ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 57643— 2017

Продукция микробиологическая

БИОУДОБРЕНИЕ НИТРАГИН

Технические условия

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2017

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Ассоциацией «Некоммерческое партнерство Координационно-информационный центр государств — участников СНГ по сближению регуляторных практик» при участии ООО «Центр промышленной биотехнологии имени княгини Е.Р. Дашковой»

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 326 «Биотехнологии»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 7 сентября 2017 г. № 1024-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2017

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Технические требования 2
4 Требования безопасности 3
5 Правила приемки 3
6 Методы испытаний 3
7 Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение 6
8 Указания по применению 6
9 Гарантии изготовителя 6
Библиография 7

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Продукция микробиологическая

БИОУДОБРЕНИЕ НИТРАГИН

Технические условия

Microbiological products. Bacterial fertilizer nitragin. Specifications

Дата введения 2018—08—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на бактериальное удобрение нитрагин сухой, получаемый на основе активных штаммов культуры клубеньковых бактерий *Rhizobium,* специфичных для каждого вида бобовых культур, применяемый в сельском хозяйстве для повышения урожая при обработке семян.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.005 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.008 Система стандартов безопасности труда. Биологическая безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.4.028—76 Система стандартов безопасности труда. Респираторы ШБ-1 «Лепесток». Технические условия

ГОСТ 12.4.253—2013 Система стандартов безопасности труда. Средства индивидуальной защиты глаз. Общие технические требования

ГОСТ 857 Кислота соляная синтетическая техническая. Технические условия

ГОСТ 975 Глюкоза кристаллическая гидратная. Технические условия

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2493 Реактивы. Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный. Технические условия

ГОСТ 4523 Реактивы. Магний сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 5556 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 6613—86 Сетки проволочные тканые с квадратными ячейками. Технические условия

ГОСТ 14870—77 Продукты химические. Методы определения воды

ГОСТ 14919 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 17206 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 20264.1—89 Препараты ферментные. Методы определения органолептических, физико-химических и микробиологических показателей

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 28489 Микроскопы световые. Термины и определения

ГОСТ 28674 Горох. Требования при заготовках и поставках

ГОСТ 29227—91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Издание официальное

ГОСТ Р 8.857 Государственная система обеспечения единства измерений. pH-метры. Методика поверки

ГОСТ Р 51232 Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества

ГОСТ Р 51574 Соль поваренная пищевая. Технические условия

ГОСТ Р 52305 Сахар-сырец. Технические условия

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р 54731 Дрожжи хлебопекарные прессованные. Технические условия

ГОСТ Р 57233 Продукция микробиологическая. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ Р 57234 Продукция микробиологическая. Упаковка, маркировка, транспортировка и хранение

ГОСТ Р 57248 Препараты ферментные. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ Р 57249 Препараты ферментные. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется принять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется принять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Технические требования

3.1 Нитрагин следует производить в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологическому регламенту, утвержденному в установленном порядке.

3.2 Область применения препарата

Нитрагин применяют для обработки семян бобовых культур:

- из медленнорастущих бактерий: люпина, сераделлы, эспарцета и сои;
- из быстрорастущих бактерий: гороха, вики, фасоли, кормовых бобов, клевера, люцерны, донника и нута.

Культуру отбирают, паспортизируют по чистоте и требуемым физиологическим свойствам и поставляют потребителям совместно с Всесоюзным научно-исследовательским институтам сельскохозяйственной микробиологии.

3.3 Форма выпуска

В зависимости от применяемого вида клубеньковых бактерий выпускают два вида препарата: нитрагин сухой, приготовленный из быстрорастущих клубеньковых бактерий и нитрагин сухой, приготовленный из медленнорастущих клубеньковых бактерий.

3.4 Требования к сырью

Для производства препарата используют сырье и вспомогательные материалы, указанные в технологическом регламенте.

3.5 По органолептическим, физическим и биологическим показателям нитрагин должен соответствовать требованиям, указанным в таблице 1.

Таблица 1 — Показатели препарата нитрагина

Наименование показателя	Характеристика и норма		Метод испытания
	нитрагина из медленнорастущих бактерий	нитрагина из быстрорастущих бактерий	
1 Внешний вид, цвет и запах	Однородный порошок от светло-серого до коричневого		По 6.2

Окончание таблицы 1

Наименование показателя	Характеристика и норма		Метод испытания
	нитрагина из медленно-растущих бактерий	нитрагина из быстро-растущих бактерий	
2 Массовая доля влаги, %	2,0—10,0		По 6.3
3 Массовая доля остатка после просеивания на сите с сеткой № 25, %, не более	5,0	5,0	По 6.4
4 Число жизнеспособных клеток клубеньковых бактерий в 1 г нитрагина, млрд, не менее к концу срока хранения	3,0 1,0	5,0 1,5	По 6.5
5 Число клеток посторонних микроорганизмов, %, от числа клеток клубеньковых бактерий, не более	3,0	3,0	По 6.6

4 Требования безопасности

4.1 Препарат нетоксичен для человека и теплокровных животных в нормах, рекомендуемых указаниями по применению.

4.2 Не допускается пылевыделение при размоле и фасовке препарата. Общие требования к воздуху рабочей зоны должны отвечать ГОСТ 12.1.005.

4.3 Для предупреждения опасного и вредного воздействия микроорганизмов должны соблюдать требования биологической безопасности по ГОСТ 12.1.008.

4.4 При изготовлении и применении препарата необходимо использовать спецодежду и индивидуальные средства защиты:

- для защиты органов дыхания — респиратор ШБ-1 «Лепесток» по ГОСТ 12.4.028—76;
- для защиты глаз — очки защитные типа 3Н по ГОСТ 12.4.253—2013.

4.5 Нитрагин непожаро- и невзрывоопасен.

4.6 Персонал, участвующий в производстве препарата, подлежит периодическим медицинским осмотрам по [1].

5 Правила приемки

Правила приемки препарата нитрагин проводят по ГОСТ Р 57233.

6 Методы испытаний

6.1 Отбор проб

Отбор проб проводят в соответствии с требованиями ГОСТ Р 57248. Объем щупа 5 г. Масса объединенной пробы — 100 г.

6.2 Внешний вид и цвет нитрагина определяют визуально по каждой единице фасовки в момент отбора точечной пробы.

6.3 Массовую долю влаги определяют по ГОСТ 14870—77 (см. 6.3).

6.4 Определение массовой доли остатка после просеивания на сите с сеткой № 025

6.4.1 Аппаратура:

- весы лабораторные общего назначения по ГОСТ Р 53228—2008, не ниже 2-го класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 200 г;
- сито с сеткой проволочной тканной с квадратными ячейками № 025 по ГОСТ 6613—86;
- рассев лабораторный любого типа, обеспечивающий 180—200 колебаний в минуту.

6.4.2 Проведение испытания

10,00 г препарата помещают на сито лабораторного рассева, закрывают крышкой, укрепляют на платформе рассева, включают прибор и просеивают в течение 10 мин. Допускается просеивание руч-

ным способом при 110—120 движениях в минуту и размахе колебаний сита 10 см в течение 15 мин. Остаток на сите взвешивают с точностью до второго десятичного знака.

6.4.3 Обработка результатов

Массовую долю остатка на сите X, %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{M_1 \cdot 100}{M}, \quad (1)$$

где M — масса навески, г;

M_1 — масса остатка, г.

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

6.5 Определение числа жизнеспособных клеток клубеньковых бактерий

Метод основан на приготовлении ряда последовательных разведений препарата в стерильной воде и высевом на чашки Петри с последующим внесением агаровых питательных сред и дальнейшим подсчетом выросших бактериальных колоний.

6.5.1 Аппаратура, материалы, реактивы:

- термостат любого типа, обеспечивающий температуру нагрева (28 ± 2) °С;
- автоклав вертикальный по действующей НД;
- качалка любого типа, обеспечивающая число оборотов от 100 до 300 $м^{-1}$ (об/мин);
- pH-метр по ГОСТ Р 8.857 или другой прибор для определения pH среды в интервале 1—14, с погрешностью не более 0,1 ед./pH;
- электроплитка бытовая по ГОСТ 14919;
- спиртовка лабораторная стеклянная по ГОСТ 25336;
- весы лабораторные общего назначения по ГОСТ Р 53228—2008, не ниже 2-го класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 200 г;
- цилиндры 1-100 по ГОСТ 1770—74;
- колбы 1-100-2, 1-250-2, 1-500-2; 1-1000-2 по ГОСТ 1770—74;
- пипетки 4,5-1-1; 6,7-1-10 по ГОСТ 29227—91;
- чашки ЧБН-2-100 по ГОСТ 25336—82;
- воронки В36-80 ХС по ГОСТ 25336—82;
- бумага универсальная индикаторная по [2], с pH от 1 до 10;
- индикаторы нитрофенолового ряда (К-нитрофенол и М-нитрофенол);
- набор эталонных растворов по Михаелису;
- вода питьевая по ГОСТ Р 51232;
- агар микробиологический по ГОСТ 17206;
- калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный по ГОСТ 2493;
- магний сернокислый 7-водный по ГОСТ 4523;
- кислота соляная синтетическая техническая по ГОСТ 857 или кислота соляная техническая по [3];
- соль поваренная пищевая по ГОСТ Р 51574;
- глюкоза кристаллическая гидратная по ГОСТ 975 или Д (—) маннит;
- горох нелущенный по ГОСТ 28674;
- дрожжи хлебопекарные прессованные по ГОСТ Р 54731;
- сахар-песок по ГОСТ Р 52305;
- вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

6.5.2 Подготовка к испытанию

100,00 г дрожжей помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ и доводят объем до метки водой. Оставляют на 2 ч и периодически перемешивают. Затем смесь разливают по 150 $см^3$ в колбы вместимостью 250 $см^3$. Стерилизуют в автоклаве при 0,1 МПа в течение 1 ч.

После отстаивания осадка надосадочную жидкость отбирают пипеткой вместимостью 100 $см^3$ или осторожно сливают в колбы.

6.5.2.1 Приготовление маннито-дрожжевой среды

Для приготовления среды берут 10,00 г Д (—) маннита или глюкозы, 0,50 г двузамещенного фосфорнокислого калия, 0,20 г сернокислого магния и 0,50 г поваренной соли, помещают в колбу на 1000 $см^3$,

добавляют 500 см^3 воды и растворяют. После этого доводят водой объем до 900 см^3 и приливают 100 см^3 дрожжевого экстракта и тщательно перемешивают.

Определяют pH и раствором с массовой долей соляной кислоты 10 % устанавливают pH равным 6,3. Затем среду разливают в колбы по 100—300 см^3, добавляют агар (из расчета 1,5 г на 100 см^3). Колбы стерилизуют при 0,1 МПа 20 мин.

6.5.2.2 Приготовление горохового агара

100,00 г гороха помещают в колбу, заливают 1000 см^3 воды и варят не менее 30 мин в зависимости от сорта гороха. Концом варки считают момент, когда горох набухнет и начнет растрескиваться, но он не должен развариваться.

Отвар фильтруют через ватно-марлевый фильтр, водой доводят объем до первоначального и добавляют 20,00 г сахарного песка.

Среду нейтрализуют раствором с массовой долей соляной кислоты 10 % и устанавливают pH так, чтобы после стерилизации он был равен 7,0—7,2. В приготовленную среду добавляют 20,00 г агара, нагревают ее на плитке до расплавления агара и разливают в колбы по 100—500 см^3. Колбы со средой стерилизуют при 0,1 МПа 20 мин.

6.5.3 Проведение испытания

10,00 г препарата помещают в колбу с 90 см^3 стерильной воды, получая разведение 10^{-1}.

Колбу взбалтывают в течение 5 мин и оставляют на 1 ч.

После этого еще раз взбалтывают 2 мин, и 1 см^3 суспензии стерильной пипеткой переносят в колбу с 90 см^3 стерильной воды, получая разведение 10^{-3}, затем готовят ряд последующих десятикратных разведений препарата, используя для каждого разведения отдельные стерильные пипетки. Для посева препарата в чашки Петри используют разведения 10^{-8}, 10^{-9}.

Из каждого разведения засевают по три чашки Петри следующим образом: 1 см^3 суспензии, взятой стерильной пипеткой из каждого разведения, помещают в центр стерильной чашки Петри. Затем чашки Петри заливают 10 см^3 стерильной расплавленной и охлажденной до 45 °С агаровой гороховой средой при анализе нитрагина из быстрорастущих клубеньковых бактерий или маннито-дрожжевой средой — из медленнорастущих.

Сразу после заливки агара содержимое чашки тщательно перемешивают, делая чашками круговые движения на гладкой поверхности стола для равномерного распределения посевного материала. После застывания агара чашки переворачивают крышками вниз.

Приготовленные чашки помещают в термостат температурой (28 ± 2) °С, выдерживают с быстрорастущими клубеньковыми бактериями 4—5 сут, а с медленно растущими 8—10 сут. Для подсчета выбирают те чашки Петри, в которых число колоний не более 200 и не менее 30. Подсчет проводят визуально.

6.5.4 Обработка результатов

Число жизнеспособных клеток клубеньковых бактерий X_1 в 1 г препарата, в млрд, вычисляют для каждого из исследуемых разведений по формуле

$$X_1 = \frac{N}{P}, \qquad (2)$$

где N — число колоний (среднее арифметическое из трех чашек Петри);

P — разведение.

За окончательный результат испытаний принимают среднее арифметическое результатов трех параллельных определений, допустимое расхождение между которыми не должно превышать 30 % отн.

6.6 Определение числа клеток посторонних микроорганизмов

Метод основан на получении ряда последовательных разведений препарата, выращивании бактерий при определенных условиях и сравнении числа выросших колоний с числом колоний клубеньковых бактерий.

6.6.1 Аппаратура, материалы, реактивы

Для проведения испытания применяют аппаратуру, материалы и реактивы по 6.5.1, а также:

- микроскоп световой биологический по ГОСТ 28489 или других аналогичных марок;
- баня водяная любого типа, обеспечивающая температуру нагрева от 20 °С до 100 °С точностью терморегуляции ± 1 °С;
- мясопептонный агар, приготовленный по ГОСТ 20264.1—89 (см. 6.2).

6.6.2 Проведение испытания

1 $см^3$ суспензии, взятой стерильной пипеткой из разведения 10^{-6}, 10^{-7}, приготовленной по 6.5.3, вносят в две чашки, в которые заливают 10 $см^3$ расплавленного и охлажденного до 40 °С мясопептонного агара. Чашки помещают в термостат при температуре 28 °С и 37 °С на 2—3 сут.

Так как клубеньковые бактерии люцерны растут на мясопептонном агаре, подсчет колоний посторонних микроорганизмов для этой культуры проводят через 2 сут и отмечают их тушью. Колонии, выросшие на 3—4 сут, следует считать колониями клубеньковых бактерий. В сомнительных случаях отдельные колонии микроскопируют.

6.6.3 Обработка результатов

Число клеток посторонних микроорганизмов X_2, %, вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{C}{T}, \quad (3)$$

где C — число клеток посторонних микроорганизмов (среднее арифметическое из двух чашек Петри), млрд;

T — число клеток клубеньковых бактерий, вычисленное по 6.5.4, млрд/г.

За окончательный результат испытаний принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений из двух чашек Петри, допустимое расхождение между которыми не должно превышать 30 % отн.

7 Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение

7.1 Упаковка и маркировка

Упаковку и маркировку препарата нитрагин проводят по ГОСТ Р 57234 и ГОСТ Р 57249.

7.1.1 Препарат фасуют по 200, 400, 1000 г в тару, указанную по согласованию с заказчиком препарата.

7.1.2 Маркируют нитрагин с указанием манипуляционных знаков «Боится сырости», «Боится нагрева», «Крюками непосредственно не брать».

7.2 Транспортирование и хранение

Транспортирование и хранение нитрагина проводят по ГОСТ Р 57234.

7.2.1 Хранят препарат при температуре естественных условий, но не выше 15 °С и не ниже минус 30 °С.

8 Указания по применению

Нитрагин применяют в соответствии с [4].

9 Гарантии изготовителя

9.1 Изготовитель гарантирует соответствие нитрагина требованиям настоящего стандарта при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

9.2 Гарантийный срок хранения нитрагина — 9 мес со дня изготовления. По истечении срока хранения перед использованием нитрагин должен быть проверен на соответствие требованиям настоящего стандарта.

Библиография

[1] Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 12 апреля 2011 г. № 302н — Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования)

[2] ТУ 6-09-1181—89 — Бумага индикаторная универсальная для определения pH 1-10 и 7-14. Технические условия

[3] ТУ 6-01-1194—79 — Кислота соляная техническая

[4] СанПиН 1.2.2584—10 — Гигиенические требования к безопасности процессов испытаний, хранения, перевозки, реализации, применения, обезвреживания и утилизации пестицидов и агрохимикатов, утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 2 марта 2010 г. № 17 с изменениями и дополнениями от 28 марта, 10 июня 2016 г.

УДК 579.663:006.354

ОКС 65.080.00
07.100.30

Ключевые слова: нитрагин, бактериальное удобрение, культура клубеньковых бактерий, сельское хозяйство

БЗ 7—2017/65

Редактор *Р.Г. Говердовская*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *А.А. Ворониной*

Сдано в набор 08.09.2017. Подписано в печать 02.10.2017. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,28. Тираж 23 экз. Зак. 1636.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru