 检验

6.1 检验项目

检验项目包括: 组成成分(毛片、陆禽毛、损伤毛、长毛片、异色毛绒、绒子、绒丝、羽丝、杂质), 鹅、鸭毛绒种类鉴定, 蓬松度, 耗氧量, 透明度, 残脂率, 气味, 水分含量, 微生物检验。

6.2 组成成分检验

6.2.1 初步分拣按以下步骤进行。

将七个 250 mL 烧杯分别标上 A、B、C、D、E、F、G, 放入分拣箱, 将一个成分分析试样放入分拣箱中, 用镊子和手指按如下方法挑拣出各种成分。

将毛片上的附着物除去, 完整的水禽羽毛置于烧杯 A 中, 水禽损伤毛置于烧杯 B 中, 陆禽羽毛、陆禽损伤毛和陆禽羽丝一起置于烧杯 C 中, 绒子、绒丝和羽丝的混合物置于烧杯 D 中, 长毛片置于烧杯 E 中, 杂质置于烧杯 F 中。

白毛绒中异色毛绒的分拣: 在进行初步分拣时, 将异色毛绒(包括异色绒子、水禽毛、水禽损伤毛、陆禽毛及其损伤毛、羽丝和绒丝)一并拣出, 置于烧杯 G 中, 称取烧杯内容物质量后(精确到 0.1 mg), 将各种异色毛绒分别放回各自的成分中, 例如将异色绒放入盛放绒子和绒丝与羽丝的混合物的烧杯中(烧杯 D)。

分别称取各烧杯内容物的质量, 精确到 0.1 mg。

6.2.2 第二步分拣按以下步骤进行。

将烧杯 D 的内容物在拌样盘中混匀, 从三个部位抽取总质量 0.200 0 g 以上的代表性样品。将五

个烧杯分别标上 H、I、J、K 和 L，放于分拣箱内。将上述样品置于分拣箱中，用手和镊子将样品分成：绒子、绒丝、羽丝、杂质和其他成分，分别放置于烧杯 H、I、J、K 和 L 中。

分拣方法：用镊子取出绒子，上下轻轻抖动五次，然后用镊子小心地挑出绒子上缠绕的羽丝或夹杂的其他成分，不要拣出缠绕在绒子上的绒丝，而只需去除抖松的绒丝。如在取出羽丝或其他成分时拉断了一根绒丝，则将这根绒丝放入绒子成分(烧杯 H)中。

分别称取各烧杯内容物的质量，精确到 0.1 mg。

6.2.3 按 6.2.3.1 和 6.2.3.2 对初步分拣和第二步分拣进行计算。

6.2.3.1 初步分拣

将烧杯 A、B、C、D、E 和 F 的内容物的质量相加，按式(1)得出总的分析后试样质量(m_1)：

$$m_1 = A + B + C + D + E + F \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中：

- m_1 ——分析后试样总质量，单位为克(g)；
- A——水禽羽毛质量，单位为克(g)；
- B——水禽损伤毛质量，单位为克(g)；
- C——陆禽羽毛及其羽丝质量，单位为克(g)；
- D——绒子、绒丝和羽丝的混合物质量，单位为克(g)；
- E——长毛片质量，单位为克(g)；
- F——杂质质量，单位为克(g)。

分别计算初步分拣所得的各种成分占总分析后试样的百分比，例如：

$$\text{水禽羽毛含量} = \frac{A}{m_1} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(2)$$

$$\text{异色毛绒含量} = \frac{m}{m_1} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中：

m ——异色毛绒的质量，单位为克(g)。

6.2.3.2 第二步分拣

将烧杯 H、I、J、K 和 L 的内容物相加得出第二步的分析后试样总质量(m_2)：

$$m_2 = H + I + J + K + L \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中：

- m_2 ——第二步的分析样总质量，单位为克(g)；
- H——绒子质量，单位为克(g)；
- I——绒丝质量，单位为克(g)；
- J——羽丝质量，单位为克(g)；
- K——杂质质量，单位为克(g)；
- L——其他成分质量，单位为克(g)。

分别计算第二步分拣后所得的各种成分占总分析后试样的百分比。结果计算见式(5)～式(9)：

$$\text{绒子含量} = \frac{D}{m_1} \times \frac{H}{m_2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(5)$$

$$\text{绒丝含量} = \frac{D}{m_1} \times \frac{I}{m_2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(6)$$

$$\text{羽丝含量} = \frac{D}{m_1} \times \frac{J}{m_2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(7)$$

$$\text{杂质含量} = \frac{D}{m_1} \times \frac{K}{m_2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(8)$$

$$\text{其他成分含量} = \frac{D}{m_1} \times \frac{L}{m_2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(9)$$

其中杂质含量应加入初步分拣所得的杂质含量,而成为总的杂质含量。其他成分应再分成水禽羽毛、水禽损伤毛、陆禽羽毛及其损伤毛,分别称量后计算各自的含量,然后将其分别与初步分拣所得的各种成分相加,得出各种成分总的含量。

6.2.4 如果样品为不需检测绒子含量的纯毛片,则只需进行初步分拣即可计算结果,但试样质量为30 g,且在拣样盘中分拣。如果该毛片有长度限制(如6 cm,7 cm,8 cm等),则超过该限制的毛片算作长毛片。

6.2.5 按6.2.1~6.2.3的步骤对第二个成分分析试样进行检验并计算结果。

两个试样的结果有误差时,如果绒子含量 $\geq 30\%$ 的试样的误差不超过2%、绒子含量 $< 30\%$ 的试样的误差不超过1.5%,则以两个结果的平均值为最终结果。误差大于上述范围时,应对第三个试样进行检验,以两个较接近的结果的平均值作为最终结果,保留两位小数。

6.3 鹅、鸭毛绒种类鉴定

6.3.1 将6.2.2烧杯H中的绒子置于检样盘内,混匀铺平,随机多点抽取0.1 g以上的试样。

6.3.2 将6.2.1烧杯A中的毛片混匀平摊在检样盘内,随机多点抽取1.0 g以上的试样。初步分拣所得毛片少于1.0 g,则全部将其作为试样进行检验。绒子含量大于等于90%的样品,可以不检毛片。

6.3.3 将两个250 mL烧杯分别标上A1、B1。用镊子取出绒子、毛片,分别整理,将绒子或毛片上粘着的绒丝等物去净,分别放在投影仪或显微镜下按6.3.4规定的方法观察鉴定,将确定的鸭毛(绒)、鹅毛(绒)分别置于烧杯A1、B1中,将“无法区分毛(绒)”归入B1中,分别称取烧杯内容物质量,精确到0.1 mg。

6.3.4 观察鉴定方法如下:

6.3.4.1 鸭毛(绒)

用投影仪或显微镜观察时,可见绒子和羽毛根部的羽枝远端有三角形的棱节,与鹅毛(绒)的棱节相比,较大。棱节间距离较小,约与棱节的大小相等(见图2)。

6.3.4.2 鹅毛(绒)

观察其显微结构,棱节较小,并从羽枝的中部开始出现。棱节间距离较大,数倍于棱节的大小(见图2)。

6.3.4.3 鸡毛

在投影仪或显微镜下观察,其羽枝上均匀分布一系列小结节或膨胀突起,使其外观呈竹节状。小结节或膨胀突起分布于几乎整根羽枝。鸡毛归入陆禽毛。

6.3.4.4 鸽子毛

在投影仪或显微镜下观察,其羽枝上均匀分布一系列棱节,棱节间距离较大,数倍于棱节的大小。棱节分布于几乎整根羽枝。鸽子毛归入陆禽毛。

6.3.4.5 无法区分毛(绒)

在投影仪或显微镜下观察,无明显棱节,无法区分其属于鹅毛(绒)、鸭毛(绒)或其他毛(绒)。

6.3.5 鹅毛(绒)中鸭毛(绒)含量的计算结果见式(10):

$$\text{鸭毛(绒)含量} = \frac{A_1}{A_1 + B_1} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(10)$$

式中:

A_1 ——鸭毛(绒)质量,单位为克(g);

B_1 ——鹅毛(绒)质量,单位为克(g)。

6.3.6 按6.3.1~6.3.5的步骤对第二个试样进行检验并计算结果,将两个试样的结果的平均值作为最终结果,保留两位小数。

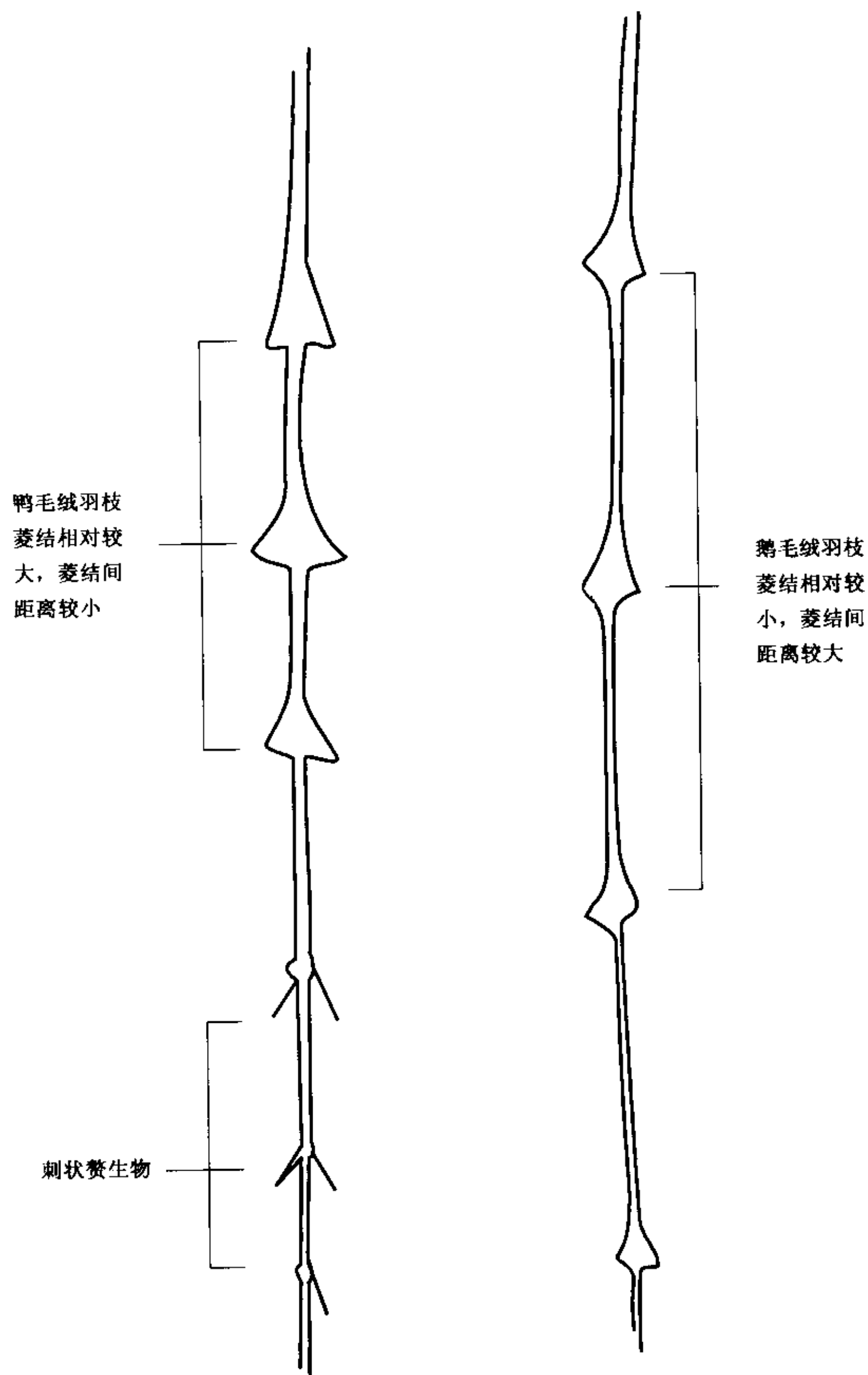


图 2 鹅、鸭毛绒显微结构示意图

6.4 蓬松度测定

6.4.1 样品处理

从实验室样品中抽取一个约 30 g 试样,放入八篮烘箱中在 $(70\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 温度下烘干 45 min,然后将样品用手逐把抖入前处理箱中,使其蓬松。在温度 $(20\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、空气相对湿度 $(65\pm 2)\%$ 的环境中恢复 24 h 以上。

6.4.2 测定

将经蓬松处理后的样品称取 28.4 g,抖入蓬松仪内,用玻璃棒搅拌均匀并铺平后,盖上金属压板,让压板轻轻压于样品上自然下落,下降停止后静止 1 min,记录筒壁两侧刻度数。同一试样重复测试三次,以三次结果的六个数值的平均值为最终结果,保留两位小数。

6.4.3 常数换算

本标准规定了蓬松度的单位(cm),它与立方英寸的换算常数为 28.77。例如:蓬松仪上的读数为

450 in³, 相当于高度为 15.64 cm。

6.5 耗氧量的测定

6.5.1 从实验室样品中取一个 10.0 g 的羽绒绒试样放入 2 000 mL 塑料广口瓶, 加入 1 000 mL 蒸馏水, 加盖密封后水平放入振荡器振荡 30 min。振荡方向为从瓶底至瓶口(见图 3)。



图 3 塑料广口瓶的振荡方向

6.5.2 将塑料广口瓶之内容物用孔径 0.1 mm 的标准筛过滤(勿压榨过滤物), 所得滤液收集于 2 000 mL 烧杯中。

6.5.3 在一个 250 mL 烧杯中加入 100 mL 蒸馏水作为空白对照样, 加入 3 mL 3 mol/L 硫酸, 将烧杯放于磁力搅拌器上, 打开搅拌器。用微量滴定管(器)逐滴滴入 0.1 mol/L 高锰酸钾溶液, 直至杯中液体呈粉红色, 并持续 1 min 不褪色(用秒表计时), 记录所消耗的高锰酸钾溶液的毫升数(A)。

6.5.4 用量筒量取 100 mL 滤液, 加入另一个 250 mL 烧杯中, 加入 3 mol/L 的硫酸 3 mL 后按 6.5.3 所述方法用 0.1 mol/L 高锰酸钾溶液滴定, 最后记录所消耗的高锰酸钾溶液的毫升数(B)。

6.5.5 按 6.5.1~6.5.3 的步骤对第二个试样进行测定。

6.5.6 结果计算见式(11):

$$\text{耗氧量} = (B - A) \times 80 \quad \dots\dots\dots (11)$$

式中:

A——滴定 100 mL 蒸馏水所消耗的高锰酸钾溶液的体积, 单位为毫升(mL);

B——滴定 100 mL 样液所消耗的高锰酸钾溶液的体积, 单位为毫升(mL)。

结果以“氧 mg/100 g 产品”表达, 取两次测定的平均值, 保留一位小数。

6.6 透明度的测定

6.6.1 样液制备: 同 6.5.1~6.5.2 的步骤。也可直接采用为耗氧量测定所制备的样液, 反之亦然。

6.6.2 将制备好的样液倒入透明度计的容器中, 慢慢升高容器位置, 使样液通过软管进入带刻度圆筒, 并使液面逐渐升高。从圆筒顶部向下观察底部的黑色双十字线, 直至其消失, 再略向下移动容器, 使双十字线重新出现, 并刚好能看清楚, 记录此时液面在圆筒上的刻度, 即为该样品的透明度。

6.6.3 按 6.6.1~6.6.2 规定的步骤对第二个样品进行测定。最终结果取两次测定的平均值的整数, 单位用毫米。

6.6.4 用 600 mm 的透明度计, 如果样品透明度高于 600 mm, 则用大于 600 mm 的透明度计。

6.6.5 应避免在直射阳光下测定。光源强度应为 600 lx 以上。

6.7 残脂率测定(索氏抽提法)

6.7.1 按表 3 要求, 准确称取羽绒绒试样两个, 分别放于 250 mL 烧杯中, 在(105±2)℃干燥箱中烘干 2 h。

6.7.2 将干燥的试样分别放入两个滤纸筒, 然后分别放入两个预先洗净烘干的抽提器中。在另一个抽提器中放入一个空滤纸筒作为空白对照。

6.7.3 把抽提器按顺序安装好, 接好冷凝水。

6.7.4 在每个预先洗净烘干并称量过的球形瓶中各加入 120 mL 的无水乙醚, 将其放入水温控制在 50℃ 的水浴锅中, 接上抽提器, 掌握乙醚每小时回流 5~6 次, 总共回流 20 次以上。

6.7.5 取下球形瓶, 用旋转蒸发器回收乙醚。然后将留有抽提脂类的三个球瓶放入 105℃ 烘箱中烘至恒重, 取出置于干燥器内, 冷却 30 min, 分别称取质量。

6.7.6 结果计算见式(12):

残脂率 = $\frac{A-B}{C} \times 100\%$ (12)

式中：
A——已恒重的带残脂的球瓶质量减去原空瓶质量，单位为克(g)；
B——抽提后对照球瓶质量减去原空瓶质量，单位为克(g)；
C——羽毛绒试样质量，单位为克(g)。
将两个试样的残脂率结果平均，作为样品的残脂率结果，保留两位小数。

6.8 气味测定(定温干式嗅辨法)

- 6.8.1 将取来的样品混匀，缩分为两份，松散放入无气味密封容器内一天待用。
- 6.8.2 将 1 000 mL 带盖广口瓶用蒸馏水清洗干净，烘干冷却待用。
- 6.8.3 从两份松散放一天的羽毛绒样品中各称取 10 g，分别放入两个已处理过的广口瓶内，盖上瓶盖。
- 6.8.4 将试样瓶放入恒温箱内，用 50℃ 温度烘 1 h，取出冷却至室温。
- 6.8.5 在无异味环境中开启瓶盖，嗅辨气味，用文字叙述气味等级强度。
- 6.8.6 气味等级强度分为四级，见表 4。

表 4

强度等级	程 度	描 述
0	无气味	无任何异味
1	极微弱	不易觉察
2	弱	稍能觉察
3	明显	极易觉察

- 6.8.7 将两个试样的气味强度等级平均作为该样品的气味等级。
- 6.9 水分含量测定
- 6.9.1 按表 3 规定的数量将水分检测样品从密封容器中取出，迅速均匀地分别放于八篮烘箱的两个吊篮内，移入烘箱，用烘箱所附天平逐一称取试样质量，精确至 0.01 g 并记录。
 - 6.9.2 调节烘箱温度控制在(105±2)℃，每隔 30 min 称量一次试样质量，如此反复称量，直至相邻两次质量相差不大于试样总量的 0.1% 时，即为恒重。
 - 6.9.3 结果计算见式(13)：

水分含量 = $\frac{A-B}{A} \times 100\%$ (13)

式中：
A——原试样质量，单位为克(g)；
B——烘干后的试样质量，单位为克(g)。
计算出两个试样测定结果的平均值作为最终结果，保留两位小数。

7 微生物检验

微生物的检验方法见附录 A。

附 录 A
(规范性附录)
微生物检验方法

A.1 抽样

A.1.1 抽样数量及抽样方法按第5章操作。

A.1.2 试样制备:从混合样品中取出代表性样品,不小于25 g作为试样,装入无菌塑料袋或类似容器内,加封后标明标记。

A.1.3 抽样要求:抽样时应戴无菌手套,并将样品放在无菌容器内,避免采样时的污染。试样室温保存,运输时不得外露。试样在24 h内检验。

A.2 设备和材料

A.2.1 天平:感量为0.000 1 g。

A.2.2 振荡器:往复式。

A.2.3 干热灭菌箱:(50 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ ~(200 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 。

A.2.4 高压蒸汽灭菌锅:(121 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 。

A.2.5 冰箱:普通冰箱。

A.2.6 可调恒温箱:(30 ± 1) $^{\circ}\text{C}$;(37 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 。

A.2.7 平皿,直径为90 mm。

A.2.8 吸管,容量为1 mL、10 mL。

A.2.9 三角烧瓶:容量为250 mL、500 mL。

A.2.10 玻璃珠:直径为3 mm。

A.2.11 试管:18 mm $\times$ 180 mm。

A.2.12 水浴锅:(46 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 、(43 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 。

A.2.13 显微镜:1 500 $\times$ 。

A.2.14 硝酸纤维素膜:孔径0.45 μm 。

A.2.15 赛氏滤器:1 000 mL或类似规格的滤器。

A.2.16 带塞广口玻璃瓶或塑料瓶:2 000 mL。

A.2.17 无菌塑料袋:宽30 cm,长50 cm。

A.2.18 无菌医用纱布。

A.2.19 厌氧培养罐及其附件。

A.2.20 L型涂布棒。

A.2.21 酸度计或pH试纸。

A.3 培养基和试剂

A.3.1 0.1%灭菌的蛋白胨生理盐水

成分:蛋白胨1 g、氯化钠8.5 g、蒸馏水1 000 mL。

制备:将这些成分溶解在1 000 mL蒸馏水中,调pH7.0,然后在高压锅内经(121 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 消毒15 min。

A.3.2 标准平板计数琼脂

成分:酵母浸膏2.5 g、胰胨5 g、葡萄糖1 g、琼脂15 g。

制备:将上述成分加入 1 000 mL 蒸馏水中,加温至完全溶解,分装玻璃瓶,然后在 $(121\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 消毒 15 min。

A.3.3 Slanetz 和 Bartley 氏培养基

成分:胰蛋白胨 20 g、酵母浸膏 5 g、葡萄糖 2 g、磷酸氢二钠 $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4 g、叠氮钠 0.4 g、氯化四氮唑 0.1 g、琼脂 10 g。

制备:将上述成分加入 1 000 mL 蒸馏水,加热至完全溶解后(应避免长时间加热)调 pH 7.2,倒入皮氏培养皿使其凝固。

A.3.4 Mueller-Kauffmann 氏四硫磺酸钠肉汤

成分:胰蛋白胨 7 g、大豆胨 2.3 g、氯化钠 2.3 g、碳酸钙 25 g、硫代硫酸钠 40.7 g、牛胆汁 4.75 g。

制备:将上述成分加入 1 000 mL 蒸馏水,加热溶解,用前冷却至 45°C 以下,加入 19 mL 碘溶液和 9.5 mL 1% 的亮绿溶液,充分混匀后倒入消毒的试管或锥形瓶中。

A.3.5 碘溶液

成分:碘 20 g、碘化钾 25 g、蒸馏水 100 mL。

制备:先将碘化钾溶解在 5 mL 蒸馏水中,然后加入碘,充分搅拌至碘完全溶解,定容至 100 mL。

A.3.6 亮绿溶液

成分:亮绿(CL42040-亮绿)0.1 g、蒸馏水 100 mL。

制备:将亮绿加入蒸馏水中,加温并不断搅拌至完全溶解,将其放入棕色瓶中避光保存。

A.3.7 亮绿琼脂培养基

成分:胰蛋白胨 10 g、酵母浸膏 3 g、氯化钠 5 g、乳糖 10 g、蔗糖 10 g、酚红 0.08 g、亮绿(CL42040-亮绿 1)0.012 5 g、琼脂 12 g。

制备:将上述成分加入 1 000 mL 蒸馏水中,加热至完全溶解,调 pH 6.9,然后在 $(121\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 高压锅中消毒 15 min。

A.3.8 亚硫酸铁多黏菌素 B 培养基

成分:胰蛋白胨 15 g、酵母浸膏 10 g、柠檬酸铁铵 0.5 g、亚硫酸钠 1 g、琼脂 16 g。

制备:将上述成分加入 1 000 mL 蒸馏水中,溶解后 4°C 保存。使用时取 100 mL 溶解的培养基,冷却至 50°C 后,加入 0.2 mL 的 0.001% 多黏菌素 B 硫酸盐溶液和 0.5 mL 的 0.01% 硫酸新霉素溶液,再用赛氏滤器过滤除菌。

A.3.9 三糖铁琼脂

成分:蛋白胨 20 g、牛肉膏 5 g、乳糖 10 g、蔗糖 10 g、葡萄糖 1 g、氯化钠 5 g、硫酸亚铁铵 0.2 g、琼脂 12 g、酚红 0.025 g。

制备:将除琼脂和酚红以外的各成分溶解于 1 000 mL 蒸馏水中,校正 pH。加入琼脂并加热溶化,加入 0.2% 酚红水溶液 12.5 mL,摇匀。在 $(121\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 高压消毒 15 min。

A.3.10 尿素琼脂

成分:蛋白胨 1 g、氯化钠 5 g、葡萄糖 1 g、磷酸二氢钾 2 g、0.4% 酚红溶液 3 mL、琼脂 20 g、20% 尿素溶液 100 mL。

制备:将除尿素和琼脂以外的成分加入 1 000 mL 蒸馏水中,校正 pH 值,加入琼脂并加热溶化,在 $(121\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 高压消毒 15 min。冷至 $(50\sim 55)^{\circ}\text{C}$,加入经过滤除菌的尿素溶液,使其终浓度为 2%,最终 pH 为 7.2 ± 0.1 。

A.3.11 氨基酸脱羧酶试验培养基

成分:蛋白胨 5 g、酵母浸膏 3 g、葡萄糖 1 g、1.6% 溴甲酚紫-乙醇溶液 1 mL、L-氨基酸或 DL-氨基酸 0.5 g/100 mL 或 1 g/100 mL。

制备:将氨基酸以外的成分加入 1 000 mL 蒸馏水,加热溶解后,分装每瓶 100 mL,分别加入各种氨基酸(赖氨酸、精氨酸和鸟氨酸)。L-氨基酸按 0.5% 加入,DL-氨基酸按 1% 加入。再校正 pH 至 6.8。

对照培养基不加氨基酸。分装灭菌小试管内，每管 0.5 mL，上面滴加一层液体石蜡，115℃ 高压消毒 10 min。

建议使用商品化复合性培养基和试剂。

A.4 检验项目

- a) 嗜温性需氧菌含量；
- b) 粪便链球菌含量；
- c) 还原亚硫酸盐梭状芽孢杆菌含量；
- d) 沙门氏菌。

A.5 检验程序

检验程序见图 A.1 所示。

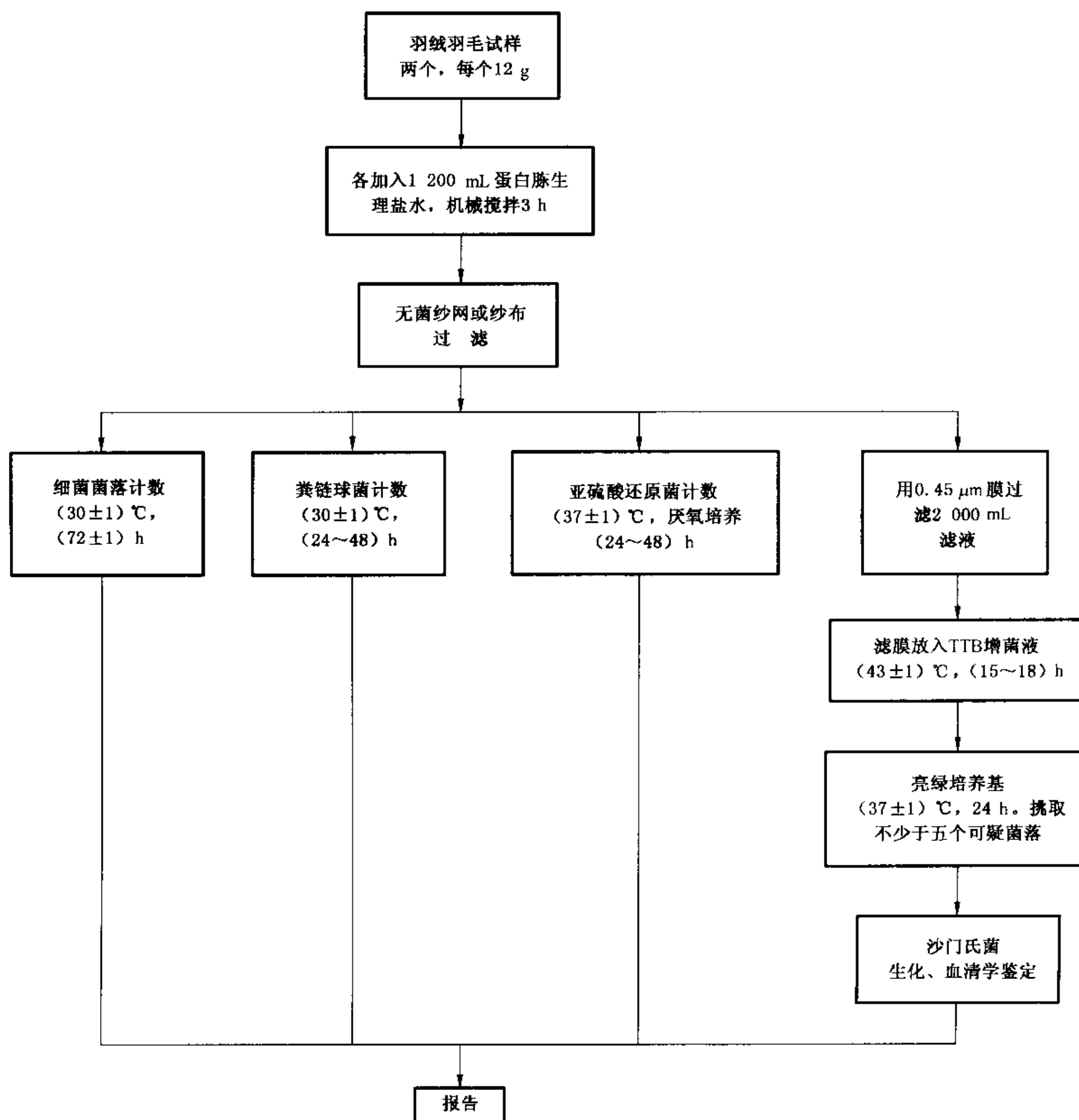


图 A.1 羽绒羽毛微生物检验程序图

A.6 操作步骤

A.6.1 试样前处理

用一次性手套从实验室样品中无菌取出两个各 12 g 的试样,并分别称量,精确到 0.1 g;将每个试样分别放入装有玻璃珠的烧杯中,应避免试样损失,每个烧杯各加入 1 200 mL 0.1% 的蛋白胨生理盐水,室温机械搅动 3 h;通过消毒纱布过滤溶液,然后将两个原始滤液在无菌条件下混合,即为原始滤液。取 200 mL 澄清的原始滤液,用作细菌菌落计数、粪便链球菌和亚硫酸还原梭状芽孢杆菌检验。另取 2 000 mL 澄清原始滤液,用赛氏滤器或类似规格的滤器,经孔径 0.45 μm 无菌过滤膜再过滤后,将膜取下放入沙门氏菌增菌液中,作沙门氏菌检验。

A.6.2 嗜温性需氧菌计数

A.6.2.1 用 1 mL 无菌吸管吸取上述原始滤液,沿管壁慢慢注入含有 9 mL 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;另取一支 1 mL 无菌吸管,按上述操作顺序,做 10 倍递增稀释,如此每递增稀释一次,即更换一支吸管,稀释到 9 个梯度以上。

A.6.2.2 在做 10 倍递增稀释的同时,即以吸取该稀释度的吸管移 1 mL 稀释液于灭菌平皿内,每个稀释度做两个平皿。

A.6.2.3 稀释液移入平皿后,应及时将凉至 $(46 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的菌落计数用培养基[可放置 $(46 \pm 1)^\circ\text{C}$ 水浴锅内保温]注入平皿约 15 mL,小心转动平皿使试样与培养基充分混匀。

A.6.2.4 待琼脂凝固后,倒置平皿于 $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ 恒温箱内培养 (72 ± 3) 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。

A.6.2.5 菌落计数方法:做平板菌落计数时,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数后,求出同一稀释度两个平板菌落的平均数。

A.6.2.6 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蔓延菌落生长时,则不宜采用,而应以无蔓延菌落生长的平板作为该稀释度的菌落数,如蔓延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,平皿内如有链状菌落生长时(菌落间无明显界限),若仅有一条链,可视为一个菌落,如果有不同来源的几条链,则应将每条链作为一个菌落计。

A.6.2.6.1 稀释度的选择: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。

如有两个稀释度,其生长的菌落数均在 30~300 之间,视二者之比如何来决定,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。

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。

如所有稀释度的平均菌落数均小于 30,则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数报告之。

如所有稀释度均无菌落生长,则以小于 1 乘以最低稀释倍数报告之。

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。

A.6.2.6.2 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,以数字修约的规则计算。为了缩短数字后面的零数,也可用 10 的指数来表示。结果表示:cfu/g。

A.6.3 粪链球菌计数

A.6.3.1 取上述原始滤液 1 mL,涂布两个预先制备好的无菌 Slanetz/Bartely 培养基表面,倒置培养平皿,于 $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ 培养 24 h~48 h。

A.6.3.2 计数黑色和暗棕色小菌落,且镜检为革兰氏染色阳性球菌;抗血清鉴定属于 D 群。

A.6.3.3 当菌落数较少时,用 0.45 μm 膜过滤 100 mL 检样,并将膜放在 Slanetz/Bartely 培养基上,平皿置 $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$ 培养 24 h~48 h,计数暗棕色小菌落。

A.6.3.4 结果计算:两个平皿菌落的总数乘以试样稀释倍数。

A.6.3.5 结果表示:cfu/g。

A.6.4 亚硫酸还原梭状芽孢杆菌的计数

A.6.4.1 取上述原始滤液 5 mL,置于 75℃水浴处理 10 min。

A.6.4.2 取处理后的原始滤液 1 mL 做 10 倍递增稀释,在做 10 倍递增稀释的同时,即以吸取该稀释度的吸管移 1 mL 稀释液于灭菌平皿内,每个稀释度作两个平皿。

A.6.4.3 及时将凉至 $(46\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 的亚硫酸铁-多粘菌素 B 琼脂培养基[可放置 $(46\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 水浴锅内保温]注入平皿约 15 mL,小心转动平皿使试样与培养基充分混匀。待凝固后,再用 5 mL 相同培养基覆盖表层。

A.6.4.4 倒置培养皿,用厌氧罐或类似方法在 37℃厌氧培养 48 h。

A.6.4.5 计数黑色和暗棕色菌落,且镜检观察芽孢体。

A.6.4.6 证实试验:镜检为革兰氏阳性梭状芽孢杆菌,过氧化氢酶试验阴性。

过氧化氢酶试验方法如下:取干净载玻片,在上面滴一滴新鲜配制的 3%过氧化氢溶液,挑取一环培养的试验菌,在过氧化氢溶液中混匀,若有气泡产生则为过氧化氢酶试验阳性,无气泡产生者为阴性。

A.6.4.7 结果计算:平皿菌落数乘以试样稀释倍数。

A.6.4.8 结果表示:cfu/g。

A.6.5 沙门氏菌检测

A.6.5.1 选择性增菌培养:按 6.1 试样处理的滤器过滤膜,取下接种于 100 mL TTB 肉汤中, $(43\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 水浴培养 15 h~18 h。

A.6.5.2 接种一环增菌肉汤培养物于亮绿琼脂培养基上,置 37℃培养 24 h,以无色、半透明、红色环圈的菌落为可疑,用生化或血清学试验进一步验证。

A.6.5.3 鉴定培养:从分离平皿培养基上,挑取五个被认为可疑菌落,如一个平皿上典型或可疑菌落少于 5 h,可将全部典型或可疑菌落供进行鉴定。

A.6.5.4 生化鉴定:将从 6.5.3 培养基上挑选的可疑菌落,接种在 A.6.5.4.1~A.6.5.4.3 培养基上,进行生化反应观察;或者应用微生物鉴定仪器进行沙门氏菌生化鉴定。

A.6.5.4.1 三糖铁培养基:在琼脂斜面上划线和穿刺,在 $(36\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h。培养基变化见表 A.1。

表 A.1 三糖铁培养基变化表

培养基部位	培养基变化	
琼脂斜面	黄色	乳糖和蔗糖阳性
	红色或不变色	乳糖和蔗糖阴性
琼脂深层	底端黄色	葡萄糖阳性
	红色或不变色	葡萄糖阴性
	穿刺黑色	形成硫化氢
	气泡或裂缝	葡萄糖产气

典型沙门氏菌培养基,斜面显红色,底端显黄色,有气体产生,有 90%形成硫化氢,琼脂变黑。

当分离到乳糖阳性沙门氏菌时,三糖铁斜面是黄色的,因而证实沙门氏菌,不应仅仅限于三糖铁培养的结果。

A.6.5.4.2 尿素琼脂培养基:在琼脂表面划线,在 $(36\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,应不时检查,如反应是阳性,尿素极快的释放氨,它使酚红的颜色变成玫瑰红色—桃红色,以后再变成深粉红色,反应常在 2 h~24 h 之间出现。通常,沙门氏菌反应为阴性。

A.6.5.4.3 赖氨酸脱羧反应培养基:将培养物刚好接种在液体表面之下,在 $(36\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h,观察结果,若培养基呈紫色,表明是阳性反应。约 95%的沙门氏菌反应为阳性。

GB/T 10288—2003

A.6.5.5 血清学鉴定：将纯培养菌落用沙门氏菌多价 O 血清鉴定，同时用生理盐水做对照，用平板凝集法检查其抗原的存在。如与沙门氏菌 O 血清发生凝集，则为阳性。

A.6.5.6 生化和血清反应结果判定：凡多价 O 血清反应阳性，生化试验又符合者可确定为沙门氏菌，二者均不符合者否定为沙门氏菌。

A.6.5.7 检验报告：综合以上生化试验、血清鉴定结果，报告检验样品是否含有沙门氏菌。结果表示：检出(不检出)/20 g。

A.7 试验报告

出具的试验报告应至少包括下列内容：

- 检验依据为该标准；
 - 试验日期和地点；
 - 试验样品的鉴别性标记；
 - 上述四种细菌的检验结果；
 - 应说明任何偏离标准步骤的操作和其他情况均可能影响试验的结果。
-