

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ВИТАМИН В₁₂ КОРМОВОЙ

ГОСТ
18663—78

Технические условия

Vitamin B₁₂, feed grade.
Specifications

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 В₁₂, получаемый сбраживанием барды ацетоно-бутилового производства метанобразующими бактериями с последующим концентрированием путем выпаривания и сушки.

Кормовой витамин В₁₂ предназначен для витаминизации кормов, используемых в животноводстве и птицеводстве.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Кормовой витамин В₁₂ должен изготавливаться 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 В₁₂ должны применяться следующие сырье и вспомогательные материалы:

барда ацетоно-бутилового производства с массовой долей сухих веществ 1,4—2,5 % и с рН, 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).

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		
Запах		
Массовая доля влаги, %, не более		
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	8,0	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.

С. 3 ГОСТ 18663—78

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-микroба *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 см³, 500 и 250 см³;

колбы стеклянные лабораторные по ГОСТ 25336—82 вместимостью 100 см³;

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

пипетки вместимостью 2—5 и 10 см³;

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;
 $d\text{-}l$ -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 см³, добавляют 500 см³ 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 °C, а затем на плите с асбестовой сеткой.

Из полученного гидролизата под вакуумом отгоняют соляную кислоту до получения густого сиропа. Затем добавляют 300 см³ дистиллированной воды и снова отгоняют до получения густого сиропа. Указанную операцию повторяют еще раз.

Оставшуюся массу растворяют в 100 см³ дистиллированной воды, доводят pH до 3,5 5 н. раствором едкого натра, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и доливают до метки дистиллированной водой.

Добавляют 20 см³ 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 см³ и стерилизуют в автоклаве при 1 кгс/см² в течение 20 мин и затем охлаждают. Раствор хранят в холодильнике под слоем толуола.

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

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

Состав агаровой среды в расчете на 100 см³:

- казеиновый кислотный 10 %-ный гидролизат — 6 см³;
- 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 B₁₂ — 10 мкг;
- вода дистиллированная — до 100 см³.

В колбу вместимостью 100 см³ 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 B₁₂ и смесь тщательно перемешивают. Смесь разливают по 5 см³ в пробирки и стерилизуют 15 мин под давлением 1 кгс/см².

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

3.5.2.3. Приготовление основной среды

Состав среды в расчете на 1000 см³:

- калий фосфорнокислый двузамещенный — 7 г;
- калий фосфорнокислый однозамещенный — 3 г;