

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

**СРЕДСТВА ЗАЩИТНЫЕ
ДЛЯ ДРЕВЕСИНЫ**

**Повидовой метод испытания защищающей способности
антисептиков от воздействия деревоокрашивающих
и плесневых грибов**

Издание официальное

**МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ
ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
М и н с к**

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Российской Федерацией. ТК 82 «Защита древесины и древесных материалов»

ВНЕСЕН Техническим секретариатом Межгосударственного Совета по стандартизации, метрологии и сертификации

2 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации
21 октября 1993 г.

За принятие стандарта проголосовали:

Наименование государства	Наименование национального органа по стандартизации
Республика Беларусь	Белстандарт
Республика Казахстан	Казглавстандарт
Российская Федерация	Госстандарт России
Украина	Госстандарт Украины

3 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

4 ПЕРЕИЗДАНИЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания на территории Российской Федерации без разрешения Госстандарта России

СРЕДСТВА ЗАЩИТНЫЕ ДЛЯ ДРЕВЕСИНЫ

Повидовой метод испытания защищающей способности антисептиков от воздействия деревоокрашивающих и плесневых грибов

Wood-protecting preparations.
Semblance method testing way for toxicity to wood-colouring and moulding fungi

Дата введения 1995—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на защитные средства для древесины (далее — защитные средства) и устанавливает метод повидовых испытаний токсичности отдельных химических веществ или их комбинаций по отношению к плесневым и деревоокрашивающим грибам.

Метод предназначен для исследовательских целей.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 892—89 Калька бумажная. Технические условия

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

ГОСТ 5556—81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9412—93 Марля медицинская. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 17206—96 Агар микробиологический. Технические условия

ГОСТ 23932—90 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 24104—88* Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия

ТУ 6—09—10—238—84 Сусло-агар сухой.

3 Сущность метода

Сущность метода повидовых испытаний антисептиков состоит в пятнадцатидневной выдержке чистых культур стандартных штаммов грибов на питательной сусло-агаровой среде, содержащей антисептик в заданных концентрациях, и установлении стадий развития и отмирания гриба.

4 Пробы и образцы

4.1 Пробы защитных средств отбирают по технической документации.

4.2 Защитные средства испытывают не менее чем при пяти концентрациях. Концентрации подбирают таким образом, чтобы максимальная из них, предположительно обеспечивающая отмирание гриба, была реальной для практического применения. Для испытаний рекомендуются следующие концентрации: 0,016; 0,064; 0,256; 1,024; 4,096 %.

4.3 Питательную сусло-агаровую среду, используемую в качестве субстрата для выращивания культур грибов, готовят из ячменного неохмеленного сусла и микробиологического агара или из сухого сусло-агара.

4.4 Контролем служит питательная среда без добавления защитного средства.

* С 1 июля 2002 г. вводится в действие ГОСТ 24104—2001.

5 Виды грибов

5.1 Для испытания эффективности защитного средства используют чистые культуры стандартных штаммов (штаммы «Сенеж») 20 видов плесневых и деревоокрашающих грибов:

- *Stemphulium piriforme*;
- *Cladosporium herbarum*;
- *Alternaria humikola*;
- *Sporidesmium echinellum*;
- *Phialophora fastigiata*;
- *Aposphaeria pinea*;
- *Discula pinicola*;
- *Burgoa anomola*;
- *Leptographium pullulans*;
- *Sortaria specia*;
- *Verticillium marquandi*;
- *Fusarium javanicum*;
- *Aspergillus viger*;
- *Paecilomyces veriottii*;
- *Trichoderma harzianum*;
- *Chaetomium spiriliformum*;
- *Aspergillus flaiivus*;
- *Penicillium cyclopium*;
- *Trichosporium heteromorphum*;
- *Pullularia pullulans*.

6 Аппаратура и материалы

6.1 Для проведения испытаний применяют:

- автоклав медицинский, обеспечивающий давление пара от 0,15 до 0,20 МПа;
- термостат, обеспечивающий температуру не менее 100 °C;
- весы лабораторные по ГОСТ 24104 с погрешностью взвешивания не более 0,02 г;
- весы аналитические по ГОСТ 24104 с погрешностью взвешивания не более 0,0002 г;
- лампу бактерицидную ртутно-кварцевую;
- спиртовки стеклянные лабораторные по ГОСТ 23932;
- бюксы медицинские;
- иглу бактериологическую (платиновую или хромоникелевую) длиной не менее 100 мм;
- баню водянную лабораторную;
- бумагу фильтровальную по ГОСТ 12026;
- кальку бумажную по ГОСТ 892;
- вату медицинскую гигроскопическую по ГОСТ 5556;
- марлю медицинскую по ГОСТ 9412;
- колбы конические узкогорлые по ГОСТ 23932 вместимостью 250 и 500 см³;
- колбы конические широкогорлые по ГОСТ 23932 вместимостью 750; 1000 и 4000 см³;
- колбы мерные по ГОСТ 1770 вместимостью 50 и 250 см³;
- пипетки вместимостью 50 см³;
- стаканчики для взвешивания (бюксы) 30 × 40 и 40 × 60 мм по ГОСТ 23932;
- воронки стеклянные по ГОСТ 23932;
- стаканы химические с носиком по ГОСТ 23932 вместимостью 400 и 1000 см³;
- пробирки бактериологические 20 × 2000 мм по ГОСТ 23932;
- чашки Петри диаметром не менее 100 мм;
- сусло ячменное неожемленное;
- agar микробиологический по ГОСТ 17206;
- сусло-агар сухой по ТУ 6—09—10—238—84;
- спирт денатурат;
- воду дистиллированную по ГОСТ 6709;
- растворы защитных средств заданных концентраций.

7 Подготовка к испытанию

7.1 Для приготовления питательной среды отмеряют по 150 см^3 ячменного неохмеленного сусла, приготовленного в соответствии с приложением А, разливают его в колбы, добавляют по 4 г измельченного агара, плотно закрывают ватно-марлевыми пробками, завязывают калькой и стерилизуют в автоклаве в течение 40 мин при давлении 0,1 МПа.

7.2 На каждый вариант испытания готовят пять колб с питательной средой.

7.3 После стерилизации питательной среды непосредственно перед ее разливом в чашки Петри в каждую колбу добавляют по 50 см^3 раствора антисептика расчетной концентрации, обеспечивающей заданную концентрацию в общем объеме питательной среды, равном 200 см^3 .

7.4 Культуры грибов для испытаний выращивают в бактериологических пробирках вместимостью 50 см^3 на питательной сусло-агаровой среде, содержащей на 1000 см^3 среды агар-агара 20—25 г и солодового экстракта 250 г. Питательную среду наливают в бактериологические пробирки на одну третью часть их объема, стерилизуют в автоклаве при давлении $(0,15 \pm 0,01)$ МПа в течение 25 мин, дают остыть с образованием склоненной поверхности среды и за тридцать дней до испытания инфицируют в стерильных условиях определенным видом чистой культуры гриба с помощью бактериологической иглы.

7.5 Водорастворимые защитные средства растворяют в дистиллированной воде, органикорасторимые — в летучем органическом растворителе.

7.6 Растворы защитных средств готовят объемно-весовым способом. Навеску сухого защитного средства m для приготовления раствора заданной концентрации c в процентах определяют по формуле

$$m = \frac{V \cdot \rho \cdot c}{100}, \quad (1)$$

где V — объем приготовляемого раствора, см^3 ;

ρ — плотность растворителя, $\text{г}/\text{см}^3$.

7.7 Навеску сухого защитного средства взвешивают в бюксе с погрешностью не более 0,0002 г, переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3 , доливают до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

8 Проведение испытаний

8.1 Испытания защитного средства заданной концентрации проводят не менее чем три раза на каждом виде гриба. На один вариант испытания (одной концентрации) готовят 60 чашек Петри.

8.2 Разлив питательной среды по чашкам Петри проводят в бюксе одной стерильной пипеткой. Разлив начинают с контрольной среды без антисептика, последовательно переходя от меньшей концентрации к большей. В каждую чашку Петри наливают 15 см^3 питательной среды.

8.3 Инфицирование питательной среды в чашках Петри производят спорами или кусочками мицелия тридцатидневных культур грибов. Инфицирующий материал берут из зоны наиболее раннего плодоношения гриба.

8.4 Инфицирование питательной среды проводят в пяти местах по схеме "конверта" через приоткрытую крышку путем уколов иглой.

8.5 Чашки с инфицированной средой выдерживают в комнатных условиях при температуре воздуха $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ и влажности воздуха $(70 \pm 2)\%$. Продолжительность испытания составляет 15 сут.

8.6 Состояние развития гриба оценивают визуально. Первый осмотр чашек проводят на следующий день, последующие — через каждые сутки.

9 Обработка результатов

9.1 В качестве критериев оценки используют время появления колоний грибов, их диаметр и характеристику. Отмечают концентрации, вызывающие: снижение темпа прорастания грибов — P_1 ; снижение вероятности прорастания — P_2 ; морфологические аномалии воздушного мицелия — P_3 ; существенную задержку роста грибов — P_4 ; подавление плодоношения — P_5 ; стимуляцию темпа прорастания грибов — P_6 ; стимуляцию вероятности прорастания грибов — P_7 ; отмирание гриба (отсутствие роста) — P_{Lr} .

9.2 Защитные средства классифицируют по основному показателю — концентрации раствора, при которой происходит отмирание гриба, в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

Концентрация раствора, вызывающая отмирание гриба, %	Класс защитного средства
Менее 0,256	Высокоэффективный
0,256 — менее 1,0	Эффективный
1,0 — менее 4,0	Слабоэффективный
Более 4,0	Неэффективный

10 Протокол испытаний

10.1 Протокол испытаний должен содержать следующие данные:

- наименование и марку защитного средства;
- концентрацию защитного средства (c_i) в процентах;
- количество питательной среды с заданной концентрацией защитного средства (M_i) в кубических сантиметрах;
- массу навески защитного средства, взятой для приготовления питательной среды M_i (m), в граммах;
 - состояние развития грибов на питательной среде с концентрацией защитного средства c_i ;
 - класс защитного средства;
 - дату проведения испытания и подпись оператора.

ПРИЛОЖЕНИЕ А (справочное)

Приготовление ячменного неохмеленного сусла

Для приготовления ячменного сусла берут 250 г размолотого ячменного солода, приливают 1 л воды и нагревают на водяной бане в течение 30 мин до 45 °C. При этой температуре смесь выдерживают 30 мин, затем продолжают подогрев до 60 °C в течение 20 мин и выдерживают смесь при этой температуре в течение 20 мин. После этого смесь быстро нагревают до 72 °C и охлаждают до 60 °C. При этой температуре смесь выдерживают в течение 20 мин. Далее воду в бане нагревают до кипения и сусло прогревают на кипящей бане 30 мин.

По окончании этой операции сусло проверяют на готовность по содержанию в нем крахмала. Для этого к капле готового сусла приливают каплю 5 %-ного раствора йода. Отсутствие черного осадка свидетельствует о готовности сусла, которое не должно содержать крахмала.

Готовое сусло фильтруют и стерилизуют в автоклаве в течение 90 мин при давлении 0,15 МПа. Приготовленное по данной методике сусло имеет сахаристость 12 баллингов.

Для приготовления питательной среды используют сусло с сахаристостью 4 баллинга, для чего его разбавляют дистиллированной водой. Количество добавляемой воды рассчитывают по формуле

$$V_2 = \left(\frac{A_1}{4} - 1 \right) \cdot V_1, \quad (A.1)$$

где A_1 — сахаристость приготовленного сусла;
 V_1 — количество приготовленного сусла, см³.