ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54001— 2010

УДОБРЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИЕ

Методы гельминтологического анализа

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2020

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт органических удобрений и торфа» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ «ВНИИОУ» Россельхозакадемии) и Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии им. К.И. Скрябина» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ «ВИГИС» Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 25 «Качество почв и грунтов»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2010 г. № 591-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Май 2020 г.

*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, оформление, 2011, 2020

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 Основные положения 2
4 Требования безопасности 3
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы 3
6 Отбор, хранение и транспортирование проб 5
7 Определение наличия яиц и личинок гельминтов 6
7.1 Флотационный центрифужный метод гельминтологического анализа 6
7.2 Экспресс-метод гельминтологического анализа бесподстилочного навоза (помета) 7
7.3 Гельминтологический анализ навоза крупного рогатого скота методом последовательного промывания 8
7.4 Метод анализа органических удобрений на наличие личинок гельминтов по Берману 8
8 Определение жизнеспособности яиц и личинок гельминтов 8
Приложение А (справочное) Результаты гельминтологического анализа органических удобрений . . . 10
Библиография 11

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УДОБРЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИЕ

Методы гельминтологического анализа

Organic fertilizers. Methods of helminthology analysis

Дата введения — 2012—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на все виды органических удобрений, производимых на основе отходов животноводства, и устанавливает методы гельминтологического анализа возбудителей гельминтозов (яиц, личинок), общих для животных и человека.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 2 Селитра аммиачная. Технические условия

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.018 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.011 Система стандартов безопасности труда. Средства защиты работающих. Общие требования и классификация

ГОСТ 244 Натрия тиосульфат кристаллический. Технические условия

ГОСТ 490 Кислота молочная пищевая. Технические условия

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

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3760 Реактивы. Аммиак водный. Технические условия

ГОСТ 4168 Реактивы. Натрий азотнокислый. Технические условия

ГОСТ 4174 Реактивы. Цинк сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4236 Реактивы. Свинец (II) азотнокислый. Технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4529 Реактивы. Цинк хлористый. Технические условия

ГОСТ 5556 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 5789 Реактивы. Толуол. Технические условия

ГОСТ 6259 Реактивы. Глицерин. Технические условия

ГОСТ 6672 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9284 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 9412 Марля медицинская. Общие технические условия

ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 16317 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 18300 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия[1)]

ГОСТ 18481 Ареометры и цилиндры стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 19126 Инструменты медицинские металлические. Общие технические условия

ГОСТ 21239 (ИСО 7741—86) Инструменты хирургические. Ножницы. Общие требования и методы испытаний

ГОСТ 22867 Реактивы. Аммоний азотнокислый. Технические условия

ГОСТ 23932 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия

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

ГОСТ 26713 Удобрения органические. Метод определения влаги и сухого остатка

ГОСТ 28498 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические условия. Методы испытаний

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1:81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ Р 51652[2)] Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

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 применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Основные положения

3.1 Гельминтологический анализ органических удобрений проводят по показателям:

- общего количества обнаруженных яиц и личинок гельминтов, определенных видов нематод, цестод, трематод, акантоцефалов в каждой анализируемой пробе (шт/кг, шт/см^3);
- количества жизнеспособных яиц и личинок гельминтов определенных видов в количественном или процентном отношении к общей численности обнаруженных.

3.2 При обнаружении яиц или личинок их жизнеспособность определяют и подтверждают в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

3.3 Классификация органических удобрений по результатам гельминтологического анализа:

- удобрения чистые — не содержат жизнеспособных яиц и личинок гельминтов различных видов в 100 г твердой фракции и осадка лабораторной пробы, массой не более 1 кг, или в 1—10 дм^3 жидкой консистенции лабораторной пробы, отбираемых в зависимости от технологии и степени очистки и анализируемых в трехкратной повторности;
- удобрения загрязненные — содержат любое количество жизнеспособных яиц, личинки гельминтов различных видов в 100 г твердой фракции и осадка лабораторной пробы, массой не более 1 кг, или в 1—10 дм^3 жидкой консистенции лабораторной пробы, отбираемых в зависимости от технологии и степени очистки и анализируемых в трехкратной повторности.

[1)] Действует ГОСТ Р 55878—2013 «Спирт этиловый технический гидролизный ректификованный. Технические условия».

[2)] Действует ГОСТ 5962—2013.

4 Требования безопасности

4.1 Сотрудники, выполняющие работу по отбору, доставке и анализу проб, должны иметь рабочую спецодежду: халаты, фартуки, перчатки, резиновую обувь по ГОСТ 12.4.011. Рабочие халаты подлежат обмену на чистые по истечении каждой рабочей недели. Спецодежду и обувь хранят в шкафах.

Сотрудники должны быть обеспечены средствами и условиями для личной гигиены и обязаны соблюдать санитарно-гигиенические требования.

4.2 Требования безопасности при работе с химическими реактивами — по ГОСТ 12.1.007, с электрооборудованием — по ГОСТ 12.1.019.

Требования пожарной безопасности — по ГОСТ 12.1.018.

4.3 Помещение, в котором проводят анализы, должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Работы необходимо проводить в вытяжном шкафу с применением резиновых перчаток.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Шкаф вытяжной.

Холодильник электрический бытовой, любого класса, позволяющий поддерживать температуру от минус 6 °С до 5 °С, по техническим характеристикам и условиям эксплуатации соответствующий требованиям ГОСТ 16317.

Термостат электрический (ТС—1/80 СПУ или аналогичный), позволяющий поддерживать температуру от 50 °С до 60 °С с допустимой погрешностью ±0,4 °С.

Центрифуга напольная (типа ЦЛС-31 М со сменным ротором) с частотой вращения 1500—2500 об/мин.

Микроскоп биологический, предназначенный для исследования прозрачных препаратов в проходящем свете в светлом поле, обеспечивающий 100-кратное увеличение.

Микроскоп стереоскопический типа МБС, обеспечивающий 100-кратное увеличение.

Осветитель к микроскопу ОИ-19 или аналогичного типа.

Столик нагревательный к микроскопу (столик Морозова).

Весы лабораторные с пределами допустимой абсолютной погрешности однократного взвешивания ±5 мг и ±10 мг.

Пинцеты анатомические.

Пинцеты хирургические.

Набор ареометров АОН-1 типа 1 (А1) с пределами измерений от 1,000 до 1,600 кг/см^3 по ГОСТ 18481.

Аппарат Бермана.

Сита почвенные с размером диаметра ячеек 0,5, 0,25 и 0,3 мм^2.

Стаканы пластмассовые емкостью 30 см^3.

Петли металлические гельминтологические с диаметром восемь — девять мм.

Штатив для пробирок лабораторный.

Кюветы эмалированные.

Кюветы почковидные.

Спиртовка СЛ-1 по ГОСТ 25336.

Камеры счетные Горяева.

Часы песочные на три — пять мин или сигнальные.

Шпатели пластмассовые и металлические по ГОСТ 19126.

Ножницы анатомические.

Ножницы хирургические по ГОСТ 21239.

Прибор для уравновешивания центрифужных пробирок вместимостью 10—100 см^3 (типа ПЦП).

Приборы вакуумного фильтрования ПВФ—142/ЭМ, ПВФ—142/Э.

Пробоотборник А.А. Черепанова.

Термометры технические стеклянные с пределом измерения температуры от 0 °С до 100 °С и от 100 °С до 200 °С по ГОСТ 28498.

Совки, портативные лопаты, пробоотборники.

pH-метр, обеспечивающий измерение с погрешностью не более 0,01 ед. pH.

Дозаторы пипеточные.

Шкаф сушильный лабораторный, обеспечивающий поддержание температуры от 0 °С до 105 °С с допустимой погрешностью ±2 °С.

Карандаши по стеклу (стеклографы).

Груши резиновые разных размеров.

Перчатки резиновые.

Фартук клеенчатый.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Бумага пергаментная.

Емкости для отбора проб воды, органических удобрений, навоза, навозных стоков, осадков, пригодные для обеззараживания из нейтральных материалов, канистры, ведра вместимостью восемь — десять дм^3, тазы.

Клеенка, полиэтиленовые пленка, пакеты, мешки.

Вата медицинская по ГОСТ 5556.

Марля медицинская по ГОСТ 9412.

Стекла предметные размерами 25 × 75 мм, 60 × 120 мм по ГОСТ 9284.

Стекла покровные размерами 18 × 18 мм, 24 × 24 мм по ГОСТ 6672.

Чашки биологические Петри по ГОСТ 25336.

Стаканы стеклянные лабораторные вместимостью 400 и 1000 см^3 по ГОСТ 25336.

Чашки выпарные плоскодонные сферические вместимостью 1000 и 2500 см^3 по ГОСТ 25336.

Пипетки градуированные вместимостью 1—10 см^3 и 50 см^3 по ГОСТ 29227.

Пипетки глазные.

Воронки стеклянные по ГОСТ 25336.

Цилиндры измерительные с носиком вместимостью 1, 25 и 500 см^3 по ГОСТ 1770.

Колбы конические вместимостью 50, 100 и 1000 см^3 по ГОСТ 1770.

Стекла часовые разных размеров по ГОСТ 23932.

Цилиндры градуированные с носиком на 100, 200, 500 и 1000 см^3 по ГОСТ 1770.

Палочки стеклянные.

Банки стеклянные с притертыми пробками разной вместимости (до 1000 см^3).

Ступки и пестики фарфоровые разных размеров по ГОСТ 9147.

Эксикаторы с притертой крышкой.

Стаканы стеклянные высокие с носиком (ВН) вместимостью 50, 100 см^3 по ГОСТ 1770.

Стаканы аптечные вместимостью 50 и 100 см^3.

Пробирки центрифужные градуированные (ПЦГ) вместимостью 10 см^3 по ГОСТ 1770.

Кристаллизаторы стеклянные.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Натрий хлористый, х.ч. на изотоническом растворе с массовой долей 0,85 % (жидкость Барбагалло).

Натрий азотнокислый по ГОСТ 4168.

Аммоний азотнокислый по ГОСТ 22867 или гранулированная аммиачная селитра по ГОСТ 2.

Цинк хлористый по ГОСТ 4529.

Свинец азотнокислый по ГОСТ 4236.

Формальдегид 40 %-ный.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х.ч.

Глицерин по ГОСТ 6259.

Аммиак.

Эфир этиловый (диэтиловый, серный).

Метиленовый синий, х.ч.

Цинк сернокислый 7-водный по ГОСТ 4174.

Натрия тиосульфат по ГОСТ 244.

Толуол по ГОСТ 5789.

Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.

Спирт этиловый ректификованный пищевой по ГОСТ Р 51652.

Кислота молочная по ГОСТ 490.

Индикаторы бумажные для определения pH в диапазоне шесть — восемь с интервалом деления 0,2.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

6 Отбор, хранение и транспортирование проб

6.1 Точечные пробы отбирают не менее чем из трех точек (мест) партии органического удобрения на разных участках технологической линии производства, хранения, применения органических удобрений.

6.2 Отбор проб твердых видов органических удобрений

6.2.1 Точечные пробы твердых видов органических удобрений (подстилочного навоза, помета, компостов, твердой фракции бесподстилочного навоза, сухого навоза) отбирают из разных слоев штабелей, буртов. Предварительно по всей длине штабелей, буртов намечают сечения, из которых планируется отбор проб. Глубина отбора проб из каждого слоя — не менее 20 см. Точечные пробы отбирают из пяти точек каждого слоя. Масса точечных проб — не менее 100 г каждая. При отборе используют почвенные пробоотборники, лопаты, совки, шпатели. Точечные пробы помещают в ведра.

6.2.2 Из точечных проб составляют объединенную пробу, которую высыпают на клеенку, полиэтиленовую пленку, кальку или оберточную бумагу, удаляют посторонние включения, тщательно перемешивают и методом квартования сокращают до лабораторной пробы не более 1 кг, предназначенной для всех видов гельминтологических анализов.

Лабораторную пробу органического удобрения помещают в полиэтиленовый мешок, снабжают этикеткой, тщательно изолированную от удобрения. На этикетке указывают:

- вид удобрения;
- обозначение настоящего стандарта;
- место отбора проб;
- дату отбора проб;
- номер объединенной пробы;
- количество точечных проб;
- массу удобрения, от которого отобрана проба;
- массу пробы;
- фамилию и подпись ответственного за отбор проб.

6.2.3 После отбора проб почвенные пробоотборники, лопаты, совки, шпатели, ведра тщательно очищают от остатков удобрений и дезинфицируют кипящей водой в течение 20 мин.

6.2.4 В процессе транспортирования и хранения лабораторных проб принимают меры по предупреждению возможности их загрязнения.

6.2.5 Гельминтологический анализ лабораторных проб твердых видов органических удобрений проводят в день доставки их в лабораторию. При невозможности немедленного проведения анализов лабораторные пробы хранят в холодильнике при температуре не выше 5 °С не более одного месяца, предварительно определив влажность органического удобрения по ГОСТ 26713, либо при температуре 0 °С—20 °С в течение 2 сут, предварительно добавив в удобрения 3—5 капель толуола по ГОСТ 5789.

Для предупреждения высыхания и развития личинок в яйцах гельминтов удобрения увлажняют и аэрируют один раз в неделю, для чего лабораторные пробы вынимают из холодильника и оставляют на 3 ч при комнатной температуре, увлажняют водой по мере потери влаги и вновь помещают для хранения в холодильник.

Допускается хранение лабораторных проб удобрений более месяца при применении консервирующих средств: удобрения пересыпают в кристаллизатор, заливают раствором формалина с массовой долей 3 %, приготовленным на изотоническом растворе натрия хлористого с массовой долей 0,85 % (жидкость Барбагалло), или раствором соляной кислоты с массовой долей 3 %, после чего помещают в холодильник.

6.2.6 Из лабораторной пробы методом квартования готовят анализируемые пробы, предназначенные для проведения конкретного вида гельминтологического анализа.

6.3 Отбор проб бесподстилочного навоза (помета)

6.3.1 Точечные пробы полужидкого, жидкого навоза (помета), стоков навозных (пометных), жидкой фракции бесподстилочного навоза (помета) отбирают с помощью пробоотборника конструкции

А.А. Черепанова либо пробоотборника типа ПВК-1 с разной глубины навозо(помето)хранилища, отстойников-накопителей, приемных резервуаров различных сооружений по обработке бесподстилочного навоза (помета). Объем точечной пробы — не менее 1 дм^3 . Количество точечных проб — не менее восьми. Перед отбором проб бесподстилочный навоз (помет) тщательно перемешивают механическими или пневматическими устройствами в течение 30 мин.

6.3.2 Отбор точечных проб бесподстилочного навоза (помета) возможен непосредственно из цистерны или разливочно-раздаточного устройства машины для внесения удобрений.

6.3.3 Точечные пробы бесподстилочного навоза (помета) сразу после отбора сливают в ведро либо емкость, тщательно перемешивают. Полученную объединенную пробу отстаивают не менее 30 мин. При хранении образуется осадок и надосадочная фракция (фильтрат 1), которую сливают в отдельное ведро. Осадок переносят на двойной марлевый фильтр и промывают водой. Полученный фильтрат 2 отстаивают 30 мин. Надосадочную фракцию (фильтрат 3) объединяют с фильтратом 1. Отстаивают 30 мин. Сливают (удаляют) 2/3 верхнего слоя отстоявшейся надосадочной фракции. Оставшуюся часть надосадочной фракции объединяют с осадками. Полученную таким образом лабораторную пробу объемом 1 дм^3 помещают в герметично закрывающуюся емкость.

6.3.4 Упакованные лабораторные пробы, снабженные этикетками (см. 4.2.2), доставляют в лабораторию для проведения анализов в день их отбора. Лабораторные пробы транспортируют в ящиках, имеющих гнезда для стандартной посуды.

7 Определение наличия яиц и личинок гельминтов

7.1 Флотационный центрифужный метод гельминтологического анализа

Флотационный центрифужный метод позволяет выявить яйца и личинки стронгилят, стронгилоидов, яйца аскарид, трихоцефалов, мониезий, крысиного цепня, личиночные стадии паразитических и свободноживущих нематод, а также половозрелые особи.

7.1.1 Приготовление флотационных растворов

В качестве флотационных растворов, с помощью которых из лабораторных проб органических удобрений выделяют яйца гельминтов, используют насыщенные растворы солей. Наибольшей флотационной способностью обладают растворы солей при температуре 20—22 °С. Плотность растворов определяют ареометрами по ГОСТ 18481. Правильность приготовленных растворов определяют так же по образованию кристаллической пленки на поверхности раствора и выпадению кристаллов на дно сосуда.

7.1.1.1 Приготовление раствора нитрата свинца плотностью 1,5 г/см^3

650 г нитрата свинца по ГОСТ 4236 растворяют в 1 дм^3 горячей дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в эмалированной посуде при постоянном размешивании и подогревании. Через 24 ч раствор может дать осадок и его плотность понизится.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.1.2 Приготовление раствора нитрата аммония плотностью 1,3 г/см^3

1500 г нитрата аммония по ГОСТ 22867 или аммиачной селитры по ГОСТ 2 растворяют в 1 дм^3 горячей дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в эмалированной посуде при постоянном размешивании и подогревании. Через 24 ч раствор может дать осадок, и его плотность понизится.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.1.3 Приготовление раствора сернокислого цинка плотностью 1,24 г/см^3 для диагностики диктиокаулеза

400 г сернокислого цинка по ГОСТ 4174 растворяют в 1 дм^3 горячей дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в эмалированной посуде при постоянном размешивании и подогревании. Через 24 ч раствор может дать осадок, и его плотность понизится. Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.1.4 Приготовление раствора нитрата натрия плотностью 1,38—1,40 г/см^3

1000 г нитрата натрия по ГОСТ 4168 растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709 и выдерживают на огне до образования пленки на поверхности раствора. После этого раствор охлаждают. Для приготовления насыщенного раствора можно применять как химически чистую, так и техническую селитру.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.1.5 Приготовление раствора хлорида цинка плотностью 1,78—1,82 г/см^3 для выделения яиц трематод

2000 г хлорида цинка по ГОСТ 4529 растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709 при кипячении.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.2 Проведение анализа

7.1.2.1 Лабораторные пробы жидкого навоза, жидкой фракции и иловой смеси отстаивают, сливают надосадочный слой, осадок промывают и удаляют грубые включения через двойной марлевый фильтр. Если первичное промывание осадка проводили на месте отбора проб, то его сразу переносят в центрифугу, добавляют чистую воду и 2—3 мин центрифугируют при 1000 об/мин. Твердую фракцию обрабатывают и исследуют по той методике, что и осадок. После центрифугирования жидкость сливают, а осадок исследуют с применением центрифужного флотационного метода. Перед центрифугированием пробирки с анализируемыми пробами уравновешивают на специальных (прибор типа ПЦП) или приспособленных для этой цели весах, добавляя при необходимости соответственно насыщенный раствор соли или воду, и устанавливают в гнезда ротора центрифуги. Объем одной анализируемой пробы в расчете на центрифужную пробирку емкостью 250 см^3 составляет 100 см^3 для твердой фракции и 25—50 см^3 для осадка.

К осадку, находящемуся в центирифужных пробирках (после центрифугирования его с водой), добавляют до 150 см^3 насыщенного раствора нитрата натрия по ГОСТ 4168 или другой соли. После перемешивания стеклянной палочкой смесь центрифугируют в течение 3 мин при 1000—1500 об/мин.

По окончании центрифугирования в пробирки добавляют тот же по объему насыщенный раствор соли до образования выпуклого мениска и накрывают большими предметными стеклами размерами 70 × 70 мм по ГОСТ 9284. Стекла предварительно обезжиривают смесью спирта по ГОСТ 18300 и эфира или нашатырным спиртом по ГОСТ 3760 или моют в горячей воде порошком, обладающим дезинфицирующим свойством. Обрабатывают обе стороны стекол и просушивают. На сухой поверхности стекол стеклографом наносят три-четыре тонкие линии, делящие его на равные части.

Стекла с пробирок снимают через 20 мин. Просматривают под микроскопом пленку жидкости, образующуюся на их поверхности, соприкасавшейся с раствором. Покрытие пробирок стеклами и микроскопирование повторяют два-три раза. Для просветления пленки и предотвращения выпадения в ней кристаллов на ее поверхность наносят три-четыре капли водного раствора глицерина по ГОСТ 6259 и дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в соотношении 1:1.

7.1.2.2 Анализируемые пробы обычного твердого (подстилочного) навоза и помета компостов, биоперегноя и биогумуса массой 50—100 г помещают в лабораторный стакан по ГОСТ 25336. В него добавляют дистиллированную воду по ГОСТ 6709. Содержимое в стакане перемешивают и фильтруют через двойной марлевый фильтр в другой стакан или колбу конической формы. Фильтрат отстаивают 15—20 мин или переливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 3 мин при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют насыщенный раствор нитрата натрия по ГОСТ 4168 или других солей и смесь вновь центрифугируют в том же режиме. Центрифужные пробирки устанавливают в штатив, в них добавляют насыщенный раствор соли до образования выпуклого мениска, поверх которого кладут покровные стекла. Через 15—20 мин стекла снимают, поворачивая внутренней стороной вверх, и образовавшуюся пленку просматривают под микроскопом под малым и большим увеличением на предмет обнаружения яиц гельминтов.

7.1.3 В процессе микроскопирования подсчитывают количество обнаруженных яиц и личинок гельминтов в анализируемой пробе. Затем подсчитывают их количество на единицу объема анализируемой массы — на 1—10 дм^3 жидкого навоза или жидкой фракции, 100—1000 см^3 или на 1 кг твердой фракции навоза данной влажности.

7.2 Экспресс-метод гельминтологического анализа бесподстилочного навоза (помета)

Берут 25—50 см^3 осадка бесподстилочного навоза (помета), полученного после первичного отстаивания проб по 6.3.3, удаляют из него грубые включения путем промывания, переносят осадок на марлевый или капроновый фильтр. Промывают его 200 см^3 насыщенного раствора нитрата натрия, поваренной соли по ГОСТ 4233 или аммиачной селитры. Оставшуюся в осадке на фильтре влагу тщательно отжимают в те же емкости. Фильтрат выдерживают 15—20 мин, после чего поверхностную пленку жидкости переносят гельминтологической петлей на предметные стекла и просматривают под микро-

скопом. Можно пользоваться и большими предметными обезжиренными стеклами, накрывая их поверх мениска флотационного раствора.

Метод менее точен, чем центрифужный, однако более прост по выполнению, не требует сложного оборудования и может быть применим для экспресс-диагностики загрязнения бесподстилочного навоза (помета) яйцами и личинками гельминтов.

Для выполнения указанного метода применяют стаканы для фильтрата по ГОСТ 25336, насыщенный раствор соли, предметные стекла по ГОСТ 9284, марлю по ГОСТ 9412 или капроновую ткань с ячейками 0,1 мм и микроскоп.

7.3 Гельминтологический анализ навоза крупного рогатого скота методом последовательного промывания

В навозе крупного рогатого скота, помимо яиц стронгилят, трихоцефалов, мониезей, могут содержатся яйца фасциол и дикроцелиев. Для их выделения из проб применяют метод последовательного промывания. Крупные частицы удаляют из пробы путем промывания осадка через фильтр. Фильтрат отстаивают, надосадочный слой жидкости сливают, а осадок смешивают с чистой водой и вновь отстаивают. Так повторяют до получения просветленного осадка. Для ускорения промывки осадка применяют центрифугирование. Просветленный осадок по частям переносят на предметные стекла или в чашки Петри и просматривают под микроскопом. Яйца фасциол, имеющие сравнительно большие размеры (0,13 × 0,7 мм), просматривают с помощью микроскопа МБС-1. Яйца дикроцелиев мельче (0,03 × 0,02 мм), поэтому необходимо тщательно просматривать препараты под большим увеличением микроскопа.

7.4 Метод анализа органических удобрений на наличие личинок гельминтов по Берману

Из лабораторной пробы отбирают 50 г анализируемой пробы, переносят ее на слой марли и помещают на металлическую сетку. Затем пробу помещают в аппарат Бермана, который представляет собой стеклянную воронку по ГОСТ 25336 с размерами диаметра 10—15 см, соединенную резиновой трубкой с узкой пробиркой по ГОСТ 1770. Аппарат Бермана устанавливают в штатив, наполняют воронку водой при температуре 37 °С—40 °С, а затем металлическую сетку с пробой помещают в воронку так, чтобы нижняя часть пробы соприкасалась с водой.

Личинки гельминтов, обладая термотропностью, перемещаются из пробы в теплую воду и оседают на дно пробирки. Через три-четыре часа пробирку от воронки отсоединяют, сливают надосадочный слой жидкости, а осадок анализируют на наличие личинок на предметном стекле или в чашке Петри под микроскопом. При необходимости, для большей концентрации личинок, содержимое осадка центрифугируют.

8 Определение жизнеспособности яиц и личинок гельминтов

8.1 Метод световой микроскопии

Под большим увеличением микроскопа выявляют резко выраженные признаки гибели яиц:
- деформацию оболочек;
- вакуолизацию плазмы зародыша;
- прогибание оболочек внутрь, разрушение оболочек и зародыша;
- смещение плазмы зародыша к боковой части внутри оболочек яйца или к его полюсу.

Признаками гибели яиц гельминтов, находящихся на стадии дробления бластомеров, являются:
- образование вакуолей в виде мелких и крупных пузырьков воздуха;
- неравномерность шаров дробления;
- рыхлая, комковатая зернистость плазмы.

8.2 Подвижность личинок устанавливают легким надавливанием на препарат через покровное стекло по ГОСТ 6672 препаровальной иглой, резким изменением освещения или слабым подогревом препарата. Погибшими считают личинки (в том числе вышедшие из яиц), если они выпрямлены, неподвижны, имеют разрушенные структуры, вакуоли, деформированные оболочки. Для определения их подвижности применяют метод слабого подогревания препарата или помещают в теплый раствор желчи крупного рогатого скота и разбавленной дистиллированной воды в соотношении 1:20.

8.3 Метод окрашивания

Применяют краситель — метиленовый синий (метиленового синего 0,05 г, нитрата натрия 0,5 г по ГОСТ 4168, молочной кислоты 15 $см^3$). Зародыши погибших яиц аскарид окрашиваются в синий цвет, а жизнеспособные не окрашиваются.

8.4 Культивирование яиц гельминтов в оптимальных условиях

Создают условия для развития зародышей у жизнеспособных яиц гельминтов (аскарид, трихоцефалов, стронгилят, фасциол) и формирования в них личинок. Культивируют их в термостате при температуре 26 °С—28 °С во влажной камере (в чашках Петри по ГОСТ 25336).

Собранные на предметные по ГОСТ 9284 и часовые стекла по ГОСТ 23932 или фильтры по ГОСТ 12026 яйца аскарид, фасциол, трихоцефалов, стронгилят помещают в чашки Петри. На дно чашки для создания влажности кладут вату по ГОСТ 5556, смоченную в воде или 1 %-ном растворе соляной кислоты по ГОСТ 3118. Чашку закрывают крышкой и помещают в термостат. Чтобы сократить время на сбор яиц гельминтов для культивирования, пленку с предметных стекол, снятых с центрифужных пробирок, содержащих яйца гельминтов, смывают струей воды из пипетки в стаканы и добавляют в них чистую воду. Отстоявшийся осадок с яйцами гельминтов, отмытый от соли, переносят в чашки Петри, наливают до половины ее объема дехлорированную воду или 0,1 %-ный раствор соляной кислоты и ставят в термостат. Чашки аэрируют один раз в два-три дня. Для этого открывают их крышки и встряхивают жидкость или подают в них воздух с помощью резиновой груши. Не допускают высыхания жидкости в чашках, при необходимости добавляют свежую дехлорированную воду. В процессе культивирования яйца гельминтов периодически просматривают под микроскопом на предметных стеклах или непосредственно в чашке Петри. Развившиеся жизнеспособные личинки гельминтов имеют мелкую зернистую структуру. Слабый подогрев препарата или надавливание препаровальной иглой через покровное стекло вызывает их подвижность.

8.5 Инвазионность яиц и личинок аскарид определяют по наличию чехлика (оболочка после линьки) на головном и хвостовом конце, личинок трихоцефалов — по стилету на головном конце. Для подтверждения инвазионных свойств личинок аскарид применяют метод биопробы на белых мышах.

8.6 Для оценки жизнеспособности яиц аскарид и трихоцефалов достаточно двух недель. За этот период основная часть яиц аскарид, фасциол, стронгилят, власоглавов достигает стадии личинок. Для установления инвазионных свойств яиц аскарид их культивируют в термостате при температуре 27 °С — 28 °С в течение 30 сут.

Приложение А
(справочное)

Результаты гельминтологического анализа органических удобрений

Пример записи в журнале результатов гельминтологического анализа органических удобрений приведен в таблице А.1.

Таблица А.1 — Результаты гельминтологического анализа органических удобрений

№№ пп	Место отбора проб	Дата отбора проб	Дата анализа	Метод анализа	Масса анализируемой пробы, г/см^3	Обнаружено яиц, личинок гельминтов по видам, шт.			
						всего	из них		в среднем на 1 кг/см^3, (1 дм^3 ака-
							деформированные	жизнеспособные	
1									
2									

В журнал заносят данные, учитывающие количество, объем анализируемых проб, взятых после обработки, подготовки органических удобрений к использованию или со складов готовой продукции. Фиксируют результаты отсутствия или обнаружения яиц, личинок гельминтов соответствующих видов. При обнаружении яиц и личинок гельминтов отмечают состояние их жизнеспособности и инвазионности.

Обработка результатов.

Сопоставление количества погибших яиц и личинок гельминтов к выявленному их общему количеству в пробах, отбираемых с определенной периодичностью, свидетельствует о степени и постоянстве эффективности принятого при подготовке органических удобрений метода обеззараживания.

Библиография

[1] РД-АПК 1.10.15.02—2008 Методические рекомендации по технологическому проектированию систем удаления и подготовки к использованию навоза и помета. — М.: Минсельхоз РФ

[2] Ветеринарно-санитарные правила подготовки к использованию в качестве органических удобрений навоза, помета и стоков при инфекционных и инвазионных болезнях животных и птицы. Правила Минсельхоза РФ № 13-7-2/1027. Утв. Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России 4 августа 1997 г.

[3] Ветеринарно-санитарные правила по использованию животноводческих стоков для орошения и удобрения пастбищ. — М.: Минсельхозпрод РФ, 1993

[4] Инструкция по лабораторному контролю очистных сооружений на животноводческих комплексах. Часть 1. Организация лаборатории. Методы санитарно-бактериологического и гельминтологического анализа сточных вод.— М.: Колос, 1982

[5] Методические рекомендации по предотвращению загрязнения окружающей среды бесподстилочным навозом животноводческих комплексов и ферм. — М.: ВАСХНИЛ, 1989

[6] МУ 3.2.1022—2001 Методические указания. 3.2. Профилактика паразитарных болезней. Мероприятия по снижению риска заражения населения возбудителями паразитозов. — М.: Минздрав России, 2001

[7] МУК 4.2.796—99 Методические указания. Методы санитарно-паразитологических исследований. — М.: Минздрав России, 2000

[8] Типовой технологический регламент использования осадков сточных вод в качестве удобрения. — М.: Минсельхоз РФ, ГУП НИИССВ «Прогресс», 2000

УДК 631.861: 631.879:006.354 ОКС 65.080

Ключевые слова: органические удобрения, методы гельминтологического анализа, яйца, личинки гельминтов, определение жизнеспособности, экспресс-метод, метод по Берману

Редактор переиздания *Е.И. Мосур*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 21.05.2020. Подписано в печать 23.07.2020. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,45.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru