ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 53012— 2008

ШКУРКИ МЕХОВЫЕ И ОВЧИНЫ НЕВЫДЕЛАННЫЕ

Методы определения структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани

Издание официальное

Б3 9—2008/312

Москва
Стандартинформ
2009

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Открытым акционерным обществом «Научно-исследовательский институт меховой промышленности» (ОАО «НИИМП»)

2 ВНЕСЕН Управлением технического регулирования и стандартизации Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 ноября 2008 г. № 323-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «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

© Стандартинформ, 2009

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 Термины и определения 2
4 Методы определения структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани меховых шкурок 2

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ШКУРКИ МЕХОВЫЕ И ОВЧИНЫ НЕВЫДЕЛАННЫЕ

Методы определения структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани

Undressed fur and sheepskins.
Methods for determining the structure damage and bacterial infection of flesh side

Дата введения — 2009—12—01

1 Область применения

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

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 1625—89 Формалин технический. Технические условия

ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 4159—79 Реактивы. Йод. Технические условия

ГОСТ 4232—74 Реактивы. Калий йодистый. Технические условия

ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 5556—81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 5789—78 Реактивы. Толуол. Технические условия

ГОСТ 6672—75 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 8429—77 Бура. Технические условия

ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9284—75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 9949—76 Ксилол каменноугольный. Технические условия

ГОСТ 10163—76 Реактивы. Крахмал растворимый. Технические условия

ГОСТ 16504—81 Система государственных испытаний продукции. Испытания и контроль качества продукции. Основные термины и определения

ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

Издание официальное

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

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 ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ 16504, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **структурная поврежденность:** Повреждения различного происхождения в структуре кожевой ткани меха.

3.2 **бактериальная зараженность:** Зараженность кожевой ткани меха бактериями различного происхождения.

3.3 **массовая доля:** Отношение массы одного из компонентов системы к сумме масс всех компонентов.

3.4 **промывные воды:** Водный или органический раствор, используемый для промывки.

3.5 **водная вытяжка:** Экстрагирование в водную фазу.

4 Методы определения структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани меховых шкурок

4.1 Микроскопическое исследование

4.1.1 Аппаратура, материалы и реактивы

Микротом замораживающий.

Микроскоп световой биологический Биолан Р.

Электрошкаф сушильный лабораторный.

Весы лабораторные общего назначения и образцовые по ГОСТ 24104.

Термометр лабораторный по ГОСТ 28498.

Стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284.

Стекла покрывные для микропрепаратов по ГОСТ 6672.

Колбы вместимостью 250 $см^3$, 100 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Игла гистологическая препаровальная прямая.

Пробки резиновые.

Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

Воронка стеклянная по ГОСТ 25336.

Пробирка стеклянная по ГОСТ 25336.

Пипетки вместимостью 2 $см^3$, 100 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Цилиндр измерительный вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Мензурка вместимостью 500 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Формалин технический по ГОСТ 1625, водный раствор массовой долей 4 %.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Эозин водный раствор с массовой долей 0,1 %.

Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300, раствор объемной долей 96 % и 70 %.

Метиленовый голубой 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.

4.1.2 Подготовка к испытанию

4.1.2.1 Метод отбора проб

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.

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

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

4.1.2.2 Приготовление растворов для исследования

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

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

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

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

Раствор метиленового голубого с бурой массовой долей метиленового голубого 1 % (раствор № 2) готовят следующим образом: 2 г буры растворяют в 100 $см^3$ дистиллированной воды, подогретой до температуры (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.

Смесь красителей для окрашивания срезов готовят следующим образом: к 10 $см^3$ раствора № 1 добавляют 2—3 капли раствора № 2 и 10 $см^3$ дистиллированной воды.

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.

Раствор кедрового сибирского бальзама готовят следующим образом: для получения густого раствора консистенции сиропа куски сухой смолы заливают растворителем (ксилолом или толуолом) с таким расчетом, чтобы он покрывал смолу. После растворения смолы выбирают раствор желаемой консистенции или дают немного испариться растворителю, или добавляют еще сухой смолы. Растворение ускоряется при проведении процесса в сушильном электрошкафу при температуре 50 °С — 60 °С.

4.1.2.3 Подготовка образцов к микроскопическому исследованию

Обводнение кожевой ткани образцов, отобранных от консервированных шкурок, проводится в водопроводной воде с добавлением 3—5 г хлористого натрия 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.

Фиксация кожевой ткани образцов проводится в растворе формалина 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 пять образцов.

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

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.

Полученные срезы окрашивают в смеси красителей, приготовленной по 4.1.2.1, 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 подкисленную воду (2—4 капли уксусной кислоты на 20 $см^3$ дистиллированной воды) и дважды промывают в дистиллированной воде в течение 1—2 мин.

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

Обезвоживание срезов проводят в растворах, приготовленных по 4.1.2.1, 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.

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

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

4.1.2.4 Проведение микроскопического исследования и оценка структурной поврежденности кожевой ткани

Препараты, приготовленные по 4.1.2.2, 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).

За критерий оценки структурной поврежденности и бактериальной зараженности кожевой ткани меховых шкурок и шубной овчины приняты следующие 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. При окрашивании срезов метиленовым голубым с бурой и эозином ядра клеточных структур бактерии интенсивно окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, но они значительно уступают по своим размерам клеточным ядрам. Коллагеновые волокна сосочкового и сетчатого слоев окрашиваются в розовый цвет.

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

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. Для этих шкурок характерен 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.

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.

К шкуркам со средней степенью поврежденности и бактериальной зараженности относятся такие, у которых окраска ядер клеточных структур резко ослаблена. Эпидермис — с признаками потери связи его с 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.

К шкуркам с сильной степенью поврежденности и бактериальной зараженности относятся такие, у которых окраска ядер клеточных структур практически отсутствует. Подавляющее большинство 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 пустотами между ними. Кожевая ткань пронизана бактериями. К сильно поврежденным относятся также шкурки, в которых разрушения указанной степени захватывают корни волос или коллаген дермы.

4.2 Исследования по качественным реакциям водной вытяжки кожевой ткани

4.2.1 Аппаратура, материалы и реактивы

Весы лабораторные по ГОСТ 24104.

Термометр лабораторный по ГОСТ 28498.

Пробка резиновая.

Ступка с пестиком фарфоровые по ГОСТ 9147.

Ножницы.

Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

Воронка стеклянная по ГОСТ 25336.

Пробирка стеклянная по ГОСТ 25336.

Пипетки вместимостью 2 $см^3$, 100 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Колба вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Мензурка вместимостью 500 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Цилиндр измерительный по ГОСТ 1770.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Калий йодистый по ГОСТ 4232.

Йод по ГОСТ 4159.

Крахмал растворимый по ГОСТ 10163.

Йодный раствор массовой долей 0,5 %.

Метиленовый голубой.

Йодный раствор массовой долей 1 %.

4.2.2 Подготовка к испытанию

4.2.2.1 Метод отбора проб

Отбор образцов для исследования проводится по 4.1.2.1.

4.2.2.2 Приготовление растворов для исследования по качественным реакциям водной вытяжки кожевой ткани

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

Раствор крахмала 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.

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 объеме воды, переносят в мензурку вместимостью 500 $см^3$ и доводят общий объем водой до 300 $см^3$.

4.2.2.3 Подготовка образцов к исследованию с помощью качественной реакции на водной вытяжке кожевой ткани

От каждого образца, отобранного по 4.1.2.1, берут навеску массой 1 г, взвешенную с погрешностью не более 0,1 г.

Водную вытяжку кожевой ткани массовой долей 10 % готовят следующим образом: навеску кожевой ткани из образцов 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 сливают 100 $см^3$ кипяченой дистиллированной воды, охлажденной до температуры (20 ± 2) °С, закрывают пробкой, хорошо взбалтывают и оставляют на 1 ч. Затем содержимое колбы взбалтывают и фильтруют через вату в сухую колбу.

4.2.3 Проведение испытания с помощью качественных реакций на водной вытяжке кожевой ткани

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 массовой долей 0,5 % (цвет раствора в пробирке становится синим), другие две пробирки № 3 и 4 — по 1 капле водного раствора метиленового голубого 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 4.2.2.3, а в пробирки № 1 и 3 — по 2 $см^3$ дистиллированной воды.

Растворы в пробирках № 1 и 3 являются контрольными.

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

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.

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.

УДК 681.1:675.621:006.354 ОКС 59.140.30 М23

Ключевые слова: кожевая ткань, фильтрат, навеска, буферный раствор, массовая доля, алюминий, индикатор, переход окраски, окислительная смесь

Редактор *О.А. Стояновская*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 11.12.2008. Подписано в печать 24.12.2008. Формат 60x84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал. Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,90. Тираж 153 экз. Зак. 1380.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6

gost.e-ecolog.ru