МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ВИТАМИН B_{12} КОРМОВОЙ

Технические условия

Vitamin B_{12}, feed grade.
Specifications

ГОСТ 18663—78

Взамен ГОСТ 18663—73

ОКП 92 9131

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 21 ноября 1978 г. № 3062 дата введения установлена

01.01.80

Ограничение срока действия снято по протоколу № 4—93 Межгосударственного Совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 4—94)

Настоящий стандарт распространяется на кормовой витамин B_{12}, получаемый сбраживанием барды ацетоно-бутилового производства метанобразующими бактериями с последующим концентрированием путем выпаривания и сушки.

Кормовой витамин B_{12} предназначен для витаминизации кормов, используемых в животноводстве и птицеводстве.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Кормовой витамин B_{12} должен изготовляться в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологическому регламенту с соблюдением санитарных норм и правил, утвержденных в установленном порядке.

1.2. Для производства кормового витамина B_{12} должны применяться следующие сырье и вспомогательные материалы:

барда ацетоно-бутилового производства с массовой долей сухих веществ 1,4—2,5 % и с pH, равным 4,0—6,0;

кобальт хлористый по ГОСТ 4525—77 или

кобальт азотнокислый по ГОСТ 4528—78;

метанол-яд синтетический по ГОСТ 2222—95;

карбамид по ГОСТ 2081—92 или

мочевина по ГОСТ 6691—77;

дрожжи кормовые по ГОСТ 20083—74;

кислота соляная синтетическая техническая по ГОСТ 857—95 или

кислота соляная техническая или

кислота ортофосфорная термическая по ГОСТ 10678—76;

кислота олеиновая по НТД или

жир кашалотовый по ГОСТ 8714—72 или

соапсток из саломаса и животных жиров, из светлых масел и жиров, кроме соапстока из масел арахисового, хлопкового, рапсового и маргаринового;

жир животный технический по ГОСТ 1045—73 или

жир животный кормовой по ГОСТ 17483—72 или

жиры морских млекопитающих и рыб технические по ГОСТ 1304—76 или

пропинол Б-400 технический;

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**

Издание с Изменением № 1, утвержденным в июле 1984 г. (ИУС 11—84).

gost.e-ecolog.ru

меласса;
диаммонийфосфат кормовой по ГОСТ 19651—74;
сульфит натрия кристаллический по НТД или
гидросульфит натрия технический по ГОСТ 246—76 или
пиросульфит натрия технический по ГОСТ 11683—76 или
сульфит натрия безводный по ГОСТ 5644—75.

1.3. В зависимости от содержания витамина B_{12} препарат кормового витамина B_{12} подразделяют на марки А и Б.

1.4. По органолептическим, физико-химическим и биологическим показателям кормовой витамин B_{12} должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в таблице.

Наименование показателя	Норма для марки	
	А	Б
Внешний вид и свойства	Однородный сыпучий порошок коричневого цвета	
Запах	Свойственный для данного продукта	
Массовая доля влаги, %, не более	8,0	
Массовая концентрация витамина B_{12}, мг/кг	100,0—500,0	Не менее 500,0
Крупность:		
остаток на сите из шелковой ткани № 27, %, не более	10,0	
Безвредность в тест-дозе:		
на одного цыпленка, мг	800,0—1200,0	
на одну мышь, мг	100,0	
Число микробных клеток, тыс/г, не более	300,0	

1.2—1.4. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

2. ПРАВИЛА ПРИЕМКИ

2.1. Кормовой витамин B_{12} принимают партиями. Партией считают любое количество однородного по органолептическим, физико-химическим и биологическим показателям кормового витамина B_{12}, фасованное и упакованное в однородную тару и оформленное одним документом о качестве.

2.2. В документе о качестве должны быть указаны:
наименование предприятия-изготовителя и его товарный знак;
наименование препарата;
номер партии;
масса нетто партии;
дата изготовления препарата;
номер документа о качестве;
дата выдачи документа о качестве;
количество мест в партии;
результаты анализа;
штамп ОТК;
обозначение настоящего стандарта.

2.3. Для проверки качества кормового витамина B_{12} от каждой партии до 100 единиц продукции делают выборку в количестве 10 %, но не менее четырех упаковочных единиц. Если в партии более 100 единиц продукции, отбирают 5 % упаковочных единиц. Выборку составляют из единиц продукции, отобранных из разных мест партии.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

2.4. При неудовлетворительных результатах испытаний хотя бы по одному из показателей по нему проводят повторные испытания на удвоенном количестве выборки, взятой от той же партии кормового витамина B_{12}. Результаты повторных испытаний распространяются на всю партию.

2.5. Изготовитель определяет число микробных клеток и безвредность в каждой десятой партии препарата.

(Введен дополнительно, Изм. № 1).

3. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

3.1. Методы отбора проб

3.1.1. Отбор проб — по ГОСТ 13496.0—80. Масса объединенной пробы должна быть не менее 300 г.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.1.2, 3.1.3. **(Исключены, Изм. № 1).**

3.2. Внешний вид и цвет кормового витамина B_{12} определяют визуально в каждой единице продукции в момент отбора точечной пробы.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.3. Определение запаха

3.3.1. Навеску массой 20 г высыпают на чистую бумагу и органолептически определяют запах. Для усиления ощущения запаха навеску помещают в фарфоровую чашку, которую накрывают стеклом, ставят на предварительно нагретую до кипения водяную баню (или сосуд с водой) и прогревают в течение 5 мин.

3.4. Определение массовой доли влаги кормового витамина B_{12} — по ГОСТ 13496.3—80.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.4.1—3.4.3. **(Исключены, Изм. № 1).**

3.5. Определение содержания витамина B_{12} микробиологическим методом с использованием в качестве тест-микроба E. coli штамм 113—3

Метод основан на способности культуры E. coli штамм 113—3 расти только в присутствии витамина B_{12}.

3.5.1. *Аппаратура, реактивы и материалы*

Для проведения испытания применяют:

весы технические I, II классов типов Т-1, Т-2;

весы аналитические с разновесами марки АДВ-200 или других аналогичных марок;

холодильник стеклянный лабораторный по ГОСТ 25336—82;

плитку электрическую по ГОСТ 14919—83;

термостат;

автоклав;

pH-метр или бумагу индикаторную универсальную pH 1—10;

фотоэлектроколориметр или нефелометр;

баню водяную;

колбы мерные по ГОСТ 1770—74 вместимостью 50, 100 и 1000 $см^3$, 500 и 250 $см^3$;

колбы стеклянные лабораторные по ГОСТ 25336—82 вместимостью 100 $см^3$;

пробирки биологические длиной не менее 180 мм по ГОСТ 25336—82;

пипетки вместимостью 2—5 и 10 $см^3$;

петлю микробиологическую;

воронку Бюхнера по ГОСТ 9147—80;

воронку стеклянную по ГОСТ 25336—82;

калий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 2493—75;

железо сернокислое закисное по ГОСТ 4148—78;

магний сернокислый по ГОСТ 4523—77;

глицерин по ГОСТ 6259—75;

агар микробиологический по ГОСТ 17206—96 или агар пищевой по ГОСТ 16280—88;

воду бидистиллированную по ГОСТ 6709—72;

l-аспарагин;

цианокобаламин (витамин B_{12}) по Государственной фармакопее, изд. X, ст. 192 или раствор цианокобаламина для инъекций по Государственной фармакопее, изд. X, ст. 193;

кислоту соляную по ГОСТ 3118—77, 1 н., 20 %-ный раствор;

натрия гидрат окиси (натр едкий) по ГОСТ 4328—77, 0,2; 0,5 и 1,5 н. растворы;

казеин технический по ГОСТ 17626—81 или гидролизат казеина;

уголь активированный марки «Бау» по ГОСТ 6217—74;
толуол по ГОСТ 5789—78;
калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198—75;
натрий лимоннокислый трехзамещенный по ГОСТ 22280—76;
аммоний сернокислый по ГОСТ 3769—78;
глюкозу по ГОСТ 6038—79;
натрий хлористый по ГОСТ 4233—77;
натрий азотнокислый по ГОСТ 4197—74 или калий цианистый технический по ГОСТ 8465—79;
dl-метионин;
бумагу фильтровальную лабораторную по ГОСТ 12026—76;
спектрофотометр СФ-26 или других аналогичных марок.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.5.2. *Подготовка к испытанию*

3.5.2.1. **Приготовление 10 %-ного казеинового кислотного гидролизата**

100 г размолотого казеина, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, помещают в колбу вместимостью 1000 см^3, добавляют 500 см^3 20 %-ной соляной кислоты и перемешивают. К колбе присоединяют обратный холодильник и нагревают в течение 24 ч. Первые 5—8 ч нагревание проводят на водяной бане при температуре 100 °С, а затем на плитке с асбестовой сеткой.

Из полученного гидролизата под вакуумом отгоняют соляную кислоту до получения густого сиропа. Затем добавляют 300 см^3 дистиллированной воды и снова отгоняют до получения густого сиропа. Указанную операцию повторяют еще раз.

Оставшуюся массу растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды, доводят pH до 3,5 5 н. раствором едкого натра, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 и доливают до метки дистиллированной водой.

Добавляют 20 см^3 активированного угля и периодически встряхивают в течение 1 ч, затем полученную смесь фильтруют на воронке Бюхнера. Фильтрат еще раз обрабатывают углем до получения бесцветного или слабо-желтого раствора, который разливают в колбы вместимостью до 100 см^3 и стерилизуют в автоклаве при 1 кгс/см^2 в течение 20 мин и затем охлаждают. Раствор хранят в холодильнике под слоем толуола.

3.5.2.2. **Выращивание чистой культуры E. coil штамм 113—3**

Культуру выращивают в пробирках на агаровых косяках и хранят в холодильнике при температуре 3—5 °С.

Состав агаровой среды в расчете на 100 см^3:
казеиновый кислотный 10 %-ный гидролизат — 6 см^3;
калий фосфорнокислый двузамещенный — 20 мг;
железо сернокислое — 0,5 мг;
магний сернокислый — 20 мг;
l-аспарагин — 20 мг;
глицерин — 200 мг;
агар — 1,5 г;
витамин B_{12} — 10 мкг;
вода дистиллированная — до 100 см^3.

В колбу вместимостью 100 см^3 наливают дистиллированную воду и последовательно растворяют в ней первые четыре компонента.

l-аспарагин отдельно растворяют в дистиллированной воде с прибавлением нескольких капель 1 н. соляной кислоты, а затем приливают к раствору в колбе. 1 н.раствором едкого натра доводят pH раствора до 7,0. Избыток щелочи нейтрализуют 1 н. раствором соляной кислоты.

К раствору добавляют глицерин, агар и доливают дистиллированной водой до метки. Затем колбу с содержимым подогревают на водяной бане до растворения агара, вносят витамин B_{12} и смесь тщательно перемешивают. Смесь разливают по 5 см^3 в пробирки и стерилизуют 15 мин под давлением 1 кгс/см^2.

Культуру раз в месяц пересевают на свежую агаровую среду и выдерживают в термостате в течение 24 ч при температуре 37 °С.

3.5.2.3. **Приготовление основной среды**

Состав среды в расчете на 1000 см^3:
калий фосфорнокислый двузамещенный — 7 г;
калий фосфорнокислый однозамещенный — 3 г;

натрий лимоннокислый — 0,5 г;
магний сернокислый — 0,1 г;
аммоний сернокислый — 1 г;
глюкоза — 2 г;
натрий хлористый — 0,5 г;
натрий азотистокислый — 0,5 г или калий цианистый — 0,02 %-ный раствор — 5 см³;
вода дистиллированная — до 1000 см³.

В колбу вместимостью 1000 см³ наливают дистиллированную воду и последовательно растворяют в ней все компоненты. Затем доводят содержимое колбы дистиллированной водой до метки. Конечное значение pH среды устанавливают 6,8—7,0.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.5.2.4. **Приготовление посевной культуры**

Посевную культуру готовят за сутки до постановки опыта. Для этого пробирки с 10 см³ основной среды и витамином B_{12} (из расчета 0,025 мкг в 1 см³ среды) или *dl*-метионином (из расчета 1 мкг в 1 см³ среды) стерилизуют в автоклаве при 1 кгс/см² в течение 20 мин и после охлаждения петлей вносят культуру с агаровой среды.

Пробирки выдерживают в термостате 16—20 ч при температуре 37 °С. Полученную бактериальную суспензию разводят стерильным 0,9 %-ным раствором хлористого натрия или стерильной основной средой, разбавленной вдвое стерильной дистиллированной водой в соотношении одна капля суспензии на 10 см³ раствора или среды.

3.5.2.5. **Приготовление разведений стандартного раствора витамина B_{12}**

Перед приготовлением стандартного раствора витамина B_{12} определяют его содержание в кристаллическом цианкобаламине или в его растворе на спектрофотометре.

Для этого около 0,1 г кристаллического цианкобаламина, взвешенного с погрешностью не более 0,0001 г, растворяют в бидистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 500 см³ и доводят объем раствора до метки.

25 см³ полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 250 см³ и доводят объем раствора бидистиллированной водой до метки. Оптическую плотность определяют на спектрофотометре при длине волны 361 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Массовую долю цианкобаламина (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{D \cdot 500 \cdot 10}{207 \cdot m},$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора;

207 — удельный показатель поглощения $E^{1\,\%}_{1\,см}$ чистого безводного цианкобаламина при длине волны 361 нм;

m — масса навески, г.

Раствор цианкобаламина из ампулы разводят бидистиллированной водой до содержания около 0,02 мг цианкобаламина в 1 см³, измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 361 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве контрольного раствора применяют бидистиллированную воду. Содержание цианкобаламина (X_1) в мг в см³ вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{D \cdot 10 \cdot V_1}{207 \cdot V},$$

где V_1 — конечный объем раствора, см³;

V — объем раствора цианкобаламина, взятый для разведения, см³.

Стандартный раствор готовят из расчета 10 мкг витамина B_{12} на 1 см³ бидистиллированной воды.

Раствор хранят в холодильнике в темной стеклянной посуде с притертой пробкой под слоем толуола в течение месяца. По истечении срока хранения раствор подлежит проверке на спектрофотометре по методике для раствора цианкобаламина.

В день опыта раствор разводят в $2 \cdot 10^5$ раз (последовательно в 100, 100, а затем в 20 раз). Затем из этого разведения готовят четыре рабочих разведения и одно контрольное. Каждое из них готовят в трех повторностях, для чего в 15 пробирок (по три для каждого разведения и контроля) пипеткой вносят по 5 см³ основной среды и следующие количества раствора витамина B_{12}: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5;

2,0 см³. Затем объем содержимого каждой пробирки доводят до 10 см³ добавлением дистиллированной воды.

3.5.2.6. **Подготовка исследуемой пробы кормового витамина B_{12} для анализа**

Навеску препарата массой 1 г, взвешенную с погрешностью не более 0,0001 г, измельчают и суспензируют в 50 см³ дистиллированной воды. Для стабилизации добавляют 0,05—0,10 г азотистокислого натрия или 1—2 см³ 0,02 %-ного раствора цианистого калия и несколькими каплями 1 н. соляной кислоты доводят pH суспензии до 5,0—5,5. Избыток кислоты нейтрализуют 0,5 н. раствором едкого натра.

Затем суспензию кипятят в течение 20 мин на водяной бане или помещают в автоклав на 15 мин при давлении 0,5—1,0 кгс/см², после чего охлаждают.

Охлажденную суспензию переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят pH до 6,8—7,0 добавлением 0,5 н. раствора едкого натра и 1 н. раствора соляной кислоты и доливают колбу дистиллированной водой до метки.

Смесь фильтруют через бумажный фильтр и часть профильтрованного экстракта разбавляют водой до такой концентрации, чтобы в 1 см³ содержалось приблизительно 0,02—0,05 мг витамина B_{12}.

3.5.2.5, 3.5.2.6. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

3.5.2.7. **Приготовление контрольной пробы**

В исследуемой пробе может содержаться метионин, к которому чувствителен штамм E. coli 113—3, поэтому проводят контрольный анализ исследуемого экстракта, где витамин B_{12} предварительно разрушают. Для этого 5 см³ экстракта смешивают с 5 см³ 0,2 н. едкого натра и кипятят в течение 20 мин на водяной бане с обратным холодильником. После охлаждения раствор нейтрализуют добавлением 1 н. соляной кислоты и разбавляют водой до такой же степени, как и в опыте с неразрушенным витамином B_{12}.

3.5.2.8. **Приготовление разведений исследуемого раствора кормового витамина B_{12}**

Из исследуемой пробы готовят три разведения (в двух повторностях каждое), для чего в 6 пробирок (по две для каждого разведения) вносят по 5 см³ основной среды и следующие количества экстракта: 0,5; 1,0; 2,0 см³. Кроме того, готовят три разведения контрольного раствора. Для этого в три пробирки вносят по 5 см³ основной среды и следующие количества контрольного раствора: 3; 4; 5 см³. Затем объем содержимого каждой пробирки доводят до 10 см³ добавлением дистиллированной воды.

3.5.3. *Проведение испытания*

Испытание состоит из составления калибровочной линии для чистого витамина B_{12} и непосредственного испытания исследуемой пробы.

Пробирки с разведением стандартного и исследуемого растворов помещают в автоклав на 20 мин при давлении 1 кгс/см², после чего охлаждают. Затем засевают каждую пробирку одной каплей бактериальной суспензии (приготовленной по п. 3.5.2.4) и ставят в термостат на 20—24 ч при температуре 37 °С.

По истечении указанного времени пробирки прогревают в автоклаве текучим паром 15 мин и охлаждают. После охлаждения содержимое пробирок взбалтывают и измеряют мутность на фотоэлектроколориметре или нефелометре. При использовании фотоэлектроколориметра замеры делают при синем светофильтре. Контрольным раствором для определения мутности является дистиллированная вода.

По полученным данным на миллиметровой бумаге строят калибровочный график. На оси ординат откладывают значение мутности для каждого стандартного разведения (среднее из трех пробирок), а на оси абсцисс соответствующее количество витамина B_{12}. При соединении полученных точек получают калибровочную линию.

При незначительном разбросе точек калибровочную линию проводят между ними на расстоянии, равноудаленном от большинства точек.

3.5.4. *Обработка результатов*

Содержание витамина B_{12} определяют отдельно в каждой пробирке исследуемой пробы при помощи калибровочной линии. Данные, которые не укладываются в калибровочную линию, отбрасывают. По данным, которые уложились в линию (не менее двух разведений), определяют количество витамина B_{12} в исследуемой пробе, затем вычисляют среднее арифметическое результатов двух разведений.

Если наблюдается рост бактерий в контрольных пробирках, где витамин разрушен, то находят

по калибровочному графику соответствующие росту значения, которые вычитают из найденного количества витамина B_{12} в исследуемой пробе.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений.

Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений не должны превышать 4,5 отн. %. Погрешность метода — ±15 %.

Примечание. При разногласиях между поставщиками и потребителем и при поставке продукции на экспорт определение массовой доли витамина B_{12} проводят с использованием цианистого калия.

3.5.2.8—3.5.4. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

3.6. Определение безвредности

3.6.1. *Аппаратура и реактивы*

Для проведения испытания применяют:

шприц медицинский инъекционный типа «Рекорд» по ГОСТ 22967—90;

ступку по ГОСТ 9147—80;

воду питьевую по ГОСТ 2874—82.*

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.6.2. *Проведение испытания*

Для проведения испытания отбирают пять цыплят 6—8-недельного возраста массой по 400—600 г или пять белых мышей массой по 18—20 г. Кормовой витамин B_{12} тщательно растирают в ступке с водой. Воду добавляют с таким расчетом, чтобы 1 $см^3$ готовой суспензии содержал 100 мг препарата. Суспензию вводят цыплятам шприцем с тонким резиновым зондом через рот в течение пяти суток в дозе 8—12 $см^3$ на каждого (из расчета 2 $см^3$ на 100 г живой массы). Мышам взвесь вводят через рот с помощью иглы, на конец которой наплавлена олива диаметром не более 1 мм. Препарат вводят ежедневно в течение пяти суток в дозе 1 $см^3$ на каждую мышь (из расчета 100 мг препарата на одну мышь).

3.6.3. *Обработка результатов*

Препарат считают безвредным, если все цыплята остаются живыми в течение пяти, а мыши в течение двух последующих суток наблюдения. При гибели части их проверку повторяют на удвоенном количестве цыплят и мышей. При гибели хотя бы одного цыпленка или мыши в повторном опыте препарат бракуют. Каждого цыпленка или мышь используют в опыте один раз.

3.7. Определение крупности частиц

3.7.1. *Аппаратура*

Для проведения испытания применяют:

рассев лабораторный с электрическим или ручным приводом с частотой вращения 180—200 об/мин;

сито лабораторное с сеткой из облегченной шелковой ткани № 27 по ГОСТ 4403—91;

весы технические I, II классов типов Т-1, Т-2.

3.7.2. *Проведение испытания*

50 г препарата, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, просеивают через сито в течение 8 мин. Затем слегка постукивают по обечайке сита и вновь просеивают в течение 2 мин. Для очистки сит при просеивании применяют 5 резиновых кружочков массой около 0,5 г каждый. Допускается просеивание ручным способом при 110—120 движениях в минуту и размахе колебаний сита около 10 см.

Остаток на сите взвешивают на технических весах с погрешностью не более 0,01 г.

3.7.3. *Обработка результатов*

Крупность частиц (остаток на сите) (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{m_1 \cdot 100}{m},$$

где m — масса навески, г;

m_1 — масса остатка на сите, г.

Вычисление производят до 0,01 %.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений не должны превышать 0,2 абс. %.

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 51232—98.

3.8. Определение числа микробных клеток

3.8.1. *Аппаратура и реактивы*

Для проведения испытания применяют:

весы лабораторные рычажные 1-го и 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104—88* или других аналогичных типов;

термостат типа ТС-80 или других аналогичных типов для поддержания температуры с отклонением ±0,2 °С от заданной;

лупа с увеличением в 8—10 раз;

прибор для подсчета колоний бактерий;

колбы стеклянные лабораторные по ГОСТ 25336—82, вместимостью 250 $см^3$;

пипетки 4-го или 5-го исполнения, 1-го или 2-го класса точности, вместимостью 1 $см^3$;

пробирки биологические по ГОСТ 25336—82;

чашки стеклянные лабораторные по ГОСТ 25336—82, типа ЧБН, исполнения 2;

натрий хлористый по ГОСТ 4233—77;

агар микробиологический по ГОСТ 17206—96 или агар пищевой по ГОСТ 16280—88;

бульон мясо-пептонный по ГОСТ 20730—75;

вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.

3.8.2. *Подготовка к испытанию*

Мясо-пептонный агар готовят по ГОСТ 9225—84.

3.8.3. *Проведение испытания*

1 г препарата, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, помещают в колбу с 99 $см^3$ стерильного физиологического раствора, получают разведение 1:100 и тщательно встряхивают. Из полученной взвеси готовят последующие разведения 1:1000 и 1:10000. После оседания взвешенных частиц из верхнего слоя жидкости берут суспензию каждого разведения и засевают на 2—3 чашки следующим образом:

1 $см^3$ суспензии, взятый стерильной пипеткой, помещают в центр каждой чашки и заливают около 15 $см^3$ расплавленного и охлажденного до 45 °С мясо-пептонного агара. При посеве и заливке агаром крышку чашки Петри быстро приоткрывают и закрывают. Сразу после заливки агара содержимое тщательно перемешивают, делая чашками круговые движения на гладкой поверхности стола, для равномерного распределения посевного материала. После застывания агара чашки переворачивают крышками вниз, помещают в термостат и выдерживают в течение 48 ч при температуре 37 °С.

3.8.4. *Обработка результатов*

Число выросших колоний подсчитывают в каждой чашке, поместив ее вверх дном (без крышки), пользуясь лупой и прибором для подсчета колоний. Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашки чернилами. При большом числе колоний и равномерном их распределении дно чашки делят на 4 одинаковых сектора, подсчитывают число колоний в 2—3 секторах, находят среднее арифметическое и умножают на общее число секторов. Таким образом находят общее число колоний, выросших на одной чашке. Для подсчета общего числа микробных клеток в 1 г препарата число колоний, выросших на каждой чашке, умножают на соответствующее разведение.

Полученные результаты по отдельным чашкам складывают, делят на количество подсчитанных чашек и выводят среднее арифметическое, которое принимают за окончательный результат.

3.8—3.8.4. **(Введены дополнительно, Изм. № 1).**

4. УПАКОВКА, МАРКИРОВКА, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

4.1. Кормовой витамин B_{12} фасуют по 10, 12 и 15 кг с погрешностью не более 1,25 % в мешки из полиэтиленовой пленки по ГОСТ 10354—82, которые затем запаивают и упаковывают в бумажные четырехслойные мешки марок НМ, ВМ, ПМ или ВМП по ГОСТ 2226—88.

4.2. На каждый бумажный мешок наклеивают, пришивают или наносят трафаретом этикетку, содержащую данные об упакованной продукции:

наименование предприятия-изготовителя и его товарный знак;

наименование препарата;

марка препарата;

массовая доля витамина B_{12};

масса нетто;

* С 1 июля 2002 г. вводится в действие ГОСТ 24104—2001.

номер партии;
дата изготовления;
назначение препарата;
норма ввода;
срок хранения;
условия хранения;
обозначение настоящего стандарта.

4.1, 4.2. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

4.2.1. Маркировка транспортной тары — по ГОСТ 14192—96 с нанесением манипуляционного знака «Беречь от влаги».

4.2.2. Витамин B_{12} кормовой, предназначенный для экспорта, маркируют по ГОСТ 14192—96 и в соответствии с заказом-нарядом внешнеторгового объединения.

4.2.1, 4.2.2. **(Введены дополнительно, Изм. № 1).**

4.3. Транспортирование — по ГОСТ 23462—95.

4.4. Хранение — по ГОСТ 23462—95.

4.3, 4.4. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

5. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

5.1. Изготовитель гарантирует соответствие кормового витамина B_{12} требованиям настоящего стандарта при соблюдении потребителем условий применения и хранения.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

5.2. Гарантийный срок хранения кормового витамина B_{12} — 1 год со дня изготовления.

gost.e-ecolog.ru