



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

**ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ.
БУЛЬОН МЯСО-ПЕПТОННЫЙ
(ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНЫХ ЦЕЛЕЙ)**

ГОСТ 20730—75

Издание официальное

Цена 5 коп.

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СТАНДАРТОВ
СОВЕТА МИНИСТРОВ СССР
Москва**

**РАЗРАБОТАН Всесоюзным Государственным научно-контрольным
институтом ветеринарных препаратов**

Директор Бойко А. А.

Руководитель темы: Простяков А. П.

Исполнители темы: Агапова З. А., Цыганкова С. И., Голикова Г. А.

ВНЕСЕН Министерством сельского хозяйства СССР

Член коллегии Третьяков А. Д.

**ПОДГОТОВЛЕН К УТВЕРЖДЕНИЮ Всесоюзным научно-исследова-
тельским институтом стандартизации (ВНИИС)**

Директор Гличев А. В.

**УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государст-
венного комитета стандартов Совета Министров СССР от 9 апреля
1975 г. № 899**

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ.

БУЛЬОН МЯСО-ПЕПТОННЫЙ

(ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНЫХ ЦЕЛЕЙ)

Nutrient media.
Meat-pepton broth (for veterinary)

**ГОСТ
20730—75**

Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 9 апреля 1975 г. № 899 срок действия установлен

с 01.01 1976 г.

до 01.01 1981 г.

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на мясо-пептонный бульон, представляющий собой питательный раствор, предназначенный для выращивания микроорганизмов.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Мясо-пептонный бульон должен изготавливаться в соответствии с действующими правилами по ведению технологического процесса, утвержденными в установленном порядке.

1.2. Мясо-пептонный бульон по физико-химическим, биохимическим и биологическим показателям должен соответствовать требованиям и нормам, указанным в табл. 1.

Таблица I

Наименование показателей	Характеристика и нормы
Внешний вид	Прозрачная жидкость
Цвет	Желтый
Запах	Специфический, свежего мясного экстракта и пептона
Наличие механической примеси, плесени, хлопьев и осадка	Не допускается
Содержание общего азота, %, не менее	0,40



Продолжение

Наименование показателей	Характеристика и нормы
Содержание азота аминогрупп, аминокислот и низших пептидов, %, не менее	0,09
Содержание пептонов, %, не менее	2,7
Содержание сухого вещества, %	3,0—3,4
Содержание белка, %, не более	0,5
Содержание хлористого натрия, %	0,5
Концентрация водородных ионов (рН)	7,2—7,6
Стерильность	Посев на питательные среды не должен давать роста микрофлоры в течение трех суток в термостате при 37—38°C
Способность поддерживать рост микробов, оптическая плотность, не менее.	
Staphylococcus aureus «Лассманов»	0,70
Escherichia coli штамм 675	0,75
Streptococcus faecalis штамм 6783	0,40

2. ПРАВИЛА ПРИЕМКИ

2.1. Мясо-пептонный бульон сдают и принимают сериями.

2.2. Каждая серия мясо-пептонного бульона на предприятиях биологической промышленности Министерства сельского хозяйства ССР должна быть принята государственным контролером Всесоюзного государственного научно-контрольного института ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства ССР.

2.3. Под серией следует понимать любое количество мясо-пептонного бульона, изготовленное за один технологический цикл, в одной емкости (реакторе) и оформленное одним документом о качестве.

2.4. Для проверки качества препарата от каждой серии мясо-пептонного бульона более 50 л отбирают 2 л, при объеме менее 50 л — 0,6 л.

Если вся серия мясо-пептонного бульона расфасована в бутыли, делают выборку в количестве одной бутыли. Если мясо-пептонный бульон расфасован во флаконы, составляют выборку такого количества флаконов, чтобы объем мясо-пептонного бульона в отобранных флаконах соответствовал указанной выше норме, которая установлена в зависимости от общего объема серии мясо-пептонного бульона.

2.5. При получении неудовлетворительных результатов испытаний хотя бы по одному из показателей серию мясо-пептонного

бульона считают не соответствующей требованиям настоящего стандарта.

2.6. Контрольную проверку образцов по требованию потребителя проводит Всесоюзный государственный научно-контрольный институт ветеринарных препаратов Министерства сельского хозяйства СССР.

3. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

3.1. Методы отбора проб

3.1.1. Пробу мясо-пептонного бульона в количестве 2 или 0,6 л (в зависимости от объема серии препарата) отбирают из реактора или бутыли стерильно.

Пробу объемом 2 л расфасовывают в 10 флаконов по 200 мл. Пять флаконов используют для анализа, а пять — оставляют в архиве государственного контролера.

Пробу, отобранныю от серии мясо-пептонного бульона объемом менее 50 л, в архиве не оставляют.

3.2. Внешний вид, цвет, наличие механической примеси, плесени, хлопьев и осадка устанавливают, просматривая флаконы и бутыли с мясо-пептонным бульоном в проходящем свете, для чего флаконы встряхивают, переворачивая вниз пробками, а бутыли покачивают.

3.3. Запах мясо-пептонного бульона определяют в пробе органолептически.

3.4. Определение содержания общего азота

3.4.1. Аппаратура и реагенты

Для проведения испытания применяют:

весы аналитические;

колбу Кельдаля вместимостью 50—100 мл по ГОСТ 10394—63; аппарат микро-Кельдаль;

элемент нагрева (плитку, горелку);

пипетки на 1, 2, 5 мл по ГОСТ 1770—64;

бюретки по ГОСТ 1770—64;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72;

кислоту серную по ГОСТ 4204—66, концентрированную и 0,1 н. раствор;

натрия гидрат окиси по ГОСТ 4328—66, 30—33%-ный и 0,1 н. растворы, приготовленные на предварительно прокипяченной дистиллированной воде;

перекись водорода по ГОСТ 10929—64;

метиловый красный по ГОСТ 5853—51;

метиленовую синь;

спирт этиловый ректифицированный по ГОСТ 5962—67;

метиловый оранжевый по ГОСТ 10816—64, 0,1%-ный раствор

3.4.2. Проведение испытания

Мясо-пептонный бульон в количестве 1 мл помещают в колбу Кильдаля и прибавляют 2 мл концентрированной серной кислоты. В горло колбы вставляют стеклянный грушевидный баллончик или небольшую воронку с запаянным кончиком и минерализуют пробу сначала на слабом огне, затем степень нагрева усиливают, не допуская выбрасывания кипящей смеси в узкую часть колбы. Минерализацию проводят в присутствии катализатора — перекиси водорода. Катализатор добавляют после начала кипения по 0,5 мл через каждые 15—20 мин до полного обесцвечивания раствора.

После охлаждения содержимое колбы переносят в колбу для отгона, добавляя 10—12 мл дистиллированной воды. Полноту переноса проверяют по индикатору метиловому оранжевому. Последняя порция смывных вод должна остаться желтой.

В приемную колбу аппарата Кильдаля наливают 20 мл 0,1 н. раствора серной кислоты и 2 капли индикатора Таширо. Индикатор Таширо готовят, растворяя 0,4 г метилового красного и 0,2 г метиленовой сини в 200 мл 96%-ного этилового спирта.

Отгонную колбу присоединяют к холодильнику и парообразователю. Содержимое отгонной колбы нейтрализуют 30—33%-ным раствором гидрата окиси натрия по индикатору метиловому оранжевому. Отгон производят до тех пор, пока в приемной колбе соберется около 70 мл раствора.

Содержимое приемной колбы титруют 0,1 н. раствором гидрата окиси натрия до перехода окраски раствора от лилового к зеленому.

Одновременно ставят контрольный опыт на реактивы, для чего вместо мясо-пептонного бульона в колбу для минерализации берут 1 мл дистиллированной воды.

3.4.3. Обработка результатов

Содержание общего азота в мясо-пептонном бульоне (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{(VK - V_1K_1) \cdot 0,0014 \cdot 100}{V_2},$$

где V — количество 0,1 н. раствора серной кислоты, налитое в приемную колбу, мл;

K — поправочный коэффициент к титру 0,1 н. серной кислоты;

V_1 — количество 0,1 н. раствора гидрата окиси натрия, израсходованное на титрование испытуемой пробы, или в контрольном опыте, мл;

K_1 — поправочный коэффициент к титру 0,1 н. раствора гидрата окиси натрия;

V_2 — количество мясо-пептонного бульона, взятое на анализ, мл; 0,0014 — количество азота, соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора серной кислоты, г.

За окончательный результат испытания принимают разность между средними арифметическими двух параллельных определений в опытных и контрольных пробах. Допускаемые расхождения между результатами двух параллельных определений не должны превышать $\pm 0,5\%$.

3.5. Определение содержания азота аминогрупп аминокислот и низших пептидов

3.5.1. Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения испытания применяют:

pH-метр;

стаканы лабораторные по ГОСТ 10394—63;

пипетки, бюретки по ГОСТ 1770—64;

формалин технический по ГОСТ 1625—61;

натрия гидрат окиси по ГОСТ 4328—66, 0,1 н. раствор;

фенолфталеин по ГОСТ 5850—72, 1%-ный спиртовой раствор;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72.

3.5.2. Подготовка к испытанию

Непосредственно перед проведением анализа готовят формольную смесь. Для этого к 50 мл формалина добавляют 1 мл 1%-ного раствора фенолфталеина и 0,1 н. раствором гидрата окиси натрия доводят смесь до слаборозового цвета.

3.5.3. Проведение испытания

К 2 мл мясо-пептонного бульона приливают 18 мл дистиллированной воды и доводят 0,1 н. раствором гидрата окиси натрия pH смеси до 7,0. Затем приливают 2 мл формольной смеси и при постоянном перемешивании потенциометрически титруют 0,1 н. раствором гидрата окиси натрия до pH 9,2.

Одновременно ставят контрольный опыт на реактивы, для чего вместо 2 мл мясо-пептонного бульона берут 2 мл дистиллированной воды.

3.5.4. Обработка результатов

Содержание азота аминогрупп аминокислот и низших пептидов в мясо-пептонном бульоне (X_1) в процентах вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{(V - V_1) \cdot K \cdot 0,0014 \cdot 100}{2},$$

где V — количество 0,1 н. раствора гидрата окиси натрия, израсходованное на титрование испытуемой пробы, мл;

V_1 — количество 0,1 н. раствора гидрата окиси натрия, израсходованное на титрование в контрольном опыте, мл;

K — поправочный коэффициент к титру 0,1 н. раствора гидрата окиси натрия;

0,0014 — количество азота, соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора гидрата окиси натрия, г;

2 — количество мясо-пептонного бульона, взятое на анализ, мл.

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

3.6. Определение содержания пептона

3.6.1. Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения испытания применяют:

фотоэлектроколориметр или спектрофотометр;

пипетки по ГОСТ 1770—64;

пробирки по ГОСТ 10515—63;

фильтры бумажные;

воронки стеклянные по ГОСТ 8613—64;

натрия гидрат окиси по ГОСТ 4328—66, 10%-ный раствор;

медь сернокислую по ГОСТ 4165—68, 2%-ный раствор;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72.

3.6.2. Подготовка к испытанию

3.6.2.1. При построении градуировочного графика по оси абсцисс откладывают концентрацию истинного пептона в процентах, по оси ординат — оптическую плотность (E) согласно данным, приведенным в табл. 2.

Таблица 2

Концентрация истинного пептона, %	Оптическая плотность E
0,50	0,550
0,25	0,280
0,17	0,190

3.6.3. Проведение испытания

В пробирку наливают 10 мл мясо-пептонного бульона в разведении 1 : 10, прибавляют по 1 мл 10%-ного раствора гидрата окиси натрия и 2%-ного раствора сернокислой меди. Смесь после добавления каждого реагента хорошо встряхивают.

Одновременно проводят контрольный опыт на реактивы, для чего вместо 10 мл разведенного мясо-пептонного бульона берут 10 мл дистиллированной воды.

Через 2 мин смесь фильтруют через бумажные фильтры. Интенсивность окраски измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волн 540—560 нм или спектрофотометре при 540 нм в кюветах с рабочей длиной 10 мм.

3.6.4. Обработка результатов

Концентрацию истинного пептона в мясо-пептонном бульоне определяют по градуировочному графику.

Оптическая плотность (E) мясо-пептонного бульона равна разности оптических плотностей в опыте с испытуемой пробой и в

контрольном опыте. Полученную по графику концентрацию истинного пептона умножают на 10 (т. е. на разведение мясо-пептонного бульона).

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Допускаемые расхождения между результатами параллельных определений не должны превышать $\pm 5\%$.

3.7. Определение содержания сухого вещества

3.7.1. Аппаратура

Для проведения испытания применяют:

весы аналитические;

шкаф сушильный лабораторный по ГОСТ 7365—55;

эксикаторы по ГОСТ 6371—64;

стаканчики для взвешивания (бюксы) по ГОСТ 7148—70;

пипетки по ГОСТ 1770—64.

3.7.2. Проведение испытания

В предварительно высушеннную до постоянной массы бюксу взвешивают с погрешностью не более 0,0002 г мясо-пептонный бульон в количестве 1,0—1,2 г. Затем бюксу с мясо-пептонным бульоном высушивают в сушильном шкафу при температуре 100—105°C до постоянной массы. Высушивание продолжают до тех пор, пока разность между двумя последующими взвешиваниями будет не более 0,0002 г.

Приложение. Увеличение массы при одном из взвешиваний в процессе высушивания при расчете не учитывают.

3.7.3. Обработка результатов

Содержание сухого вещества в мясо-пептонном бульоне (X_2) в процентах вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{(m_2 - m) \cdot 100}{(m_1 - m)},$$

где m — масса пустой бюксы с крышкой, г;

m_1 — масса бюксы с крышкой и с мясо-пептонным бульоном до высушивания, г;

m_2 — масса бюксы с крышкой и с мясо-пептонным бульоном после высушивания, г.

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

3.8. Определение содержания белка (по методу Лоурис)

3.8.1. Аппаратура и реактивы

Для проведения испытания применяют:

фотоэлектроколориметр;
пробирки стеклянные по ГОСТ 10515—63;
пипетки по ГОСТ 1770—64;
фильтры бумажные;
натрия гидрат окиси по ГОСТ 4328—66, 0,1 н. раствор;
натрий углекислый по ГОСТ 84—66;
натрий виннокислый по ГОСТ 656—73 или калий виннокислый
двузамещенный по ГОСТ 3655—71, 1%-ный раствор;
медь сернокислую по ГОСТ 4165—68;
натрий вольфрамовокислый по ГОСТ 18289—72;
натрий молибденовокислый по ГОСТ 10931—64;
кислоту ортофосфорную 85%-ную;
кислоту соляную по ГОСТ 3118—67;
литий сернокислый по ГОСТ 10563—63;
бром по ГОСТ 4109—64;
воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72.

3.8.2. Подготовка к испытанию

Приготовление реактива А

Навеску углекислого натрия массой 2 г, взвешенную с погрешностью не более 0,02 г, растворяют в 100 мл 0,1 н. раствора гидрата окиси натрия. Если раствор мутный, то перед определением его надо профильтровать.

Приготовление реактива В

Навеску сернокислой меди массой 0,5 г, взвешенную с погрешностью не более 0,02 г, растворяют в 100 мл 1%-ного раствора двузамещенного виннокислого натрия или калия. Если раствор мутный, то перед определением его надо профильтровать.

Приготовление реактива С

Реактив С готовят непосредственно перед определением путем смешивания 50 частей реактива А и 1 части реактива В.

Приготовление реактива Д

Реактив Д (реактив Фолина) готовят в круглодонной на 1 л колбе из огнеупорного стекла с обратным холодильником.

В колбу помещают 100 г вольфрамовокислого натрия, 25 г молибденовокислого натрия и 700 мл дистиллированной воды. После полного растворения солей в колбу добавляют 50 мл 85%-ной ортофосфорной кислоты и 100 мл концентрированной соляной кислоты. Содержимое колбы ссторожно, но хорошо перемешивают. К колбе присоединяют обратный холодильник и смесь кипятят (не слишком сильно) в течение 10 ч. Кипячение можно вести с перерывом, но учитывают лишь период кипения.

После окончания кипячения в смесь добавляют 150 г сернокислого лития, 50 мл дистиллированной воды и 5 капель брома (осторожно). Для удаления излишка брома раствор кипятят 15 мин без холодильника под тягой. После охлаждения готовый раствор

доводят в мерной колбе до 1 л, фильтруют через бумажный фильтр и хранят в темной склянке с притертой пробкой в темном месте. Реактив Д должен быть соломенно-желтого цвета без зеленого оттенка, затем в реактиве определяют концентрацию кислоты. Для этого приготовленный реактив разводят дистиллированной водой 1 : 10 (1 мл реактива и 9 мл воды) и титруют 0,1 н. раствором гидраты окиси натрия по фенолфталеину (3—4 капли). Кислотность рассчитывают делением количества миллилитров 0,1 н. щелочи, израсходованного на титрование 1 мл реактива Д, на 10. Реактив Д имеет кислотность 1,6—2,3 Н.

Приготовление реактива Е

Реактив Е является реактивом Д, разведенным до 1 н. раствора. Например, если реактив Д является 2,3 н. раствором кислоты, то для приготовления 1 н. раствора Е надо брать 10 мл реактива Д и 13 мл дистиллированной воды

Построение градуировочного графика для определения белка

Готовят ряд растворов с определенным содержанием белка находящей концентрации от 0,10 до 0,01 %, с которыми ставят цветную реакцию по п. 3.8.3. Для приготовления растворов можно использовать альбумин, миозин, нативную сыворотку. Содержание белка в растворах определяют по Кельдалю. Интенсивность окраски измеряют на фотоэлектроколориметре против воды. Из оптической плотности растворов белка вычитают оптическую плотность контроля на реактивы и полученную величину откладывают по оси ординат. По оси абсцисс откладывают концентрацию белка в растворе (в процентах или в миллиграммах).

Разведение исследуемого образца для постановки цветной реакции выбирают такое, чтобы основное количество замеров по величине оптической плотности лежало в пределах 0,2—0,8, где точность измерения наиболее высокая.

3.8.3. Проведение испытания

В пробирку наливают 1 мл разведенного 1 : 10 мясо-пептонного бульона, добавляют 5 мл реактива С, перемешивают и через 10 мин добавляют 0,5 мл реактива Е. Одновременно ставят контроль на реактивы, для чего вместо мясо-пептонного бульона берут 1 мл дистиллированной воды и добавляют те же реактивы, что и в пробирку с мясо-пептонным бульоном. Смесь хорошо перемешивают и ставят в темное место на 30—40 мин.

Интенсивность окраски измеряют на фотоэлектроколориметре с красным фильтром (630—640 нм) против воды в 5-миллиметровых кюветах. Из величин оптической плотности испытуемого образца вычитают величину оптической плотности контроля на реактивы. По полученным значениям оптической плотности растворов с помощью градуировочного графика определяют содержание бел-

ка в пробах. При расчете содержания белка в пробе учитывают кратность разведения перед постановкой цветной реакции.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Допускаемые расхождения между результатами параллельных определений не должны превышать $\pm 0,05\%$.

3.9. Определение содержания хлорида натрия

3.9.1. Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения испытания применяют:

весы аналитические;

элемент нагрева (горелку, плитку);

пипетки по ГОСТ 1770—64;

бюretки по ГОСТ 1770—64;

стаканы лабораторные по ГОСТ 10394—63;

квасцы железоаммонийные по ГОСТ 4205—68, насыщенный раствор;

калий роданистый по ГОСТ 4139—65 или аммоний роданистый по ГОСТ 3768—64, 0,1 н. раствор;

кислоту азотную по ГОСТ 4461—67, концентрированную;

серебро азотнокислое по ГОСТ 1277—63, 0,1 н. раствор;

воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72.

3.9.2. Проведение испытания

Мясо-пептонный бульон в количестве 20 мл помещают в стакан и добавляют 1 мл концентрированной азотной кислоты и 10 мл 0,1 н. раствора азотнокислого серебра.

Полученную смесь нагревают до начала кипения и быстро охлаждают путем погружения стакана в сосуд с водой комнатной температуры. После охлаждения к смеси добавляют 2 мл насыщенного раствора железоаммонийных квасцов и титруют 0,1 н. раствором роданистого калия (или роданистого аммония) до появления желтовато-розового окрашивания.

3.9.3. Обработка результатов

Содержание хлорида натрия в мясо-пептонном бульоне (X_3) в процентах вычисляют по формуле

$$X_3 = \frac{(V_K - V_1 K_1) \cdot 0,005844 \cdot 100}{V},$$

где V — количество 0,1 н. раствора азотнокислого серебра, взятое в стакан с пробой, мл;

K — поправочный коэффициент к титру 0,1 н. раствора азотнокислого серебра;

V_1 — количество 0,1 н. раствора роданистого калия (или роданистого аммония), израсходованное на титрование испытуемой пробы, мл;

K_1 — поправочный коэффициент к титру 0,1 н. раствора роданистого калия (или роданистого аммония);
 0,005844 — количество хлорида натрия, соответствующее 1 мл
 0,1 н. раствора азотнокислого серебра;

V_2 — количество мясо-пептонного бульона, взятое на анализ,
 мл.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Допускаемые расхождения между результатами параллельных определений не должны превышать $\pm 0,01\%$.

3.10. Определение концентрации водородных ионов (рН)

3.10.1. Аппаратура и материалы

Для проведения испытания применяют:

рН-метр;

стаканы лабораторные по ГОСТ 10394—63;

воронки стеклянные;

фильтры бумажные.

3.10.2. Проведение испытания

Мясо-пептонный бульон фильтруют через бумажный фильтр и в прозрачном фильтрате определяют рН по инструкции, приложенной к рН-метру.

3.11. Определение стерильности

3.11.1. Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения испытания применяют:

термостат с температурой нагрева 37—38°C;

автоклав;

флаконы вместимостью 200 мл;

пипетки по ГОСТ 1770—64;

пробирки стеклянные по ГОСТ 10515—63;

воронки стеклянные;

пробки ватномарлевые;

фильтры бумажные;

пептон сухой ферментативный по ГОСТ 13805—68;

агар микробиологический по ГОСТ 17206—71.

3.11.2. Подготовка к испытанию

Готовят в соответствии с действующей рецептурой, мясо-пептонный бульон (МПБ), мясо-пептонный агар (МПА) и мясо-пептонный-печеночный бульон (МППБ) под маслом (среда Китт-Тароцци). Среды разливают по 8—10 мл в пробирки, закрывают ватномарлевыми пробками и пергаментными колпачками и стерилизуют в автоклаве в течение 30 мин при 1,5 кгс/см².

3.11.3. Проведение испытания

Мясо-пептонный бульон (всю серию) в реакторе или в бутылях выдерживают в течение трех дней при комнатной температуре.

Взятую стерильно пробу мясо-пептонного бульона расфасовывают по 100 мл в четыре флякона вместимостью 200 мл. Затем высевают мясо-пептонный бульон в пробирки с МПБ, МПА и МППБ. Посевы производят в 6—8 пробирок с каждой средой. Посев производят добавлением в каждую пробирку по 0,2 мл испытываемого мясо-пептонного бульона. Пробирки и фляконы выдерживают в течение трех дней в термостате при температуре 37—38°C. Среды в пробирках и мясо-пептонный бульон во фляконах должны оставаться стерильными.

3.11.4. Обработка результатов

При наличии роста микрофлоры в реакторе или бутылях серия мясо-пептонного бульона бракуется. При наличии роста микрофлоры во всех фляконах и пробирках серия мясо-пептонного бульона также бракуется.

При наличии роста микрофлоры в одном фляконе или в одной из двух пробирок контроль на стерильность повторяют на удвоенном количестве фляконах и пробирок. При повторном росте микрофлоры серию мясо-пептонного бульона бракуют.

3.12. Определение способности поддерживать рост микробов

3.12.1. Аппаратура, материалы и реагенты

Для проведения испытания применяют:

весы технические;

термостат;

автоклав;

pH-метр;

пипетки по ГОСТ 1770—64;

бюrette по ГОСТ 1770—64;

пробирки стеклянные по ГОСТ 10515—63;

воронки стеклянные;

пробки ватномарлевые;

фильтры бумажные;

пептон сухой ферментативный по ГОСТ 13805—68;

агар микробиологический по ГОСТ 17206—71.

3.12.2. Подготовка к испытанию

Готовят согласно действующей рецептуре на основе испытуемого мясо-пептонного бульона мясо-пептонный агар, добавляя к бульону 2% микробиологического агара, и устанавливают pH среды 7,4.

Испытуемый мясо-пептонный бульон и приготовленный мясо-пептонный агар разливают по 8—10 мл в пробирки, закрывают ватномарлевыми пробками и пергаментными колпачками и стерилизуют в автоклаве в течение 30 мин при 1,5 кгс/см².

3.12.3. Проведение испытания

Стерильный мясо-пептонный бульон и мясо-пептонный агар засеивают суточными культурами: *Staphylococcus aureus* «Лассманов», *Escherichia coli*, штамм 675, *Streptococcus faecalis*, штамм 6783, полученными из Государственного научно-исследовательского института стандартизации и контроля медицинских препаратов им. Л. А. Тарасевича. Посев каждой культуры производят пастеровской петлей в три пробирки с МПБ и в три пробирки с МПА. Инкубацию проводят в течение 24 ч в термостате при 37—38°C.

Рост культуры должен быть типичным и обильным.

3.12.4. Обработка результатов

Типичность роста суточных культур определяют визуально и под микроскопом.

Интенсивность роста на МПА оценивают визуально, в МПБ — визуально и на фотоэлектроколориметре при длине волны 620—640 нм в кюветах с рабочей длиной 5 мм.

4. РАСФАСОВКА, УПАКОВКА, МАРКИРОВКА, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

4.1. Мясо-пептонный бульон стерильно расфасовывают в стеклянные бутыли (баллоны) вместимостью $10 \pm 0,5$ и 20 ± 1 л. Допускается более мелкая расфасовка — флаконы вместимостью 200 и 500 мл.

4.2. Бутыли закрывают стерильными резиновыми пробками по ГОСТ 7852—65, которые сверху завязывают пергаментной бумагой. Флаконы закрывают резиновыми пробками и закатывают алюминиевые колпачки.

4.3. На бутыли и флаконы наклеивают бумажные этикетки с указанием:

- наименования препарата;
- количества препарата в л;
- номера серии препарата;
- даты изготовления;
- срока годности;
- условий хранения;
- обозначения настоящего стандарта.

4.4. Мясо-пептонный бульон хранят в реакторе или в бутылях в чистом, сухом и темном помещении при температуре 4—10°C.

4.5. Мясо-пептонный бульон транспортируют всеми видами транспорта при соблюдении условий хранения, указанных в п. 4.4. Допускается транспортирование при более высокой температуре, но не выше 18°C, при этом срок транспортирования должен быть не более пяти суток.

4.6. Срок годности мясо-пептонного бульона 6 месяцев со дня изготовления. По истечении указанного срока мясо-пептонный бульон подвергают испытанию и в случае соответствия требованиям, установленным настоящим стандартом, срок годности может быть продлен еще на 3 месяца.

Редактор *Н. Е. Шестакова*

Технический редактор *В. Ю. Смирнова*

Корректор *И. Л. Хиниц*

Сдано в наб. 18 04 75

Подп. в печ. 25 05 75

1,0 п. л.

Тир. 6000

Цена 5 коп.

Издательство стандартов. Москва, Д-22, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник». Москва, Лялин пер., 6. Зак. 683

Изменение № 1 ГОСТ 20730—75 Питательные среды. Бульон мясопептонный (для ветеринарных целей)

Утверждено и введено в действие Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 28.06.89 № 2194

Дата введения 01.01.90

Наименование стандарта дополнить словами: «Технические условия»; «Specifications».

По всему тексту стандарта заменить единицу: мл на см³.

Пункт 1.1 изложить в новой редакции: «1.1. Мясопептонный бульон должен изготавливаться в соответствии с действующим технологическим регламентом из мясной воды по ГОСТ 20729—75 с добавлением 1 % пептона и 0,5 % хлорида натрия в разведениях 1:1, 1:2 и 1:4».

Пункт 1.2. Таблицу 1 изложить в новой редакции:

Таблица 1

Наименование показателя	Норма для разведений		
	1:1	1:2	1:4
Внешний вид	Прозрачная жидкость		
Цвет	Желтый	Светло-желтый	
Запах	Специфический, свежего мясного экстракта и пептона		
Наличие механической примеси, плесени, хлопьев и осадка	Не допускается		
Массовая доля общего азота, %, не менее	0,40	0,25	0,20
Массовая доля азота, аминогрупп, аминокислот и низших пептидов, %, не менее	0,09	0,06	0,04
Массовая доля пептонов, %, не менее	2,7	1,8	1,4
Массовая доля сухого вещества, %, не менее	3,0	2,0	1,1
Массовая доля белка, %, не более	0,60	0,40	0,30
Массовая доля хлористого натрия, %	$0,8 \pm 0,1$		
Концентрация водородных ионов (pH)	7,2 — 7,6		
Стерильность	Посев на питательные среды не должен давать роста микрофлоры в течение 3 сут в термостате при 37—38 °C		
Способность поддерживать рост микробов, оптическая плотность, не менее, для			
Staphylococcus aureus «Лоссманов»	0,70	0,30	Рост типичный
Escherichia coli штамм 675	0,75	0,40	To же
Streptococcus faecalis штамм 6783	0,40	0,25	

(Продолжение см. с. 262)

Пункты 3.4.1, 3.5.1, 3.6.1, 3.7.1, 3.8.1, 3.9.1, 3.11.1, 3.12.1. Заменить ссылку: ГОСТ 1770—64 на ГОСТ 1770—74.

Пункты 3.4.1, 3.5.1, 3.9.1, 3.10.1. Заменить ссылку: ГОСТ 10394—63 на ГОСТ 25336—82.

Пункт 3.4.1. Заменить ссылки: ГОСТ 4204—66 на ГОСТ 4204—77, ГОСТ 10929—64 на ГОСТ 10929—76; исключить ссылки: ГОСТ 5853—61, ГОСТ 10816—64.

Пункты 3.4.1, 3.5.1, 3.6.1, 3.8.1. Заменить ссылку: ГОСТ 4328—66 на ГОСТ 4328—77.

Пункт 3.5.1. Заменить ссылку: ГОСТ 1625—61 на ГОСТ 1625—75; исключить ссылку: ГОСТ 5850—72.

Пункты 3.6.1, 3.8.1, 3.11.1, 3.12.1. Заменить ссылку: ГОСТ 10515—75 на ГОСТ 25336—82.

Пункты 3.6.1, 3.8.1. Заменить ссылку: ГОСТ 4165—68 на ГОСТ 4165—78.

Пункт 3.6.1. Исключить слова: «фильтры бумажные», «воронки стеклянные по ГОСТ 8613—64»;

дополнить абзацем: «центрифуги настольные типа ОПН-8—14,2».

Пункт 3.6.3. Третий абзац. Заменить слова: «Через 2 мин смесь фильтруют через бумажные фильтры» на «Через 2 мин смесь центрифугируют 10 мин с частотой вращения 3000—4000⁻¹».

Пункт 3.7.1. Заменить ссылки: ГОСТ 6371—64 на ГОСТ 25336—82, ГОСТ 7148—70 на ГОСТ 25336—82; исключить ссылку: ГОСТ 7365—55.

Пункт 3.8.1. Заменить ссылки: ГОСТ 84—66 на ГОСТ 84—76, ГОСТ 18289—72 на ГОСТ 18289—78, ГОСТ 10931—64 на ГОСТ 10931—74, ГОСТ 4109—64 на ГОСТ 4109—79; исключить ссылки: ГОСТ 10563—63; ГОСТ 656—73, ГОСТ 3655—71.

Пункт 3.9.1. Заменить ссылки: ГОСТ 4205—68 на ГОСТ 4205—77, ГОСТ 4139—65 на ГОСТ 4139—75, ГОСТ 4461—67 на ГОСТ 4461—77, ГОСТ 1277—63 на ГОСТ 1277—75; исключить ссылку: ГОСТ 3768—64.

Пункт 3.9.2. Второй абзац изложить в новой редакции: «2 см³ мясопептонного бульона помещают в стакан, добавляют 20 см³ воды, 1 см³ концентрированной азотной кислоты и 10 см³ 0,1 н. раствора азотнокислого серебра».

Пункт 3.9.3. Формулу изложить в новой редакции:

$$X_3 = \frac{(VK - V_1 K_1) \cdot 0,005844 \cdot 100}{V_2} .$$

Пункты 3.11.1, 3.12.1. Заменить ссылки: ГОСТ 13805—68 на ГОСТ 13805—76, ГОСТ 17206—71 на ГОСТ 17206—84.

Раздел 4. Наименование. Исключить слово: «расфасовка».

Пункт 4.2. Исключить ссылку: ГОСТ 7852—65.

(ИУС № 11 1989 г.)