Группа Т99

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

Единая система защиты от коррозии и старения

ЖИДКОСТИ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИЕ

Методы испытаний на биостойкость

ГОСТ 9.085—78

Single corrosion and ageing protectiol system. Cooling lubricant. Bioresistance test methods

МКС 19.040
75.100
ОКСТУ 0009

Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 27 июня 1978 г. № 1699 дата введения установлена

с 01.07.79

Ограничение срока действия снято по протоколу № 3—93 Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 5-6—93)

Настоящий стандарт распространяется на водосмешиваемые смазочно-охлаждающие жидкости (далее СОЖ) и устанавливает методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию бактерий и плесневых грибов.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

1. МЕТОД ИСПЫТАНИЙ НА СТОЙКОСТЬ К ВОЗДЕЙСТВИЮ АЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ

1.1. Сущность метода

Сущность метода заключается в выдерживании СОЖ, зараженных культурами бактерий в условиях, оптимальных для их развития, с последующей оценкой биостойкости.

1.2. Отбор проб

1.2.1. Пробы СОЖ отбирают по ГОСТ 2517—85 массой 50 г.

1.2.2. Пробами являются СОЖ в состоянии поставки без специальной очистки и стерилизации.

1.2.3. Проб должно быть не менее трех.

1.2.4. Виды бактерий

1.2.4.1. Для испытаний применяют смесь чистых культур следующих видов бактерий:

Escherichia coli (Migyla) Castellani and Chalmers;

Mycobacterium phlei Lehman and Neum;

Pseudomonas aeruginosa Migyla;

Pseudomonas oleovorans Lee and Chandler;

Staphylococcus aureus Rosenbach.

Кроме чистых культур допускается применять смесь накопительных культур, выделенных из испытуемых СОЖ.

1.2.4.2. Чистые культуры бактерий получают в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР, поддерживают периодическим пересевом и выращивают непосредственно перед испытаниями. Культуры бактерий обновляют один раз в год-два.

1.2.4.1, 1.2.4.2. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

1.2.4.3. Пересев, выращивание и хранение культур бактерий производят, как указано в ГОСТ 9.082—77.

Издание официальное ★ **Перепечатка воспрещена**

Издание с Изменением № 1, утвержденным в октябре 1988 г. (ИУС 1—89).

gost.e-ecolog.ru

1.3. Аппаратура, материалы и реактивы — по ГОСТ 9.048—89 со следующим дополнением:
термостат, обеспечивающий поддержание постоянной температуры (30±2) °С*;
электроплитка с закрытой спиралью*;
потенциометр по ГОСТ 9245—79;
горелки газовые*;
цилиндры металлические, полые изготовленные из коррозионно-стойкой стали по ГОСТ 5949—75, внутренним диаметром 7 мм, высотой 10 мм;
чашки биологические (Петри) по ГОСТ 25336—82 с крышками, низкие, типа ЧБН;
груша резиновая*;
доска для сушки посуды;
аппарат для встряхивания колб и пробирок;
стандарты мутности;
pH-метр лабораторный типа ЛПУ-01, pH-340 или другого типа с погрешностью не более 0,05 pH;
ножницы, пинцеты, скальпели*;
штативы лабораторные*;
бульон мясо-пептонный (МПБ) по ГОСТ 9.082—77;
агар мясо-пептонный (МПА) по ГОСТ 9.082—77;
спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300—87, высшего сорта;
кислота соляная по ГОСТ 3118—77;
кислота серная по ГОСТ 4204—77;
калий двухромовокислый по ГОСТ 4220—75;
натрий углекислый по ГОСТ 83—79, безводный.
(Измененная редакция, Изм. № 1).

1.4. Подготовка к испытаниям

1.4.1. Посуда и материалы — по ГОСТ 9.048—89.

1.4.2. Среды для выращивания и хранения чистых культур бактерий и для испытаний готовят по ГОСТ 9.082—77.

1.4.3. Рецептура сред приведена в табл. 1.

Таблица 1

Наименование реактивов	Среда					
	1	2	3	4	5	6
	МПА	Агар индикаторный	Сорокина	Сусло-агар	Чапека-Докса с агаром	Чапека-Докса с агаром без сахарозы
Калий фосфорнокислый однозамещенный, г	—	—	0,5	—	0,7	0,7
Калий фосфорнокислый двузамещенный, г	—	—	1,0	—	0,3	0,3
Магний сернокислый, г	—	—	0,2	—	0,5	0,5
Натрий азотнокислый, г	—	—	—	—	2,0	2,0
Натрий сернокислый, г	—	0,5	—	—	—	—
Калий хлористый, г	—	—	—	—	0,5	0,5
Железо сернокислое, г	—	—	0,01	—	0,01	0,01
Железо лимоннокислое, г	—	0,5	—	—	—	—
Аммоний хлористый, г	—	—	0,1	—	—	—
Спирт этиловый ректификованный, г	—	—	5,0	—	—	—
Сахароза, г	—	—	—	—	30,0	—
Пептон бактериологический, г	—	10,0	—	—	—	—
Агар микробиологический, г	20,0	12,0	—	20,0	20,0	Выщелоченный 20,0
Мясо-пептонный бульон, см³	До 1000	—	—	—	—	—
Сусло пивное, см³	—	—	—	До 1000	—	—
Вода дистиллированная, см³	—	1000	До 1000	—	До 1000	До 1000

* По документации, утвержденной в установленном порядке.

1.4.4. Чистые культуры бактерий пересевают и выращивают, как указано в ГОСТ 9.082—77.

1.4.5. Для приготовления бактериальных суспензий культуры, выращенные в течение суток, с помощью бактериологической петли переносят в отдельные пробирки, содержащие 10 $см^3$ водопроводной воды.

1.4.6. Количество бактериальных клеток определяют с помощью стандартов мутности.

Концентрация бактериальных клеток в суспензии должна быть не менее 2 млн/$см^3$.

1.4.7. Приготовленные суспензии взбалтывают и сливают в равных объемах (1—2 $см^3$) в стерильную пробирку.

1.4.8. Срок хранения суспензии не более 3 ч.

1.5. Проведение испытаний

1.5.1. Круглую или коническую колбу вместимостью 500 $см^3$, содержащую 200—300 $см^3$ среды 1, помещают в водяную баню и выдерживают при температуре (100±2) °С до тех пор, пока среда полностью не расплавится.

Расплавленную питьевую среду охлаждают до температуры 40—50 °С и заражают суспензией смеси бактериальных культур, внося последнюю с помощью градуированной пипетки 2 $см^3$ на 100 $см^3$ среды.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

1.5.2. Среду после заражения разливают по 15 $см^3$ в чашки Петри.

1.5.3. На застывшую, строго горизонтальную поверхность среды ставят с помощью пинцета 3 стерильных полых металлических цилиндрика, в каждый из которых вносят по 0,1 $см^3$ испытуемой СОЖ.

1.5.4. Чашки Петри с цилиндриками закрывают крышками и помещают в термостат при (30±2) °С.

1.5.5. Пробы выдерживают в термостате 24 ч.

1.5.6. Испытания повторяют 3—4 раза.

1.5.7. По окончании испытаний чашки Петри извлекают из термостата и осматривают.

1.6. Оценку бактериостойкости СОЖ проводят по трехбалльной шкале, приведенной в табл. 2.

Таблица 2

Балл	Характеристика балла
0	При осмотре невооруженным глазом наблюдаются большие, четко выраженные зоны отсутствия роста микроорганизмов (зоны ингибирования) вокруг цилиндриков, содержащих СОЖ. Диаметр зоны ингибирования 1,5—2,0 см. Полная бактериостойкость
I	При осмотре невооруженным глазом заметны зоны отсутствия роста микроорганизмов. Диаметр зоны ингибирования 0,8—1,0 см. Удовлетворительная бактериостойкость
II	При осмотре невооруженным глазом не наблюдается зон отсутствия роста микроорганизмов. Небактериостойкость СОЖ

1.7. Требования безопасности — по ГОСТ 9.023—74 со следующим дополнением: необходимо осуществлять систематический контроль загрязнения микроорганизмами воздуха в производственных помещениях.

Количество микроорганизмов не должно превышать 5000—7000 кл/$м^3$ воздуха.

2. МЕТОД ИСПЫТАНИЙ НА СТОЙКОСТЬ К ВОЗДЕЙСТВИЮ АНАЭРОБНЫХ [СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ] БАКТЕРИЙ

2.1. Сущность метода

Сущность метода заключается в способности анаэробных бактерий восстанавливать соединения серы с образованием сероводорода и сульфидов металлов.

Микроорганизмы образуют черные зоны сульфида железа, которые учитываются при оценке бактериостойкости СОЖ.

2.2. Отбор проб — по пп. 1.2.1—1.2.3.

2.2.1. Виды бактерий — культуры представителей рода Desulfovibrio.

Допускается использование ассоциативных культур этих бактерий с представителями других родов — Pseudomonas, Achromobacter и др.

2.3. Аппаратура, материалы и реактивы по п. 1.3 со следующим дополнением:

аммоний хлористый по ГОСТ 3773—72;

натрий сернокислый кристаллический по ГОСТ 4171—76;

железо лимоннокислое, кристаллическое, ч. д. а.*;

пептон бактериологический*;

2.4. Подготовка к испытаниям — по пп. 1.4.1—1.4.4.

2.4.1. Для приготовления бактериальной суспензии используют накопительные культуры сульфатредуцирующих бактерий, выделенные в производственных условиях из пораженных СОЖ.

Для выращивания культуры используют среду 3.

2.4.2. Выращенную культуру в количестве 0,1—0,2 $см^3$ переносят пипеткой в отдельные пробирки, содержащие 10 $см^3$ водопроводной воды.

2.4.3. Количество бактериальных клеток определяют с помощью камеры Горяева.

Концентрация бактериальных клеток в суспензии должна быть не менее 2 млн/$см^3$.

2.4.4. Срок хранения суспензии — не более 1 ч.

2.5. Проведение испытаний

2.5.1. Испытуемые СОЖ разливают мерной пипеткой по 8—9 $см^3$ в стеклянные пробирки, добавляют по 0,5—1 $см^3$ суспензии, тщательно перемешивают и закрывают притертыми пробками.

2.5.2. Пробирки помещают в термостат и выдерживают при температуре (30±2) °С в течение 20—24 ч.

2.5.3. По истечении указанного срока проводят заражение среды 2 испытуемой СОЖ. Для этого 1 $см^3$ зараженной СОЖ вносят в стерильную пробирку и заливают 10 $см^3$ предварительно расплавленной и охлажденной до 40 °С — 45 °С средой 2.

2.5.4. Для контроля жизнеспособности бактерий в стерильные пробирки вносят 1 $см^3$ бактериальной суспензии и 10 $см^3$ среды 2.

2.5.5. Пробирки с зараженными пробами и контрольные пробирки закрывают притертыми пробками, перемешивают содержимое и помещают в термостат с температурой (30±2) °С.

2.5.6. Пробирки выдерживают в термостате 4 сут.

2.5.7. По окончании испытаний пробирки извлекают из термостата и осматривают.

2.5.8. Если среда 2 в контрольной пробирке остается бесцветной, культуры бактерий считают нежизнеспособными. Испытания прекращают и повторяют их на новых пробах с вновь приготовленной суспензией бактерий из новой партии бактерий.

2.6. Оценку бактериостойкости СОЖ проводят по трехбалльной шкале, приведенной в табл. 3.

Таблица 3

Балл	Характеристика балла
0	Цвет индикаторного агара не меняется, что соответствует отсутствию роста сульфатредуцирующих бактерий. Полная бактериостойкость СОЖ.
I	Появляются единичные черные колонии в индикаторном агаре. Удовлетворительная бактериостойкость СОЖ.
II	По всей толщине индикаторного агара образуются многочисленные черные колонии. Небактериостойкость СОЖ.

2.5.8, 2.6. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

2.7. Требования безопасности — по п. 1.7.

3. МЕТОД ИСПЫТАНИЙ НА СТОЙКОСТЬ К ВОЗДЕЙСТВИЮ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ

3.1. Сущность метода

Сущность метода заключается в выдерживании СОЖ, зараженных культурами грибов в условиях, оптимальных для их развития, с последующей оценкой грибостойкости.

* По документации, утвержденной в установленном порядке.

3.2. Отбор проб — по пп. 1.2.1—1.2.3.

3.2.1. Виды грибов

Aspergillus niger van Thieghem;
Chaetomium globosum Kunze;
Cladosporium gossipicola Pidopl et Deniak;
Cladosporium resinae Albida;
Penicillium chrysogenum Thom;
Penicillium ochro-cloron Biorge;
Trichoderma koningii Oudemans;
Trichoderma viride Pers. ex. Fr;
Torula convoluta Harz;
Cepha losporium acremonium Corda.

3.2.2. Культуры грибов получают в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР, поддерживают периодическим пересевом и выращивают непосредственно перед испытаниями.

3.2.1, 3.2.2. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

3.2.3. Пересев, выращивание и хранение грибов — по ГОСТ 9.048—89.

3.3. Аппаратура, материалы и реактивы — по ГОСТ 9.048—89.

3.4. Подготовка к испытаниям

3.4.1. Посуда и материалы — по ГОСТ 9.048—89.

3.4.2. Среды для выращивания и хранения чистых культур грибов и для испытаний готовят по ГОСТ 9.048—89.

3.4.3. Рецептура сред приведена в табл. 1.

3.4.4. Чистые культуры грибов пересевают и выращивают по ГОСТ 9.048—89, используя грибы, приведенные в п. 3.2.1.

3.4.5. Приготовление суспензии спор грибов и контроль жизнеспособности спор грибов проводят по ГОСТ 9.048—89.

3.5. Проведение испытаний

3.5.1. Коническую колбу вместимостью 500 $см^3$, содержащую среду 5 в количестве 300 г, выдерживают при температуре (100±2) °С на водяной бане до полного расплавления среды.

3.5.2. Расплавленную питательную среду охлаждают до температуры 40—45 °С и заражают водной суспензией спор грибов, внося последнюю с помощью градуированной пипетки — 2 $см^3$ на 100 $см^3$ среды.

3.5.3. На застывшую строго горизонтальную поверхность среды ставят с помощью пинцета 3 полных металлических цилиндра, в каждый из которых вносят по 0,1 $см^3$ испытательной СОЖ.

3.5.2, 3.5.3. **(Измененная редакция, Изм. № 1)**.

3.5.4, 3.5.5. **(Исключены, Изм. № 1).**

3.5.6. Чашки Петри помещают в эксикатор, на дно которого налита дистиллированная вода. Эксикатор устанавливают в термостат с температурой (28±2) °С.

3.5.7. Пробы выдерживают в термостате 28 сут. Через каждые 7 сут крышку эксикатора приоткрывают на 3 мин для притока воздуха.

3.5.8. По окончании испытаний чашки Петри извлекают из эксикатора и осматривают.

3.6. Оценку грибостойкости СОЖ проводят по трехбалльной шкале, приведенной в табл. 4.

Таблица 4

Балл	Характеристика балла
0	Рост плесневых грибов отсутствует. Полная грибостойкость СОЖ.
I	Рост грибов едва виден. Спорообразование не наблюдается. Удовлетворительная грибостойкость СОЖ.
II	Рост грибов отчетливо виден, появляется спорообразование. Негрибостойкость СОЖ

3.7. Требования безопасности — по ГОСТ 9.048—89.

gost.e-ecolog.ru