Группа Т99

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

Единая система защиты от коррозии и старения

МАСЛА И СМАЗКИ

Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию бактерий

ГОСТ 9.082—77

Unified protection corrosion and ageing system. Oils and lubricants. Methods of laboratory tests for resistance to bacteria action

МКС 19.040
75.100

Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 5 декабря 1977 г. № 2804 дата введения установлена

01.01.79

Ограничение срока действия снято Постановлением Госстандарта СССР от 22.10.90 № 2659

Настоящий стандарт распространяется на масла и смазки и устанавливает исследовательские лабораторные методы испытаний на стойкость к воздействию бактерий.

1. МЕТОД 1

1.1. Сущность метода заключается в выдерживании образцов зараженных водной суспензией бактерий в условиях, оптимальных для развития бактерий, без дополнительного источника минерального и органического питания.

Метод применяют для определения бактериостойкости масел и смазок при отсутствии минеральных и органических загрязнений.

1.2. Отбор образцов

1.2.1. Масла и смазки отбирают по ОСТ 2517—85 в количестве 10—15 г.

1.2.2. Образцами являются масла и смазки в соответствии поставки без специальной очистки и стерилизации.

1.2.3. Количество образцов должно быть не менее пяти.

1.2.4. Штаммы бактерий

1.2.4.1. Для испытаний применяют смесь штаммов чистых культур бактерий:

Bacillus subtilis	ВКМВ-1665Д,
Bacillus pumilus	ВКМВ-1664Д,
Bacillus stearothermophilus	ВКМВ-1668Д,
Bacillus coagulans	ВКМВ-1669Д.

1.2.4.2. Чистые культуры бактерий получают во Всесоюзной коллекции микроорганизмов института 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—1.2.4.2. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

1.2.4.3. Пересев, выращивание и хранение культур бактерий проводят, как указано в приложении 1.

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

Масло МК-8 по ГОСТ 6457—66.

Масло МС-8 рк по ОСТ 38.01387—85.

Масло МС-8 п по ОСТ 38.101163—78.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

Издание официальное ★ **Перепечатка воспрещена**

Издание с Изменением № 1, утвержденным в октябре 1990 г. (ИУС 1—91).

gost.e-ecolog.ru

1.4. Подготовка к испытаниям

1.4.1. Посуду и материалы готовят по ГОСТ 9.048—89.

1.4.2. Среды для выращивания и хранения чистых культур бактерий и для испытаний готовят по ГОСТ 9.048—89 и приложению 2.

Рецептура сред приведена в таблице.

Наименование реактивов	Количество для среды						
	1-Чапека-Докса с агаром	2-Чапека-Докса с агаром без сахарозы	3-из выщелоченного агара	4-МПА	5-Чапека-Докса без сахарозы	6-Чапека-Докса	7-БСА
1. Калий фосфорнокислый однозамещенный, г	0,7	0,7	—	—	0,7	0,7	—
2. Калий фосфорнокислый двузамещенный, г	0,3	0,3	—	—	0,3	0,3	—
3. Магний сернокислый, г	0,5	0,5	—	—	0,5	0,5	—
4. Натрий азотнокислый, г	2,0	2,0	—	—	2,0	2,0	—
5. Калий хлористый, г	0,5	0,5	—	—	0,5	0,5	—
6. Железо сернокислое, г	0,01	0,01	—	—	0,01	0,01	—
7. Сахароза, г	30,0	—	—	—	—	30,0	—
8. Агар-агар, г	20,0	Выщелоченный 20,0	Выщелоченный 20,0	20,0	—	—	20,0
9. Мясо-пептонный бульон, $см^3$	—	—	—	До 1000	—	—	500,0
10. Четырехбалллинговое неохмеленное пивное сусло (4 % сахара), $см^3$	—	—	—	—	—	—	480,0
11. Вода дистиллированная, $см^3$	До 1000	До 1000	До 1000	—	До 1000	До 1000	—

1.4.3. Чистые культуры бактерий пересевают и выращивают, как указано в приложении 1.

1.4.4. Для контроля жизнеспособности бактерий в чашку Петри наливают среду 4 в количестве 20—30 $см^3$ и дают ей застыть.

1.4.5. Для размещения образцов смазок среду 3 наливают в чашку Петри в количестве 20—30 $см^3$ и дают ей застыть.

1.4.6. Для размещения образцов масел готовят лунки, для чего в застывшей среде 3 стерильным сверлом диаметром 10 мм просверливают пять лунок глубиной около 5 мм.

1.5. Проведение испытаний

1.5.1. Суспензию бактерий готовят, как указано в приложении 3.

1.5.2. Для заражения образцов используют водную суспензию смеси бактерий.

1.5.3. Образцы смазок наносят скальпелем в количестве пяти кусочков размером 10·10 мм толщиной 1,5—2,0 мм на поверхность среды в чашку Петри, приготовленную, как указано в п. 1.4.5.

1.5.4. Образцы масел наливают в лунки (на 1 мм ниже уровня среды), приготовленные, как указано в п. 1.4.6.

1.5.5. Чашка Петри с образцами и контрольные чашки Петри, приготовленные, как указано в пп. 1.4.4 и 1.4.5, помещают в бокс. Поверхность образцов и сред заражают водной суспензией смеси бактерий пульверизатором, не допуская слияния капель.

1.5.6. Чаши Петри с зараженными образцами и контрольные чашки (п. 1.4.4) помещают в эксикатор, на дно которого налита вода. Эксикатор устанавливают в термостат с температурой (29±2) °С.

1.5.7. Образцы выдерживают в термостате 56 сут.

1.5.8. Через 1—3 сут после начала испытаний осматривают контрольную чашку Петри.

Если на поверхности среды рост бактерий и образование пигмента не наблюдается, культуры бактерий считают нежизнеспособными. Испытания прекращают и повторяют их на новых образцах с вновь приготовленной суспензией бактерий из новой партии бактерий.

1.5.9. Через 28 сут проводят промежуточный осмотр образцов. Испытания образцов, на которых обнаруживают развитие бактерий, прекращают.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

1.5.10. По окончании испытаний чашки Петри извлекают из эксикатора и осматривают образцы.

1.6. Обработка результатов

1.6.1. Образцы масел и смазок осматривают через лупу при 2,5—7-кратном увеличении.

1.6.2. Масла и смазки считают бактериостойкими при отсутствии развития бактерий и пигментации на всех испытанных образцах.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

2. МЕТОД 2

2.1. Сущность метода заключается в выдерживании образцов зараженных водной суспензией бактерий в условиях, оптимальных для развития бактерий, на среде с дополнительным источником минерального питания.

Метод применяют для определения бактериостойкости масел и смазок в условиях, имитирующих минеральные загрязнения.

2.2. Отбор образцов — по п. 1.2.

2.2.1. Виды бактерий — по п. 1.2.4.

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

2.4. Подготовка к испытаниям — по пп. 1.4.2—1.4.4.

2.4.1. Для размещения образцов смазок среду 2 (см. табл.) наливают в чашку Петри в количестве 20—30 $см^3$ и дают ей застыть.

2.4.2. Для размещения образцов масел готовят лунки, как указано в п. 1.4.6, используя среду 2.

2.4.3. **(Исключен, Изм. № 1).**

2.5. Проведение испытаний

2.5.1. Образцы смазок наносят, как указано в п. 1.5.3, на поверхность среды в чашку Петри, приготовленную по п. 2.4.1.

2.5.2. Образцы масел наливают в лунки, приготовленные, как указано в п. 2.4.2, в соответствии с требованиями п. 1.5.4.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

2.5.3. **(Исключен, Изм. № 1).**

2.5.4. Дальнейший порядок проведения испытаний соответствует требованиям пп. 1.5.5 и 1.5.6.

2.5.5. Образцы выдерживают в термостате 28 сут.

2.5.6. Дальнейший порядок проведения испытаний соответствует требованиям пп. 1.5.8—1.5.10 с промежуточным осмотром образцов через 7—14 сут.

2.6. Обработка результатов — по п. 1.6.

2.7. Испытание масел допускается проводить по ГОСТ 9.052—88, метод 3. Вместо культур грибов по ГОСТ 9.052—88 используют бактериальные культуры по п. 1.2.4. Отбор для оценки бактериостойкости масел проводят через каждые сутки.

(Введен дополнительно, Изм. № 1).

3. МЕТОД 3

3.1. Сущность метода заключается в выдерживании образцов зараженных водной суспензией бактерий в условиях, оптимальных для развития бактерий, на среде с дополнительным источником минерального и органического питания.

Метод применяют для определения бактериостойкости масел и смазок в условиях, имитирующих минеральные и органические загрязнения.

3.2. Отбор образцов — по п. 1.2.

3.2.1. Виды бактерий — по п. 1.2.4.

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

3.4. Подготовка к испытаниям — по п. 1.4.

3.4.1. Для размещения образцов смазок готовят чашки Петри, как указано в п. 2.4.1, используя среду 4.

3.5. Проведение испытаний — по п. 1.5.

3.5.1. Образцы выдерживают в термостате в условиях, указанных в п. 1.5.6, 14 сут.

3.5.2. Промежуточный осмотр образцов проводят через 7 сут после начала испытаний.

3.6. Обработка результатов — по п. 1.6.

4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ — по ГОСТ 9.023—74.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1
Обязательное

ПЕРЕСЕВ, ВЫРАЩИВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ

1. Пересев культур бактерий

1.1. Пересев культур бактерий проводят в специальном боксе, предварительно продезинфицированном.

1.2. На пробирках, приготовленных для пересева, обозначают виды бактерий, ставят дату пересева, которую заносят в журнал регистрации пересева культур бактерий.

1.3. Пересев культур бактерий в пробирки со стерильной питательной средой проводят при помощи бактериологической петли. Петлю изготавливают из проволоки (платина, хром, никель, молибден) диаметром (0,6±0,1) мм, длиной (120±20) мм, укрепленной в стеклянном или металлическом держателе.

1.4. Пробирки, засеянные бактериями, помещают в термостат при температуре (29±2) °С и выдерживают в нем три—четыре дня до появления хорошего роста и пигментации.

1.5. Чистоту выросшей культуры контролируют визуально и микроскопированием.

1.4, 1.5. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

2. Выращивание и хранение культур бактерий

2.1. Чистые культуры бактерий для проведения испытаний выращивают и хранят в пробирке со скошенной поверхностью питательной среды.

Допускается хранить их в виде суспензии в среде 5 п. 1.4.2 в пробирках под слоем минеральных масел МК-8, или МС-8рк, или МС-8п толщиной 1 см.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

2.2. Культуры бактерий пересевают в пробирки для получения музейных партий.

Примечание. Музейные партии предназначены для сохранения чистых культур и получения из них рабочих партий.

2.3. Количество музейных партий рекомендуется иметь от 3 до 5 в зависимости от объема проводимых испытаний в течение месяца.

2.4. Пересев музейных культур необходимо проводить 1 раз в 3 мес.

2.5. Для выращивания культур бактерий используют среду мясопептонного агара (МПА) или среду 7—БСА.

2.4, 2.5. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

2.6. Пробирки с чистыми культурами бактерий хранят в холодильнике при температуре (7±3) °С.

2.7. Допустимый срок хранения культур — 6 мес.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2
Обязательное

ПРИГОТОВЛЕНИЕ МЯСО-ПЕПТОННОГО АГАРА

1. Для приготовления мясо-пептонного агара (МПА) можно использовать мясо-пептонный бульон (МПБ). Основой для его приготовления является мясная вода, которую обычно готовят следующим образом: 500 г мяса, освобожденного от костей, жира и сухожилий, разрезают на мелкие куски (или пропускают через мясорубку), заливают 1 л водопроводной воды и оставляют при комнатной температуре на 12 ч, или в термостате при 30 °С на 6 ч, или при 37 °С — на 2 ч. За это время из мяса экстрагируются различные вещества, в том числе водорастворимые витамины. Затем мясо отжимают через марлю или полотно и фильтрат кипятят 5 мин. При этом свертываются белки. Остывшую массу фильтруют без перемешивания через ватный фильтр и добавляют воды до первоначального объема. К мясной воде добавляют 1 % пептона и 0,5 % поваренной соли.

2. К МПБ, бульону Хоттингера или разбавленному гидролизату Хоттингера добавляют 2—3 % агар-агара. pH МПА должен быть 7±0,2. Стерилизуют при 1 атм. Стерильная среда может храниться в течение 1—2 месяцев.

3. Для приготовления МПА можно также использовать бульон Хоттингера (180 мг % аминого азота) или гидролизат Хоттингера (800 мг % аминого азота). Для приготовления МПА гидролизат Хоттингера разбавляют в четыре—пять раз.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3
Обязательное

ПРИГОТОВЛЕНИЕ СУСПЕНЗИЙ БАКТЕРИЙ И КОНТРОЛЬ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ БАКТЕРИЙ

1. Для приготовления суспензии клеток используют культуры бактерий возрастом от 2 до 5 сут, считая с момента пересева.

2. Суспензию клеток с концентрацией 1—2 мин/см^3 готовят отдельно для каждого вида бактерий. Для этого в пробирку или колбу, содержащую (20±5) см^3 стерильной воды, переносят клетки бактерий из пробирки с чистой культурой.

3. Перенос бактериальных клеток из пробирки в колбу осуществляется захватом клеток бактериологической петлей.

4. Приготовленные в соответствии с требованиями пп. 1—3 суспензии бактерий смешивают в равных объемах и используют для заражения образцов.

5. Срок хранения суспензии бактерий не более 4 ч с момента их приготовления.

gost.e-ecolog.ru