ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

КОРМОГРИЗИН

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

ГОСТ 27786—88
(СТ СЭВ 5896—87)

Издание официальное

Б3 4 88/296

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО СТАНДАРТАМ
Москва

gost.e-ecolog.ru

УДК 636.085 : 006.354 Группа С05

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

КОРМОГРИЗИН

Технические условия

Fodder Griseus.
Specifications

ГОСТ
27786—88

(СТ СЭВ 5896—87)

ОКП 92 9121

Срок действия с 01.01.89
до 01.01.94

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на кормогризин — препарат, состоящий из антибиотика гризина, получаемый путем микробиологического синтеза с использованием культуры Act. griseus и наполнителей и предназначенный для использования при выращивании и откорме сельскохозяйственных животных.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Кормогризин должен изготовляться в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологическому регламенту, утвержденному в установленном порядке.

1.2. Характеристики

1.2.1. Кормогризин изготовляют с наполнителем. В качестве наполнителя используют кукурузную или пшеничную муку, пшеничные или ржаные отруби.

Наполнитель по крупности и влажности должен соответствовать значениям, установленным для кормогризина.

1.2.2. В зависимости от содержания активного действующего начала — антибиотика гризина — кормогризин изготовляют двух марок: кормогризин-10 и кормогризин-40.

1.2.3. По физико-биологическим показателям кормогризин должен соответствовать требованиям, указанным в таблице.

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**
© Издательство стандартов, 1988

Наименование показателя	Значение для марки	
	Кормогризин-10	Кормогризин-40
Внешний вид	Однородный порошок от светло-желтого до светло-коричневого цвета	
Массовая доля влаги, %, не более	9,5	
Крупность помола:		
остаток на сите с отверстиями диаметром 0,56 мм, %, не более	10,0	
остаток на сите с отверстиями диаметром 1,00 мм, %, не более	0,5	
Гризин в 1 кг препарата, г	10±1,0	40±4,0
Подлинность	Появление нингидриноокрашенных компонентов на хроматограмме, совпадающих по положению с нингидриноокрашенными компонентами стандартного образца гризина, а также зон задержки тест-культуры от испытуемых компонентов пробы	
Безвредность в тест-дозе на одну мышь, мг	100	
Зараженность вредителями и плесенью	Не допускается	
Массовая доля поваренной соли, %, не более	15	

1.3. Требования безопасности

1.3.1. Препарат кормогризина изготовляют в соответствии с правилами безопасности для производства микробиологической промышленности, утвержденными Госгортехнадзором СССР.

1.3.2. Предельно допускаемая концентрация препарата в воздухе рабочих помещений не должна превышать 0,4 мг/м^3.

1.3.3. При работе с препаратом необходимо применять индивидуальные средства защиты: респиратор, защитные очки, резиновые перчатки, также соблюдать меры личной гигиены.

1.3.4. Производственное оборудование должно отвечать требованиям ГОСТ 12.2.003—74.

1.3.5. Для предупреждения опасного и вредного воздействия микроорганизмов следует соблюдать требования биологической безопасности по ГОСТ 12.1.008—76.

1.3.6. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны — по ГОСТ 12.1.005—76.

1.4. Маркировка

1.4.1. На каждый бумажный мешок наносят транспортную маркировку по ГОСТ 14192—77 с изображением манипуляционных знаков «Боится сырости», «Боится нагрева», «Крюками непосредственно не брать» и с указанием дополнительных сведений:

1) наименования ведомства;
2) наименования предприятия-изготовителя и (или) его товарного знака;
3) наименования и марки препарата;
4) массы нетто;
5) номера партии;
6) даты изготовления препарата;
7) гарантийного срока хранения;
8) условий хранения;
9) предупредительных надписей «Хранить с предосторожностью. Список Б». «Для ветеринарии»;
10) обозначения настоящего стандарта.

1.4.2. В каждый бумажный мешок вкладывают инструкцию по применению препарата в количестве, равном числу полиэтиленовых мешков.

1.5. Упаковка

1.5.1. Кормогризин фасуют по 5, 10 и 20 кг в мешки из полиэтиленовой пленки по ГОСТ 10354—82 или мешки полиэтиленовые по ГОСТ 17811—78. Полиэтиленовые мешки термоспаивают и упаковывают в бумажные четырехслойные мешки по ГОСТ 2226—75.

Допускается фасовать кормогризин в бумажные мешки марок БМ, ВМ, ПМ, БМП, ВМБ, ВМП по ГОСТ 2226—75.

1.5.2. Бумажные мешки зашивают машинным способом нитками по ГОСТ 14961—85, или по ГОСТ 6309—87, или шпагатом по ГОСТ 17308—85, оставляя гребень по всей ширине мешка не менее 4 см.

Допускается вместо зашивания бумажных мешков их склеивание по ГОСТ 18251—87.

1.5.3. Масса нетто упаковочной единицы должна составлять $(20 \pm 0{,}2)$ кг.

2. ПРИЕМКА

2.1. Кормогризин принимают партиями. Партией считают любое количество препарата, изготовленное за один технологический цикл, однородное по показателям качества и оформленное одним документом о качестве.

В документе о качестве указывают:
1) наименование организации, в систему которой входит предприятие-изготовитель;
2) наименование предприятия-изготовителя и (или) его товарный знак;
3) наименование и марку препарата;
4) номер партии;

5) массу нетто партии;
6) количество мест в партии;
7) дату изготовления препарата (год, месяц, число);
8) результаты испытаний; дату выдачи документа о качестве;
9) гарантийный срок и условия хранения;
10) обозначение настоящего стандарта.

2.2. Для проверки качества кормогризина от каждой партии отбирают выборку в размере: от партии до 100 упаковочных единиц — не менее 5 упаковочных единиц; свыше 100 упаковочных единиц — 5%.

2.3. Подлинность кормогризина определяют в каждой 10-й партии. При изменении технологии изготовления кормогризина, подлинность определяют в пяти партиях подряд.

2.4. При неудовлетворительных результатах испытаний хотя бы по одному показателю по нему проводят повторные испытания на удвоенном количестве выборки, взятой от той же партии продукции.

Результаты испытаний распространяют на всю партию.

3. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

3.1. Отбор проб

3.1.1. От каждой упаковочной единицы отбирают 2—3 точечные пробы щупом вместимостью не более 50 г, погружая его на всю глубину мешка.

3.1.2. Точечные пробы объединяют, тщательно перемешивают и выделяют среднюю пробу массой не менее 600 г.

3.1.3. Среднюю пробу делят пополам и помещают в две чистые сухие банки с притертыми пробками или в полиэтиленовые мешочки.

Одну банку или мешочек передают в лабораторию для анализа качества препарата, а другую банку или мешочек хранят в течение срока годности препарата на случай разногласий в оценке качества.

3.1.4. Пробы, направляемые в лабораторию или на хранение, опечатывают и снабжают этикеткой с указанием:

1) наименования предприятия-изготовителя и(или) его товарного знака;
2) наименования препарата;
3) номера партии;
4) массы нетто партии;
5) даты отбора пробы;
6) должности и подписи лица, отбиравшего пробу;
7) гарантийного срока хранения.

3.2. Определение внешнего вида и плесени

Навеску массой 50 г рассыпают на белую чистую поверхность, рассматривают и определяют цвет и наличие плесени при естественном освещении.

3.3. Определение массовой доли влаги

Сущность метода заключается в высушивании препарата при нагревании до постоянной массы при температуре (105±2)°С и определении влаги по разности результатов взвешиваний.

3.3.1. *Аппаратура и реактивы*

Сушильный шкаф любого типа, обеспечивающий температуру нагрева от 100 до 200°С с точностью терморегуляции ±2°С.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104—80 1-го и 2-го классов точности с пределом взвешивания 200 г.

Бюксы, изготовленные из некоррозируемого металла, или стаканчики СВ 14/8; 19/9; 24/10; 34—2 по ГОСТ 25336—82.

Эксикатор исполнения 2 с диаметром корпуса 100, 140, 190, 250 мм по ГОСТ 25336—82, содержащий силикагель с добавлением индикатора влажности или прокаленный хлорид кальция.

3.3.2. *Проведение испытания*

Открытую бюксу и крышку помещают в сушильный шкаф при температуре (105±2)°С на 30 мин. Затем закрывают бюксу крышкой, охлаждают в эксикаторе до комнатной температуры и взвешивают. Высушивание бюксы с крышкой проводят до достижения постоянной массы.

5 г препарата помещают в бюксу. Открытую бюксу и крышку помещают в сушильный шкаф при температуре (105±2)°С на 4 ч, затем закрывают бюксу крышкой, переносят в эксикатор, охлаждают до комнатной температуры и быстро взвешивают.

Вновь высушивают образец в течение 1 ч, охлаждают и взвешивают. Повторяют высушивание до тех пор, пока разность результатов двух последовательных взвешиваний будет не более 0,0004 г. Если после повторного высушивания масса увеличится, за результат принимают наименьшее значение.

3.3.3. *Обработка результатов*

Массовую долю влаги (X_1) в процентах вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} \cdot 100,$$

где m_1 — масса бюксы с пробой до высушивания, г;

m_2 — масса бюксы с пробой после высушивания, г;

m_3 — масса бюксы, г.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Допускаемые расхождения не должны отличаться от среднего значения более чем на 5% (отн.).

3.4. Определение крупности помола

Сущность метода заключается в гравиметрическом определении остатка на сите после просеивания пробы.

3.4.1. *Аппаратура*

Установка для рассева с ситами: с номинальными размерами ячейки 0,560 мм и 1,00 мм по ГОСТ 4601—73.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104—80 1-го и 2-го классов точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

3.4.2. *Проведение испытаний*

100 г препарата помещают на сито, которое закрывают крышкой, укрепляют на платформе установки для рассева, включают установку и просеивают в течение 10 мин при 190—210 колебаниях в минуту.

Допускается просеивание ручным способом при 110—120 колебаниях в минуту и размахе колебаний около 10 см.

3.4.3. *Обработка результатов*

Остаток на сите (X_2) в процентах вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{m_4}{m_5} \cdot 100,$$

где m_4 — масса остатка на сите, г;

m_5 — масса пробы, г.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Допускаемые расхождения не должны отличаться от среднего значения более чем на 10% отн.

3.5. Определение гризина

Сущность метода заключается в сравнении зон задержки роста тест-культуры Bac. subtilis 6633 испытуемым препаратом и стандартом гризина. Чувствительность метода 0,5 ЕД в 1 мг.

3.5.1. *Аппаратура, материалы, реактивы и питательные среды*

pH-метр с погрешностью измерения не более 0,1.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104—80 1-го и 2-го классов точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Автоклав вертикальный по ГОСТ 9586—75.

Микроскоп по ГОСТ 8284—78.

Термостат любого типа, обеспечивающий температуру нагрева (37±1)°С.

Ватерпас.

Столик с горизонтальной пластиной вертикального стекла.

Фотоувеличитель.

Сушильный шкаф любого типа, обеспечивающий температуру нагрева от 100 до 200°С с погрешностью терморегуляции ±2°С.

Термометр с ценой деления 1°С и диапазоном измерения от 0 до 100°С.

Баня водяная любого типа, обеспечивающая температуру нагрева от 20 до 100°С с погрешностью терморегуляции ±3°С.

Бур или пробочное сверло с внутренним диапазоном 8 мм.

Капельницу, представляющую собой инъекционную иглу, впаянную в стеклянную трубку диаметром 5—7 мм, на конец которой одета резиновая груша.

Колбы мерные вместимостью 100, 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770—74.

Колбы конические вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 25336—82.

Чашки бактериологические (чашки Петри) типа ЦБН исполнения 2, номинальным диаметром 100 мм по ГОСТ 25336—82.

Пипетки вместимостью 5, 10 и 20 $см^3$ исполнения 6, 7 по ГОСТ 20292—74.

Пробирки типа Ш диаметром 16 мм, высотой 150 мм из химически стойкого стекла группы ХС по ГОСТ 25336—82.

Спиртовки стеклянные по ГОСТ 25336—82.

Матрацы стеклянные.

Воронка типа В диаметром 100 мм высотой 150 мм по ГОСТ 25336—82.

Петля микробиологическая.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026—76.

Образец стандартный стеклянный для визуального определения мутности бактериальных взвесей, мутность которого равна 1,66 $см^{-1}$ и эквивалента 10 международным единицам мутности.

Цилиндры мерные вместимостью 50 $см^3$ по ГОСТ 1770—74.

Гризина сульфат стандартный с активностью, указанной на этикетке.

Тест-микроорганизм Bac. subtilis 6633.

Натрий лимоннокислый трехзамещенный по ГОСТ 22280—76.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328—77.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233—77.

Кислота соляная по ГОСТ 3118—77, растворы концентрации 0,01 моль/$дм^3$ (0,01 н.) и 0,2 моль/$дм^3$ (0,2 н.).

Кальций фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198—75.

Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей по ГОСТ 13805—76.

Бульон Хоттингера.

Агар микробиологический по ГОСТ 17206—84 или агар пищевой по ГОСТ 16280—70.

Раствор буферный лимоннокислый с pH 3—3,2; готовят смешением двух растворов: 62 $см^3$ раствора А и 100 $см^3$ раствора Б.

Растворы А и Б готовят следующим образом:

раствор А — 22,6 г цитрата дигидрата натрия помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$ и доливают воду до метки;

раствор Б — 8,2 см³ концентрированной соляной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и разбавляют водой до метки.

Растворы для окраски по Граму.

Вода мясная по ГОСТ 20729—75.

Бульон мясо-пептонный (МПБ) по ГОСТ 20730—75.

Среда агаровая голодная; готовят следующим образом:

15 г агара, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, помещают в колбу вместимостью 1000 см³, содержащую 900 см³ воды. Колбу ставят на водяную баню и нагревают до полного расплавления агара. 3 г дигидроортофосфата калия, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в 100 см³ воды, затем выливают в расплавленный агар, доводят объем водой до 1000 см³ и перемешивают. Устанавливают pH 8,0 при помощи 30%-ного раствора гидрооксида натрия. Агаровую среду кипятят до образования осадка, затем фильтруют через толстый слой ваты и стерилизуют в автоклаве в течение 30 мин при температуре (110±1)°С. pH среды поля стерилизации должна быть 7,8—8,0. Среду хранят при температуре 20—22°С не более двух месяцев.

Среда агаровая питательная; готовят аналогично приготовлению агаровой голодной среды, при этом взамен воды берут МПБ с содержанием аминного азота 50—60 мг в 100 см³ бульона. Питательную среду стерилизуют в автоклаве в течение 30 мин при температуре (110±1)°С. После стерилизации pH раствора должна быть 7,8—8,0. Раствор хранят в течение месяца при комнатной температуре.

Раствор физиологический.

Агар мясо-пептонный (МПА) — среда для культуры Bac. subtilis 6633; готовят следующим образом: МПБ разбавляют водой в соотношении 1 : 2. К 1000 см³ разбавленного МПБ добавляют 20 г агара, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г. Для набухания агара смесь выдерживают в течение 40—60 мин при комнатной температуре.

МПА расплавляют на водяной бане, устанавливают pH 7,2—7,4 при помощи 30%-ного раствора гидрооксида натрия, дают среде отстояться в течение 30 мин, после чего среду фильтруют через толстый слой ваты, затем разливают в колбы и стерилизуют при температуре (110±1)°С в течение 30 мин. pH среды после стерилизации должен быть 7,2—7,4.

Среда для выращивания спор Bac. subtilis 6633 в матрицах; готовят следующим образом: 25 г агара, взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, добавляют на 1000 см³ бульона Хоттингера с содержанием 30—35% аминного азота. Полученную среду разливают по матрицам и стерилизуют в течение 30 мин при температуре (110±1)°С. pH после стерилизации должен быть 6.0—6,2.

Суспензия тест-культуры Bac. subtilis 6633 готовят следующим образом: тест-культуру Bac. subtilis 6633 переносят микробиологической петлей в пробирку с физиологическим раствором, затем пипеткой каплю полученной суспензии переносят в чашки Петри со средой МПА, растирают ее по чашке стеклянным шпателем, после чего этим же шпателем переносят оставшуюся на нем культуру из чашки в чашку с вышеуказанной средой путем растирания (5—7 чашек), добиваясь таким образом в последующем роста отдельных характерных колоний.

Тест-культуру выращивают при температуре 37°С в течение 18—24 ч. Затем отбирают типичные колонии — мелкие, сероватые с зубчатым краем и пересевают бактериальной петлей на скошенный МПА в пробирку и выращивают при температуре 37°С в течение 18 ч, после чего культуру со скошенного агара смывают 5—10 $см^3$ стерильной дистиллированной воды и смыв переносят в матрацы. Засеянный матрац выдерживают при температуре 37°С в течение 5—7 сут, после чего производят микроскопический контроль и, если в мазках, окрашенных по Граму, имеется в поле зрения 80—90% спор, делают смыв культуры стерильной дистиллированной водой.

Полученную взвесь спор прогревают при температуре 60—70°С на водяной бане в течение 30 мин, затем взвесь спор промывают не менее трех раз стерильной дистиллированной водой при центрифугировании до полной прозрачности надосадочной жидкости. Промытую взвесь спор хранят в стерильной дистиллированной воде в запаянных ампулах или пробирках в течение двух лет при температуре от 4 до 10°С.

Гризина основной стандартный раствор концентрации 1000 ЕД в 1 $см^3$; раствор готовят следующим образом: 20 мг стандартного образца гризина, взвешенные с погрешностью не более 0,0002 г, растворяют в рассчитанном объеме раствора соляной кислоты концентрации 0,01 $моль/дм^3$.

Объем раствора соляной кислоты (X_3) в кубических сантиметрах вычисляют по формуле

$$X_3 = \frac{m_6 \cdot A}{1000},$$

где m_6 — масса стандартного образца сульфата гризина, мг;

A — активность стандартного образца сульфата гризина, ЕД в 1 мг (весовое выражение 1 ЕД активности сульфата гризина зависит от активности действующего в настоящее время стандартного образца);

1000 — активность основного стандартного раствора сульфата гризина, ЕД в 1 $см^3$.

Полученный раствор хранят в колбе с притертой пробкой при температуре 4°С в защищенном от света месте не более одного месяца.

Гризина рабочий стандартный раствор концентрации 3 ЕД в 1 $см^3$; готовят следующим образом: 1 $см^3$ основного стандартного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, доводят до метки лимоннокислым буферным раствором, получая разведение 1 : 100 (10 ЕД в 1 $см^3$). Затем берут пипеткой 3 $см^3$ этого разведения, помещают в пробирку, добавляют 7 $см^3$ лимоннокислого буферного раствора.

3.5.2. *Подготовка к испытанию*

3.5.2.1. *Приготовление раствора испытуемого препарата*

5 г пробы, взвешенной с погрешностью не более 0,01 г, помещают в ступку, заливают 25 $см^3$ соляной кислоты концентрации 0,2 моль/$дм^3$ и растирают пестиком. Затем взвесь переносят в колбу или стакан, а ступку смывают 25 $см^3$ раствора соляной кислоты концентрации 0,2 моль/$дм^3$ и смыв добавляют в колбу.

Взвесь препарата выдерживают в течение 2—3 ч при комнатной температуре для экстракции гризина, периодически взбалтывая, после чего содержимое колбы центрифугируют при 2000 $мин^{-1}$ в течение 10—15 мин и фильтруют через бумажный фильтр, получая таким образом разведение 1 : 10. Затем из этого раствора готовят следующие разведения с помощью лимоннокислого буферного раствора (с учетом предыдущего разведения 1 : 10):

для кормогризина-10 — 1 : 1000; 1 : 2000; 1 : 4000;

для кормогризина-40 — 1 : 4000; 1 : 8000; 1 : 16000.

3.5.2.2. *Подготовка чашек Петри с питательной средой и тест-культурой*

Чашки Петри тщательно моют, стерилизуют в сушильном шкафу в течение 2 ч при температуре 160°С. В 6 чашек Петри заливают пипеткой по 15 $см^3$ расплавленной голодной агаровой среды, получая нижний слой. В 100 $см^3$ расплавленной и охлажденной до 60—65°С питательной агаровой среды вносят 1 $см^3$ (10 международных единиц мутности) тест-культуры Bac. subtilis 6633 и разливают в чашки Петри на застывший нижний слой голодной агаровой среды по 7—8 $см^3$.

После застывания агара в чашках делают по 6 лунок буром, которые располагают по радиусам на расстоянии 2,8 см от центра чашки с интервалом около 60°. В 6 лунок каждой из двух подготовленных чашек Петри вносят капельницей около 0,1 $см^3$ рабочего стандартного раствора гризина. Чашки помещают в термостат при температуре 37°С и выдерживают в течение 16—18 ч, а затем измеряют диаметры зон задержки роста тест-микроба.

Для проведения испытаний препарата на содержание в них гризина используют партию питательной агаровой среды, обеспечивающей после действия рабочего стандартного раствора гризи-

на зоны задержки диаметром от 17 до 21 мм. В случае получения зон задержки диаметром менее 17 мм или более 21 мм готовят новую партию среды, подбирая новые серии компонентов, или увеличивают (уменьшают) количество тест-микроба, вносимого в питательную среду, с целью достижения оптимального размера диаметра зон задержки роста тест-микроба.

3.5.2.3. *Построение градуировочного графика для определения активности гризина*

Для построения градуировочного графика из раствора, содержащего 10 ЕД в 1 см^3, готовят 5 растворов концентрациями 1,8; 2,4; 3,0; 3,8; 4,5 ЕД с 1 см^3. Раствор, содержащий 3 ЕД в 1 см^3, является контрольным.

Полученные стандартные растворы, за исключением контрольного, капельницей вносят в 3 лунки (по 3 чашки на каждую концентрацию). Контрольный раствор вносят в остальные 3 лунки всех 15 чашек. Объем вносимых растворов (стандартного и контрольного) должен быть равным и составлять около 0,1 см^3. Перед работой капельницу тщательно ополаскивают буферным раствором, а затем раствором, который следует вносить в каждую лунку. Чашки выдерживают в течение 16—18 ч в термостате при температуре 37°С, затем измеряют диаметры зон задержки роста тест-культуры.

Для каждой концентрации рассчитывают среднее арифметическое диаметров зон задержки роста по 3 чашкам. Для контрольной концентрации подсчитывают среднее арифметическое диаметров зон задержки роста отдельно по 3 чашкам и по всем 15 чашкам, находят поправку, которая представляет собой разность между средними арифметическими контрольных зон задержки роста, вычисленных по 15 и по 3 чашкам.

Полученные поправки прибавляют к средним значениям диаметра зон задержки роста стандартных растворов концентрации 1,8; 2,4; 3,0; 3,8; 4,5 ЕД в 1 см^3, вычисленных по 3 чашкам.

По полученным данным на полулогарифмической сетке строят градуировочный график. На ось абсцисс наносят средние значения диаметра зон задержки роста стандартных растворов, полученных после внесения поправки, а также среднее значение диаметра зоны контрольного раствора, вычисленное по всем 15 чашкам. На оси ординат наносят соответствующие концентрации растворов.

Градуировочным графиком пользуются в течение двух месяцев, периодически проверяя угол наклона кривой по двум концентрациям на 3—5 чашках.

3.5.3. *Проведение испытания*

На каждую пробу испытуемого препарата используют не менее 3 чашек.

Капельницей в три лунки каждой из чашек вносят рабочий стандартный раствор, а в три другие лунки — один из растворов

испытуемого препарата. Объем вносимых растворов рабочего стандартного раствора и испытуемого препарата должен быть равным и составлять около 0,1 см^3. Чашки выдерживают в течение 16—18 ч в термостате при температуре 37°С, затем измеряют диаметр зон задержки роста тест-культуры. При этом в расчет берут одну концентрацию, при которой диаметр зоны роста тест-культуры в испытуемых образцах ближе к диаметру зон задержки стандартного раствора.

3.5.4. *Обработка результатов*

Измеряют зоны задержки роста тест-культуры, образуемые контрольным раствором стандарта и испытуемым раствором. Находят среднее арифметическое результатов диаметра зон задержки роста по 3 чашкам. Вычитают разность значений диаметров зон задержки роста контрольной концентрации стандартной кривой и контрольной концентрации в испытании. Эту разность прибавляют к среднему значению диаметра зон задержки испытуемого раствора препарата, если она положительная, или вычитают, если она отрицательная.

Затем по кривой находят концентрацию, соответствующую найденной величине зон. Умножая полученную концентрацию на степень разбавления, получают содержание антибиотика в ЕД в 1 см^3.

1 условная ЕД гризина соответствует 1 мкг антибиотика в товарном препарате.

Содержание гризина (X_4) в г в 1 кг препарата определяют по формуле

$$X_4 = \frac{N \cdot V}{m_7 \cdot 10^3},$$

где N — содержание гризина в испытуемом растворе, мкг/см^3;

V — объем соляной кислоты, используемой для приготовления взвеси препарата, см^3;

m_7 — навеска препарата, г;

10^3 — переводной коэффициент мкг/г в г/кг.

За результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, которые не должны отличаться от среднего значения более чем на 10% (отн.).

3.6. Определение подлинности (идентичности)

Сущность метода заключается в хроматографическом разделении на бумаге гризина на компоненты и проявлении хроматограммы нингидриновым красителем и биоавтографическим методом и последующем сравнении полученной хроматограммы с хроматограммой стандартного образца гризина, проявленной аналогичным способом.

3.6.1. *Аппаратура, материалы, реактивы, растворы*

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104—80, 1-го и 2-го классов точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Аппарат для встряхивания жидкостей.

Камера или эксикатор для хроматографии диаметром 28—32 см.

Электровентилятор бытовой по ГОСТ 7402—84 или электрофен бытовой по ГОСТ 22314—84.

Пипетка исполнения 8, 2-го класса точности вместимостью 0,1 $см^3$ по ГОСТ 20292—74.

Колбы конические вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 25336—82.

Цилиндры мерные вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 1770—74.

Ступка фарфоровая по ГОСТ 9147—80.

Бумага хроматографическая по ГОСТ 10395—75.

Мензурки стеклянные вместимостью 50 $см^3$ по ГОСТ 1770—74.

Воронки диаметром 36, 56 мм, высотой 80 мм по ГОСТ 25336—82.

Циркуль по ГОСТ 21469—82.

Ножницы по ГОСТ 21239—77.

Линейка по ГОСТ 14735—69.

Лоток стеклянный из оргстекла или чашки Петри по ГОСТ 25336—82.

Кислота соляная по ГОСТ 3118—77, растворы концентраций 0,01 и 0,2 моль/$дм^3$.

Кислота уксусная по ГОСТ 61—75.

Бутанол-1 по ГОСТ 6006—78.

Спирт этиловый по ГОСТ 18300—87 или по ГОСТ 5962—67.

Пиридин по ГОСТ 13647—78.

Нингидрин, 0,25%-ный раствор в этаноле, содержащем 1% уксусной кислоты.

Гризина стандартный образец, раствор с активностью 1000 ЕД в 1 $см^3$ в соляной кислоте концентрации 0,01 моль/$дм^3$.

3.6.2. *Подготовка к испытанию*

3.6.2.1. *Приготовление испытуемой пробы*

5 г препарата помещают в ступку и растирают при добавлении 25 $см^3$ раствора соляной кислоты концентрации 0,2 моль/$дм^3$. Суспензию переносят в колбу, ступку обмывают 25 $см^3$ раствора соляной кислоты концентрации 0,2 моль/$дм^3$ и также сливают в колбу. Колбу закрывают пробкой, ставят на аппарат для встряхивания на 30 мин. Затем содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр.

Фильтрат используют для проведения испытания.

3.6.2.2. *Подготовка хроматографической камеры*

В камеру или эксикатор ставят стаканчик со смесью растворителей, состоящей из бутанола-1, пиридина, уксусной кислоты и воды в соотношении 15 : 10 : 3 : 12. На дно камеры кладут фильтровальную бумагу, смоченную этой же смесью.

3.6.2.3. *Подготовка хроматографической бумаги*

Из листа хроматографической бумаги вырезают круги диаметром 28—32 см (в зависимости от размера камеры). Из центра круга циркулем проводят окружность радиусом 2 см. Круг делят на шесть разных секторов, в центре круга делают отверстие диаметром 0,5 см для фитиля, который скручивают из кусочка фильтровальной бумаги.

3.6.2.4. *Подготовка газона для биоавтографии*

В стеклянный лоток наливают 100 $см^3$ голодной агаровой среды и 80 $см^3$ питательной агаровой среды с тест-культурой Bac. subtilis 6633.

3.6.3. *Проведение испытания*

3.6.3.1. На два противоположных сектора круга (на отрезок дуги внутренней окружности) микропипеткой наносят раствор стандартного образца гризина в соляной кислоте концентрации 0,01 моль/$дм^3$ в количестве 0,1 $см^3$. Таким же образом наносят растворы двух испытуемых проб. Для кормогризина-40 объем наносимой пробы составляет 0,025 $см^3$, для кормогризина-10— 0,1 $см^3$. При нанесении проб хроматограммы периодически просушивают феном. После нанесения проб в отверстие в центре диска вставляют фитиль и хроматограмму помещают в камеру так, чтобы фитиль был погружен в растворитель.

Для лучшего разделения компонентов гризинового комплекса хроматографирование проводят в течение 15—16 ч. После окончания процесса хроматограмму вынимают из камеры и высушивают в вытяжном шкафу. Затем хроматограмму разрезают по диаметру на две части, так чтобы в каждой из них был сектор со стандартным образцом и секторы с двумя исследуемыми образцами.

3.6.3.2. Одну половину хроматограммы проявляют биоавтографическим способом, для чего из каждого сектора хроматограммы в радиальном направлении вырезают полоски шириной 0,5 см и накладывают их на газон с тест-культурой параллельно одна другой на расстоянии 2 см, совмещая их стартовую линию. На обратной стороне лотка отмечают стартовую линию и положение каждой полоски. Через 3—5 мин полоски снимают пинцетом.

Лоток с газоном помещают в термостат с температурой 37°С на 18—20 ч.

3.6.3.3. Вторую половину хроматограммы опрыскивают 0,25%-ным раствором нингидрина в эталоне с 1%-ным раствором уксусной кислоты и высушивают в вытяжном шкафу. Из нингидриноокрашенных полосок хроматограммы стандартного образца и соответствующих им полосок хроматограммы испытуемых проб в радиальном направлении вырезают квадраты размером 0,5×

×0,5 см и накладывают их на газон с тест-культурой. Лоток с газоном помещают в термостат с температурой 37°С на 18—20 ч.

3.6.4. *Обработка результатов*

Появление нингидриноокрашенных компонентов на хроматограмме, совпадающих по положению с нингидриноокрашенными компонентами стандартного образца гризина, а также зон задержки роста тест-культуры от испытуемых компонентов пробы свидетельствует о подлинности препарата.

3.7. Определение токсичности

3.7.1. *Аппаратура*

Ступка фарфоровая по ГОСТ 9147—80.

Шприц по ГОСТ 22967—82.

Иглы инъекционные по ГОСТ 25377—82.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72.

3.7.2. *Проведение испытания*

Препарат тщательно растирают в ступке при непрерывном добавлении воды с таким расчетом, чтобы 1 $см^3$ суспензии содержал 200 мг препарата.

Отбирают пять мышей массой 18—20 г и вводят перорально каждой мыши по 0,5 $см^3$ суспензии (из расчета 100 мг препарата на мышь) с помощью инъекционной иглы, на которую направляют оливу диаметром не более 1 мм.

3.7.3. *Обработка результатов*

Препарат считают нетоксичным, если все мыши остаются живыми в течение трех последующих дней наблюдения. При гибели хотя бы одной мыши в повторном опыте препарат бракуют.

Каждую мышь используют в опыте один раз.

3.8. Определение зараженности вредителями — по ГОСТ 13496.13—75.

3.9. Определение поваренной соли — по ГОСТ 13496.1—74.

4. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

4.1. Транспортирование

4.1.1. Кормогризин транспортируют всеми видами транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок грузов, действующими на каждом виде транспорта.

4.2. Хранение

4.2.1. Кормогризин хранят в сухих, защищенных от атмосферных осадков помещениях при температуре не выше плюс 28 и не ниже минус 28°С.

4.2.2. Не допускается хранение кормогризина вместе с ядохимикатами.

5. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

5.1. Изготовитель гарантирует соответствие кормогризина требованиям настоящего стандарта при соблюдении условий хранения.

5.2. Гарантийный срок хранения кормогризина — 1 год со дня изготовления препарата.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН** Минмедбиопромом СССР

   ИСПОЛНИТЕЛИ

   А. Н. Саприн, А. В. Гарбузов, В. Н. Ковалев, В. Д. Перепелкина, Т. Ф. Пугачева

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 26.07.88 № 2752

3. **Стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 5896—87**

4. **ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

5. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 12.1.005—76	1.3.6
ГОСТ 12.1.008—75	1.3.5
ГОСТ 12.2.003—74	1.3.4
ГОСТ 61—75	3.6.1
ГОСТ 1770—74	3.5.1; 3.6.1
ГОСТ 2226—75	1.5.1
ГОСТ 3118—77	3.5.1; 3.6.1
ГОСТ 4198—75	3.5.1
ГОСТ 4233—77	3.5.1
ГОСТ 4328—77	3.5.1
ГОСТ 4601—73	3.4.1
ГОСТ 5962—67	3.6.1
ГОСТ 6006—78	3.6.1
ГОСТ 6309—87	1.5.2
ГОСТ 6709—72	3.7.1
ГОСТ 7402—84	3.6.1
ГОСТ 8284—78	3.5.1
ГОСТ 9147—80	3.5.1; 3.6.1; 3.7.1
ГОСТ 9586—75	3.5.1
ГОСТ 10354—82	1.5.1
ГОСТ 10395—75	3 6.1
ГОСТ 12026—76	3.5.1
ГОСТ 13496.1—74	3.9
ГОСТ 13647—78	3.6.1
ГОСТ 13496.13—75	3.8
ГОСТ 13805—76	3.5.1
ГОСТ 14192—77	1.4.1
ГОСТ 14735—69	3.6.1
ГОСТ 14961—85	1.5.2
ГОСТ 16280—70	3.5.1

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 17206—84	3.5.1
ГОСТ 17308—85	1.5.2
ГОСТ 17811—78	1.5.1
ГОСТ 18251—87	1.5.2
ГОСТ 18300—87	3.6.1
ГОСТ 20292—74	3.6.1
ГОСТ 20729—75	3.5.1
ГОСТ 20730—75	3.5.1
ГОСТ 21239—77	3.6.1
ГОСТ 21469—82	3.6.1
ГОСТ 22280—76	3.5.1
ГОСТ 22314—84	3.6.1
ГОСТ 22967—82	3.7.1
ГОСТ 24104—80	3.3.1; 3.4.1; 3.5.1; 3.6.1
ГОСТ 25336—82	3.3.1; 3.5.1; 3.6.1
ГОСТ 25377—82	3.7.1

Редактор *А. А. Зимовнова*
Технический редактор *М. И. Максимова*
Корректор *А. М. Трофимова*

Сдано в наб. 08.08.88. Подп. в печ. 23.09.88 1,25 усл. п. л. 1,25 усл. кр.-отт. 1,15 уч.-изд. л. Тир. 4000 Цена 5 коп.

» Издательство стандартов, 123840, Москва, ГСП, Новопресненский пер., 3
... «Московский печатник». Москва, Лялин пер., 6. Зак. 2698

gost.e-ecolog.ru