

Единая система защиты от коррозии и старения

МАСЛА И СМАЗКИ

ГОСТ  
9.082—77

Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию бактерий

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

|                                    |             |
|------------------------------------|-------------|
| <i>Bacillus subtilis</i>           | ВКМВ-1665Д, |
| <i>Bacillus pumilus</i>            | ВКМВ-1664Д, |
| <i>Bacillus stearothermophilus</i> | ВКМВ-1668Д, |
| <i>Bacillus coagulans</i>          | 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).

## С. 2 ГОСТ 9.082—77

### 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<br>20,0                 | Выщелоченный<br>20,0     | 20,0       | —                           | —              | 20,0  |
| 9. Мясо-пептонный бульон, см <sup>3</sup>                                      | —                       | —                                    | —                        | До<br>1000 | —                           | —              | 500,0 |
| 10. Четырехбаллинговое неохмеленное пивное сусло (4 % сахара), см <sup>3</sup> | —                       | —                                    | —                        | —          | —                           | —              | 480,0 |
| 11. Вода дистиллированная, см <sup>3</sup>                                     | 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<sup>3</sup> и дают ей застыть.

1.4.5. Для размещения образцов смазок среду 3 наливают в чашку Петри в количестве 20—30 см<sup>3</sup> 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. Чашки 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<sup>3</sup> 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  $(0,6 \pm 0,1)$  мм, длиной  $(120 \pm 20)$  мм, укрепленной в стеклянном или металлическом держателе.

1.4. Пробирки, засеянные бактериями, помещают в термостат при температуре  $(29 \pm 2)$  °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 пересевуют в пробирки для получения музейных партий.

**П р и м е ч а н и е.** 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  $(7 \pm 3)$  °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, нарезают 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. Оставшую 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. рН МПА должен быть  $7 \pm 0,2$ . Стерилизуют при 1 атм. Стерильная среда может храниться в течение 1—2 месяцев.

3. Для приготовления МПА можно также использовать бульон Хоттингера (180 мг % аминного азота) или гидролизат Хоттингера (800 мг % аминного 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 посева.

2. Суспензию клеток с концентрацией 1—2 млн/см<sup>3</sup> готовят отдельно для каждого вида бактерий. Для этого в пробирку или колбу, содержащую  $(20 \pm 5)$  см<sup>3</sup> 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.