



**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ  
СОЮЗА ССР**

**ЕДИНАЯ СИСТЕМА ЗАЩИТЫ ОТ КОРРОЗИИ И СТАРЕНИЯ**

## **МАСЛА И СМАЗКИ**

**МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ИСПЫТАНИЙ НА СТОЙКОСТЬ  
К ВОЗДЕЙСТВИЮ БАКТЕРИЙ**

**ГОСТ 9.082-77**

**Издание официальное**

**ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СТАНДАРТОВ  
СОВЕТА МИНИСТРОВ СССР  
Москва**

Редактор *Т. В. Смыка*  
Технический редактор *В. Ю. Ова*  
Корректор *Л. А. По*

Сдано в наб. 15.12.77 Подп. в печ. 11.01.78 0,5 п. л. 0,3

3 ков.

Ордела «Знак Почета» Издательство стандартов, Москва,  
Тип. «Московский печатник», Москва, Лялин

Единая система защиты от коррозии и старения

## МАСЛА И СМАЗКИ

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 actionГОСТ  
9.082—77Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР  
от 5 декабря 1977 г. № 2804 срок действия установлен

с 01.01 1979 г.

до 01.01 1984 г.

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 ГОСТ 2517—69 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. Виды бактерий

1.2.4.1. Для испытаний применяют смесь чистых культур следующих видов бактерий: *pseudomonas aeruginosa* (pyocyanea); *mycobacterium lacticolum*.

1.2.4.2. Чистые культуры бактерий получают во Всесоюзной коллекции микроорганизмов института микробиологии АН СССР, поддерживают периодическим пересевом и выращивают непосредственно перед испытаниями. Культуры бактерий обновляют один раз в год—два.



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

1.3. Аппаратура, материалы и реактивы — по ГОСТ 9.048—75.

1.4. Подготовка к испытаниям

1.4.1. Посуду и материалы готовят по ГОСТ 9.048—75.

1.4.2. Среды для выращивания и хранения чистых культур бактерий и для испытаний готовят по ГОСТ 9.048—75 и обязательно приложению 2.

Рецептура сред приведена в таблице.

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

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

1.4.5. Для размещения образцов смазок среду 3 наливают в чашку Петри в количестве 20—30 мл 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 обязательном 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  $10 \times 10$  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  $29 \pm 2^\circ\text{C}$ .

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 рост бактерий, прекращают.

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 роста бактерий и пигментации на всех испытанных образцах.

## 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—75.

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 мл 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. Для размещения образцов масел, которые испытывать в лунках не представляется возможным, готовят пробирки с 2—3 мл среды 5.

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, или в пробирки, приготовленные, как указано в п. 2.5.3, в количестве 2—3 мл.

2.5.3. В пробирки с образцами масел вносят 0,3—0,5 мл водной суспензии бактерий, приготовленной, как указано в пп. 1.5.1—1.5.2.

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.

Наименование реактивов	Среда					
	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
Калий фосфорнокислый однозамещенный, г	0,7	0,7	—	—	0,7	0,7
Калий фосфорнокислый двузамещенный, г	0,3	0,3	—	—	0,3	0,3
Магний сернокислый, г	0,5	0,5	—	—	0,5	0,5
Натрий азотнокислый, г	2,0	2,0	—	—	2,0	2,0
Калий хлористый, г	0,5	0,5	—	—	0,5	0,5
Железо сернокислое, г	0,01	0,01	—	—	0,01	0,01
Сахароза, г	30,0	—	—	—	—	30,0
Агар-агар, г	20,0	Выщелоченный, 20,0	Выщелоченный, 20,0	20,0	—	—
Вода дистиллированная, мл	до 1000	до 1000	до 1000	—	до 1000	до 1000
Мясо-пептонный бульон, мл	—	—	—	до 1000	—	—

### 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—75.

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  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  и выдерживают в нем три—четыре дня до появления хорошего роста и пигментации.

1.5. Чистоту выросшей культуры контролируют микроскопированием.

2. Выращивание и хранение культур бактерий

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

2.2. Культуры бактерий пересевуют 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 два раза в месяц.

2.5. Для выращивания культур бактерий используют среду мясопептонного агара (МПА).

2.6. Пробирки с чистыми культурами бактерий хранят в холодильнике при температуре  $7 \pm 3^\circ\text{C}$ .

2.7. Допустимый срок хранения культур — один месяц.

**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°C на 6 ч, или при 37°C — 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  $7 \pm 0,2$ . Стерилизуют при 1 атм. Стерильная среда может храниться в течение 1—2 месяцев.

3. Для приготовления МПА можно также использовать бульон Хоттингера (180 мг % аминокислот азота) или гидролизат Хоттингера (800 мг % аминокислот 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/мл готовят отдельно для каждого вида бактерий. Для этого в пробирку или колбу, содержащую 20 ± 5 мл 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.

---



**Изменение № 1 ГОСТ 9.082—77 Единая система защиты от коррозии и старения. Масла и смазки. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию бактерий**

**Утверждено и введено в действие Постановлением Государственного комитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 22.10.90 № 2659**  
**Дата введения 01.07.91**

По всему тексту стандарта заменить единицы величин: мл на см<sup>3</sup>, л на дм<sup>3</sup>, млн/мл на млн/см<sup>3</sup>.

Пункт 1.2.1. Заменить ссылку: ГОСТ 2517—69 на ГОСТ 2517—85.

Пункты 1.2.4, 1.2.4.1 изложить в новой редакции: «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.

Пункт 1.2.4.2. Заменить слово: «микробиологии» на «биохимии и физиологии микроорганизмов».

Пункт 1.3 дополнить абзацами:

«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».

Пункты 1.3, 1.4.1, 1.4.2, 2.3, 3.3. Заменить ссылку: ГОСТ 9.048—75 на ГОСТ 9.048—89.

Пункт 1.4.2. Таблицу изложить в новой редакции (см. с. 150).

Пункт 1.5.9. Заменить слово: «рост» на «развитие».

Пункт 1.6.2. Заменить слово: «роста» на «развитие».

Пункт 2.4.3 исключить.

Пункт 2.5.2. Исключить слова: «или в пробирки, приготовленные, как указано в п. 2.5.3, в количестве 2—3 мл».

Пункт 2.5.3 исключить.

Раздел 2 дополнить пунктом — 2.7: «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 бактериальной стойкости масел проводят через каждые сутки».

(Продолжение см. с. 150)

Наименование реактивов	Количество для среды						
	1-Чапека- Докса с агаром	2-Чапе- ка-Док- са с агаром без са- харозы	3-из вы- щелочен- ного ага- ра	4 -МПА	5-Чапека- Докса без сахарозы	6-Чапека- Докса	7-БСА
1. Калий фос- форнокислый од- нозамещенный, г	0,7	0,7	—	—	0,7	0,7	—
2. Калий фос- форнокислый двухзамещенный, г	0,3	0,3	—	—	0,3	0,3	—
3. Магний сер- нокислый, г	0,5	0,5	—	—	0,5	0,5	—
4. Натрий азо- тнокислый, г	2,0	2,0	—	—	2,0	2,0	—
5. Калий хло- ристый, г	0,5	0,5	—	—	0,5	0,5	—
6. Железо сер- нокислое, г	0,01	0,01	—	—	0,01	0,01	—
7. Сахароза, г	30,0	—	—	—	—	30,0	—
8. Агар-агар, г	20,0	Выще- лочен- ный, 20,0	Выще- лочен- ный, 20,0	20,0	—	—	20,0
9. Мясо-пеп- тонный бульон, см <sup>3</sup>	—	—	—	До 1000	—	—	500,0
10. Четырехбал- ланговое неох- меленное пивное сусло (4 % саха- ра), см <sup>3</sup>	—	—	—	—	—	—	480,0
11. Вода дис- тиллированная, см <sup>3</sup>	До 1000	До 1000	До 1000	—	До 1000	До 1000	—

(Продолжение см. с. 151)

(Продолжение изменения к ГОСТ 9.082—77)

Приложение 1. Пункт 1.4. Заменить значение:  $26 \pm 2$  °С на  $(29 \pm 2)$  °С.

Пункт 1.5 после слов «культуры контролируют» дополнить словами: «визуально и».

Пункт 2.1 дополнить словами: «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».

Пункт 2.4. Заменить слова: «два раза в месяц» на «1 раз в 3 мес».

Пункт 2.5 дополнить словами: «или среду 7—БСА».

Пункт 2.7. Заменить слова: «один месяц» на «6 мес».

(ИУС № 1 1991 г.)

---