ГОСТ 28504—90

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ШКУРКИ МЕХОВЫЕ И ОВЧИНА ШУБНАЯ НЕВЫДЕЛАННЫЕ

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТРУКТУРНОЙ ПОВРЕЖДЕННОСТИ И БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЗАРАЖЕННОСТИ КОЖЕВОЙ ТКАНИ

Издание официальное

БЗ 10—2004

Москва
Стандартинформ
2006

gost.e-ecolog.ru

УДК 637.61:636.3.001:006.354 Группа М29

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ШКУРКИ МЕХОВЫЕ И ОВЧИНА ШУБНАЯ НЕВЫДЕЛАННЫЕ

Методы определения структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани

ГОСТ 28504—90

Undressed fur skins and woolskins. Methods for determination of structure damage and bacterial infection of flesh side

МКС 59.140.20
59.140.30
ОКСТУ 9800

Дата введения 01.01.92

Настоящий стандарт распространяется на невыделанные меховые шкурки и шубную овчину и устанавливает методы определения структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани меховых шкурок и шубной овчины всех способов консервирования с помощью исследований под микроскопом окрашенных гистологических срезов кожевой ткани и качественных реакций на водной вытяжке кожевой ткани.

Применение методов предусматривается на стадии научно-исследовательских и предварительных испытаний. Применение метода качественных реакций на водной вытяжке из кожевой ткани применяется при разногласиях в оценке качества сырья, поступившего на предприятия меховой промышленности.

1. МЕТОД ОТБОРА ОБРАЗЦОВ

1.1. Для определения структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани от производственной партии отбирают не менее 10 шкурок методом систематического отбора: первую шкурку отбирают произвольно, а последующие — через одинаковое число шкурок, равное частному от деления объема партии на объем выборки.

1.2. Из каждой отобранной шкурки в огузочной части или у основания задней лапки вырезают образцы размером 20 × 10 мм.

Для приготовления водной вытяжки кожевой ткани допускается отбор образцов в виде полосок, вырезанных по периметру шкурки.

1.3. При наличии на поверхности отобранных шкурок признаков поражения ее микроорганизмами образцы для анализов отбирают с пораженного и непораженного участков.

2. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ И РЕАКТИВЫ

2.1. Для проведения анализов должны применяться:
микротом замораживающий МЗ-2 по ТУ 64—1—2950;
микроскоп световой биологический Биолам Р по ТУ 3—3.154;
электрошкаф сушильный лабораторный по ТУ 16—681.032;
весы лабораторные по ГОСТ 24104;
термометр лабораторный;
стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284;
стекла покровные для микропрепаратов по ГОСТ 6672;

Издание официальное Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1990
© Стандартинформ, 2006

бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026;
колбы вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 25336;
шпатель по ГОСТ 10778*;
игла гистологическая препаровальная прямая;
пробки резиновые по ТУ 38 1051835;
вата по ГОСТ 5556;
воронки стеклянные по ГОСТ 25336;
пробирки стеклянные по ГОСТ 25336;
пипетка вместимостью 2 см^3 по ГОСТ 29169, ГОСТ 29227 — ГОСТ 29230;
ступка и пестик фарфоровые по ГОСТ 9147;
мензурка вместимостью 500 см^3 по ГОСТ 1770;
формалин технический по ГОСТ 1625, раствор с массовой долей 4 %;
соль поваренная пищевая по ГОСТ 13830**;
эозин по ТУ 6—09—4185, водный раствор с массовой долей 0,1 %;
спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300, раствор с объемной долей 96 % и 70 %;
метиленовый голубой по ТУ 6—14—937, водный и спиртовой раствор с массовой долей 1 %;
бура по ГОСТ 8429;
кислота уксусная по ГОСТ 61;
ацетон по ГОСТ 2603;
ксилол по ГОСТ 9949;
толуол по ГОСТ 5789;
вода дистиллированная по ГОСТ 6709;
бальзам кедровый сибирский по ТУ 81—05—80;
крахмал растворимый по ГОСТ 10163, раствор с массовой долей 0,5 %;
калий йодистый по ГОСТ 4232;
йод по ГОСТ 4159.

3. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

3.1. С образцов, отобранных по п. 1.2, состригают волосяной покров.

3.2. Подготовка к проведению микроскопического анализа

3.2.1. Раствор формалина с массовой долей 4 % готовят следующим образом: 4 г формалина с массовой долей 40 % растворяют в 100 см^3 водопроводной воды с добавлением 5 г поваренной соли на 100 см^3 раствора формалина.

3.2.2. Раствор этилового спирта с объемной долей 70 % готовят следующим образом: к 70 см^3 этилового спирта с объемной долей 96 % добавляют 26 см^3 дистиллированной воды.

3.2.3. Водный раствор эозина с массовой долей 0,1 % готовят следующим образом: 0,1 г эозина растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды при температуре (20 ± 2) °С.

3.2.4. Спиртовой раствор метиленового голубого с массовой долей 1 % (раствор № 1) готовят следующим образом: 1 г метиленового голубого растворяют в 100 см^3 этилового спирта с объемной долей 70 % при температуре (20 ± 2) °С.

3.2.5. Раствор метиленового голубого с бурой с массовой долей метиленового голубого 1 % (раствор № 2) готовят следующим образом: 2 г буры растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды, подогретой до (80 ± 2) °С, после чего добавляют 1 г метиленового голубого. Раствор выдерживают в помещении не менее месяца после приготовления при температуре не ниже (20 ± 2) °С.

3.2.6. Смесь красителей для окрашивания срезов готовят следующим образом: к 10 см^3 раствора № 1 (п. 3.2.4) добавляют 2—3 капли раствора № 2 (п. 3.2.5) и 10 см^3 дистиллированной воды.

3.2.7. Обезвоживающие срезы растворы, состоящие из ацетона, ксилола или толуола готовят в следующих соотношениях:

раствор № 3 — к 95 частям ацетона добавляют 5 частей ксилола или толуола;
раствор № 4 — к 70 частям ацетона добавляют 30 частей ксилола или толуола;
раствор № 5 — к 30 частям ацетона добавляют 70 частей ксилола или толуола.

3.2.8. Раствор кедрового сибирского бальзама готовят следующим образом: для получения густого раствора консистенции сиропа куски сухой смолы заливают растворителем (ксилолом или

* На территории Российской Федерации отменен.
** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51574—2000.

толуолом) с таким расчетом, чтобы он покрывал смолу. После растворения смолы выбирают раствор желательной консистенции или дают немного испариться растворителю, или добавляют еще сухой смолы. Растворение ускоряется при проведении процесса в сушильном электрошкафу при температуре 50—60 °С.

3.2.9. Обводнение кожевой ткани образцов, отобранных от консервированных шкурок, проводится в водопроводной воде с добавлением 3—5 г поваренной соли на 100 см^3 воды при температуре воды (30 ± 2) °С в течение 2 ч или при температуре воды (20 ± 2) °С в течение 5—6 ч при периодическом перемешивании. Объем воды должен быть не менее 400 см^3 на 10 образцов.

3.2.10. Фиксация кожевой ткани образцов проводится в растворе формалина с массовой долей 4 %. Продолжительность фиксации не менее 2 ч при температуре раствора формалина (30 ± 2) °С или 12—24 ч при температуре раствора (20 ± 2) °С. Объем фиксирующего раствора должен быть не менее 150 см^3 на 5 образцов.

3.2.11. После фиксации образцы кожевой ткани промывают в проточной воде не менее 1 ч.

3.2.12. Приготовление срезов с плоскостью сечения по ходу корней волос проводят на замораживающем микротоме. Толщина среза должна быть не более 40—60 мк. Срезы помещают в чашечки с дистиллированной водой.

3.2.13. Полученные срезы окрашивают в смеси красителей, приготовленной по п. 3.2.6, при температуре (20 ± 2) °С в течение 5—10 мин.

После окраски срезы промывают в течение 1—2 мин дистиллированной водой, дифференцируют быстрым погружением в подкисленной воде (2—4 капли уксусной кислоты на 20 см^3 дистиллированной воды) и дважды промывают в дистиллированной воде в течение 1—2 мин.

3.2.14. Окрашивание срезов в водном растворе эозина с массовой долей 0,1 % проводят в течение 2—3 мин с последующим промыванием в дистиллированной воде в течение 1—2 мин.

3.2.15. Обезвоживание срезов проводят в растворах, приготовленных по п. 3.2.7, последовательно перенося срезы через растворы № 3, 4 и 5.

Перенос срезов в указанные растворы и в последующий раствор чистого ксилола или толуола проводят на шпателе так, чтобы срез был полностью расправлен.

Перед погружением в раствор № 3 со среза осторожно удаляют излишек воды фильтровальной бумагой. После погружения срез сразу же вынимают и переносят в раствор № 4, где его оставляют на 5—6 мин, затем срез переносят в раствор № 5 на 10—15 мин. При загрязнении растворы заменяют новыми.

3.2.16. Просветление срезов проводят в чистом ксилоле или толуоле в течение 8—10 мин.

3.2.17. Окрашенные и обезвоженные срезы осторожно переносят с помощью шпателя и препаровальной иглы на предметное стекло, на поверхность среза наносят каплю кедрового бальзама и помещают под покровное стекло.

3.3. Подготовка к проведению анализа с помощью качественных реакций на водной вытяжке кожевой ткани

3.3.1. От каждого образца, отобранного по п. 1.2, берут навеску массой 1 г, взвешенную с погрешностью не более 0,1 г.

3.3.2. Водную вытяжку кожевой ткани с массовой долей 10 % готовят следующим образом: навеску кожевой ткани из образцов, приготовленных по п. 3.3.1, массой 10 г взвешивают с погрешностью не более 0,1 г, ополаскивают дистиллированной водой для снятия загрязнений с поверхности, измельчают и помещают в колбу вместимостью 100 см^3.

В колбу пипеткой вливают 100 см^3 кипяченой дистиллированной воды, охлажденной до температуры (20 ± 2) °С, закрывают пробкой, хорошо взбалтывают и оставляют в покое на 1 ч. Затем содержимое колбы взбалтывают и фильтруют через вату в сухую колбу.

3.3.3. Водный раствор метиленового голубого с массовой долей 1 % готовят следующим образом: 1 г метиленового голубого растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды при температуре (20 ± 2) °С.

3.3.4. Раствор крахмала с массовой долей 0,5 % готовят следующим образом: 0,5 г крахмала размешивают в 20 см^3 дистиллированной воды при температуре (20 ± 2) °С, затем при постоянном перемешивании добавляют полученный раствор к 80 см^3 кипящей воды. Раствор кипятят 2—3 мин.

3.3.5. Раствор Люголя готовят следующим образом: в ступку вместимостью 50 см^3 помещают 1 г кристаллического йода и 2 г йодистого калия, смесь растирают пестиком в небольшом количестве воды, переносят в мензурку вместимостью 500 см^3 и доводят общий объем водой до 300 см^3.

4. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

4.1. Проведение микроскопического анализа

4.1.1. Приготовленные по п. 3.2.17 препараты помещают на предметный столик микроскопа.

Изучение препаратов проводят сначала при малом увеличении (объектив 10^x, окуляр 7^x; 10^x), позволяющем получить представление об общем характере структуры, затем при большом увеличении микроскопа (объективы 20^x; 40^x; 90^x; окуляр 7^x; 10^x; 15^x).

4.1.2. За критерий оценки структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани меховых шкурок и шубной овчины приняты показатели: сохранность структурных компонентов кожевой ткани; способность к избирательному окрашиванию отдельных структур с выявлением клеточного строения; отсутствие или наличие бактерий в толще кожевой ткани.

Нарушение сохранности структурных компонентов кожевой ткани меховых шкурок и шубной овчины может быть вызвано воздействием на нее автолиза, бактерий, высоких температур, химических веществ, а в шкурках с интенсивно развитыми жировыми включениями — продуктов окисления жировых и тучных клеток, вызывающих образование жировой гари, а также пустот и щелей.

4.1.3. При окрашивании срезов метиленовым голубым с бурой и эозином ядра клеточных структур, бактерии окрашиваются интенсивно в сине-фиолетовый цвет, но бактерии значительно уступают по своим размерам клеточным ядрам. Коллагеновые волокна сосочкового и сетчатого слоев окрашиваются в розовый цвет.

4.1.4. Для характеристики степени структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани меховых шкурок приняты четыре градации:

структурные повреждения и бактериальная зараженность отсутствуют;

слабая степень поврежденности и бактериальной зараженности;

средняя степень поврежденности и бактериальной зараженности;

сильная степень поврежденности и бактериальной зараженности.

4.1.4.1. Нормальными (структурные повреждения и бактериальная зараженность отсутствуют) считаются шкурки, у которых наблюдается полная сохранность микроструктуры с четким выявлением ядер клеток. Коллагеновые пучки с четкими контурами и равномерной окраской. Плотный контакт эпидермиса с дермой. Внутреннее корневое влагалище волосяного фолликула интенсивно окрашено в сине-фиолетовый цвет со слабым выявлением границ составляющих его веретенообразных клеток. Кожевая ткань не содержит бактерий или они имеются только на мездровой поверхности шкуры.

4.1.4.2. К шкуркам со слабой степенью поврежденности и бактериальной зараженности относятся такие, у которых окраска ядер клеточных структур несколько ослаблена. Коллагеновые пучки с четкими контурами и равномерной окраской. Плотный контакт эпидермиса с дермой. В отдельных волосяных фолликулах могут быть первые признаки повреждения внутреннего корневого влагалища, выражающиеся в появлении промежутков между составляющими его веретенообразными клетками, т. е. в нарушении их спаянности. В нижней части сетчатого слоя кожевой ткани наблюдаются единичные бактерии.

4.1.4.3. К шкуркам со средней степенью поврежденности и бактериальной зараженности относятся такие, у которых окраска ядер клеточных структур резко ослаблена. Эпидермис с признаками потери связи с его дермой (отслоен). В отдельных волосяных фолликулах четко выражены повреждения (нарушение луковицы, распад оболочки внутреннего корневого влагалища на веретенообразные клетки). В сетчатом слое наблюдаются набухшие коллагеновые пучки с нечеткими размытыми контурами (первые признаки желатинизации коллагена).

Бактерии проникают глубоко в сосочковый и сетчатый слои кожевой ткани, образуя небольшие скопления.

4.1.4.4. К шкуркам с сильной степенью поврежденности и бактериальной зараженности относятся такие, у которых окраска ядер клеточных структур практически отсутствует. Подавляющее число волосяных фолликул с глубокими разрушениями (распад оболочек и луковиц). Эпидермис отслоен или полностью отсутствует. Наблюдается сильная желатинизация и растворение коллагеновых пучков, особенно на границе сосочкового и сетчатого слоев.

Возможно окрашивание коллагеновых пучков на отдельных участках в сине-фиолетовый цвет (явление базофилии). Иногда коллагеновые пучки могут быть сплавлены в специфические образования неправильной формы с наличием пустот между ними. Кожевая ткань пронизана бактериями.

К сильно поврежденным относятся также шкурки, в которых разрушения указанной степени захватывают или корни волос, или коллаген дермы.

4.2. Проведение анализа с помощью качественных реакций на водной вытяжке кожевой ткани

4.2.1. В четыре пробирки (№ 1; 2; 3; 4) наливают по 2 $см^3$ дистиллированной воды и по 2 капли раствора Люголя, взбалтывают, затем в пробирки № 1 и 2 добавляют по 2 капли водного раствора крахмала с массовой долей 0,5 % (окраска раствора в пробирке становится синяя), другие две пробирки № 3 и 4 — по 1 капле водного раствора метиленового голубого с массовой долей 1 % (окраска раствора в пробирке становится коричневато-бурая).

Затем в пробирки № 2 и 4 добавляют по 2 $см^3$ водной вытяжки кожевой ткани, приготовленной по п. 3.3.2, а в пробирки № 1 и 3 по 2 $см^3$ дистиллированной воды.

Растворы в пробирках № 1 и 3 являются контрольными.

4.2.2. Степень структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани невыделанных меховых шкурок и шубной овчины по качественным реакциям адсорбции йода с метиленовым голубым и крахмалом определяют по изменению во времени окраски раствора с метиленовым голубым в сравнении с контрольным раствором от коричнево-бурого до синего, с крахмалом — по обесцвечиванию первоначального синего раствора.

4.2.3. Время протекания реакций (изменение окраски или исчезновение ее) зависит от степени структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани шкур, из которых приготовлена водная вытяжка кожевой ткани.

4.2.4. В водных вытяжках, приготовленных из шкур со слабой степенью поврежденности и бактериальной зараженности, незначительные изменения в окраске или состоянии раствора наблюдаются через 0,5—1 ч.

В водных вытяжках, приготовленных из шкур со средней степенью поврежденности и бактериальной зараженности, реакции протекают через 10—30 мин. В водных вытяжках, приготовленных из шкур с сильной степенью поврежденности и бактериальной зараженности реакции протекают через 1—10 мин, в отдельных случаях изменение окраски растворов наблюдается мгновенно, после добавления в пробирки с реактивами водной вытяжки кожевой ткани.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Государственным комитетом легкой промышленности при Госплане СССР**

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 30.03.90 № 731**

3. **ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

4. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 61—75	2.1
ГОСТ 1625—89	2.1
ГОСТ 1770—74	2.1
ГОСТ 2603—79	2.1
ГОСТ 4159—79	2.1
ГОСТ 4232—74	2.1
ГОСТ 5556—81	2.1
ГОСТ 5789—78	2.1
ГОСТ 6672—75	2.1
ГОСТ 6709—72	2.1
ГОСТ 8429—77	2.1
ГОСТ 9147—80	2.1
ГОСТ 9284—75	2.1
ГОСТ 9949—76	2.1
ГОСТ 10163—76	2.1
ГОСТ 10778—83	2.1
ГОСТ 12026—76	2.1
ГОСТ 13830—97	2.1
ГОСТ 18300—87	2.1
ГОСТ 24104—2001	2.1
ГОСТ 25336—82	2.1
ГОСТ 29169—91	2.1
ГОСТ 29227-91—ГОСТ 29230-91	2.1
ТУ 38 1051835—88	2.1

5. **Ограничение срока действия снято по протоколу № 7—95 Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 11—95)**

6. **ПЕРЕИЗДАНИЕ. Декабрь 2005 г.**

Редактор *Л.А. Шебаровина*
Технический редактор *Л.А. Гусева*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 31.10.2005. Подписано в печать 11.01.2006. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ.л. 0,93. Уч.-изд.л. 0,65. Тираж 41 экз. Зак. 6. С 2328.

ФГУП «Стандартинформ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru o@gostinfo.ru
Набрано и отпечатано во ФГУП «Стандартинформ».

gost.e-ecolog.ru