

ICS 71.060.50
G 12



中华人民共和国国家标准

GB/T 23763—2009

光催化抗菌材料及制品 抗菌性能的评价

Photo-catalytic antimicrobial materials and products—
Assessment for antimicrobial activity and efficacy

2009-05-13 发布

2010-01-01 实施

数码防伪

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准由中国石油和化学工业协会提出。

本标准由全国化学标准化技术委员会无机化工分会(SAC/TC 63/SC 1)归口。

本标准负责起草单位:中国科学院理化技术研究所。

本标准参加起草单位:东陶(中国)有限公司、湖南日之谷环保科技有限公司、广东微生物分析检测中心、攀枝花纳尔美环境科技有限公司。

本标准主要起草人:郑苏江、只金芳、高月红。

本标准为首次发布。

引 言

随着社会的发展、科技的进步,光催化材料及制品的应用日渐广泛。为保护光催化抗菌产业的健康发展,建立评价体系,规范生产企业相关产品质量,规范市场准入及增强国际竞争力,特制定本标准。

本标准主要涉及光催化材料及制品的抗菌性能试验方法与评价,对于光催化材料及制品的其他性能如自清洁、空气净化、水体净化等试验方法可参考其他相关标准,本标准不涉及。

另外,光催化抗菌效果的长期保持性能涉及因素较多,需要进一步研究,本标准暂不涉及。

光催化抗菌材料及制品 抗菌性能的评价

1 范围

本标准规定了光催化抗菌材料及制品的抗菌性能的术语和定义、抗菌性能的评价、试验方法和试验报告。

本标准适用于在光照激发下产生抗菌性能的光催化抗菌材料及制品,要求试验样品表面平整、与覆盖膜接触良好,其材质可以为玻璃、陶瓷、塑料、涂层、织物等。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 4789.2 食品卫生微生物学检验 菌落总数测定

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法(ISO 3696:1987,MOD)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

抑菌 bacteriostasis

抑制微生物生长繁殖的作用,称为抑菌。

3.2

杀菌 bactericide

具有杀死微生物营养体和繁殖体的作用,称为杀菌。

3.3

抗菌 antimicrobial

同时具有抑菌和杀菌作用,称为抗菌。

3.4

光催化 photo-catalysis

在一定光源激发下,所产生的催化作用,称为光催化。

4 抗菌性能的评价

按本标准规定的试验方法,得到的总抗菌率(R_{Σ})的评价:

抗菌率 $\geq 90\%$,具有抗菌作用;

抗菌率 $\geq 99\%$,具有较强的抗菌作用。

注:在报告上同时注明在 365 nm 光源照射下的光催化抗菌贡献值($R_{光}$)。

5 试验方法

5.1 安全提示

本试验方法中使用的紫外光源对于眼睛及皮肤具有伤害,操作者须小心谨慎!注意反应器须密闭,当光源打开时不要用眼睛直接观察。

本试验方法中使用的部分试剂具有腐蚀性,操作者须小心谨慎!如溅到皮肤或眼睛应立即用水冲洗,严重者应立即治疗。

5.2 一般规定

本标准所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682—2008 中规定的三级水。

5.3 设备

5.3.1 黑灯管(UVA):主波长 365 nm;

5.3.2 紫外照度计:传感器在 UVA 段,测定范围 $0.1 \mu\text{W}/\text{cm}^2 \sim 199 \text{ mW}/\text{cm}^2$;

5.3.3 恒温培养箱;

5.3.4 压力蒸汽灭菌器。

5.4 试剂和材料

5.4.1 磷酸盐缓冲(PBS,0.06 mol/L)生理盐水洗脱液:

称取 2.7 g 磷酸二氢钾,7.0 g 磷酸氢二钾,8.5 g 氯化钠,加 1 000 mL 蒸馏水溶解。为便于细菌洗脱,可加入少量表面活性剂(如吐温-80)。置于压力蒸汽灭菌器中,于 121 °C 下高压湿热灭菌 15 min。

灭菌后的洗脱液应于 5 °C~10 °C 下保存。保存期为 30 天。

5.4.2 菌种

5.4.2.1 大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*) AS 1.90

5.4.2.2 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) AS 1.89 等同 ATCC 6538p

注:根据产品的使用要求,也可选用其他菌种作为试验菌种,但所用菌种必须由国家相应菌种保藏管理中心提供并可溯源。

5.4.3 营养肉汤(NB)

称取 3.0 g 牛肉膏,10.0 g 蛋白胨,5.0 g 氯化钠,加 1 000 mL 蒸馏水溶解,室温下用 0.1 mol/L 的氢氧化钠或 0.1 mol/L 的盐酸溶液调节 pH 值为 7.0~7.2;置于压力蒸汽灭菌器中,于 121 °C 下高压湿热灭菌 15 min。

灭菌后的营养肉汤应于 5 °C~10 °C 下保存。保存期为 30 d。

5.4.4 营养琼脂(NA)

称取 5.0 g 牛肉膏,10.0 g 蛋白胨,5.0 g 氯化钠,15.0 g 琼脂,加 1 000 mL 蒸馏水溶解,室温下用 0.1 mol/L 的氢氧化钠或 0.1 mol/L 的盐酸溶液调节 pH 值为 7.0~7.2;置于压力蒸汽灭菌器中,于 121 °C 下高压湿热灭菌 15 min。

灭菌后的营养琼脂应于 5 °C~10 °C 下保存。保存期为 30 d。

5.4.5 平板计数琼脂

称取 2.5 g 酵母粉,5.0 g 胰蛋白胨,1.0 g 葡萄糖,15.0 g 琼脂,加 1 000 mL 蒸馏水溶解,室温下用 0.1 mol/L 的氢氧化钠或 0.1 mol/L 的盐酸溶液调节 pH 值为 7.0~7.2,置于压力蒸汽灭菌器中,于 121 °C 下高压湿热灭菌 15 min。

灭菌后的平板计数琼脂应于 5 °C~10 °C 下保存。保存期为 30 d。

5.5 操作步骤

5.5.1 菌种保藏

将标准菌种用接种环接种在营养琼脂(NA)斜面培养基或其他适合的培养基上,置于恒温培养箱中,在 37 °C±1 °C 下培养 24 h~48 h,然后于冰箱中在 5 °C~10 °C 下保藏。一个月内将其接种到新的斜面(以此类推),但接种次数从菌种中心得到的细菌算起不应超过 14 代。如保存时间达到或超过一个月,不可进行继代培养。

5.5.2 菌种的活化

将斜面保藏菌转接到 NA 平板或斜面培养基上,置于恒温培养箱中,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养 $24\text{ h}\pm 1\text{ h}$,每天转接 1 次,连续转接不超过 2 周。试验时应采用连续转接 2 次后(第 3~14 代)的 24 h 内转接的新鲜细菌培养物。

5.5.3 接种菌液的制备

用于大肠杆菌菌悬液配制的 NB 为 500 倍水稀释液(即 0.2%NB),用于金黄色葡萄球菌菌悬液配制的 NB 为 100 倍水稀释液(即 1%NB)。室温下用 0.1 mol/L 的氢氧化钠或 0.1 mol/L 的盐酸溶液调节 pH 值为 7.0~7.2;为便于细菌分散可加入少量表面活性剂(如吐温-80)。

用接种环从活化好的新鲜细菌培养物上取少量新鲜细菌,加到上述稀释液中,依次 10 倍梯度稀释,选取菌液浓度为 $2.5\times 10^5\text{ cfu/mL}\sim 10\times 10^5\text{ cfu/mL}$ 的梯度作为试验用菌液。

若配好的接种液不能立刻使用,则应在 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存,4 h 内使用。

5.5.4 样片制备

5.5.4.1 标准空白对照样

采用医用级聚乙烯(PE)制成的试样,标准尺寸为 $(50\text{ mm}\pm 2\text{ mm})\times (50\text{ mm}\pm 2\text{ mm})$,厚度小于 10 mm。准备 9 片,其中 3 片用于 0 接触时间洗脱,3 片用于明条件试验,3 片用于暗条件试验。

5.5.4.2 光催化试样

从制品或材料上选取平整的部分,按步骤 5.5.4.1 中的标准尺寸准备 6 片,3 片用于明条件试验,3 片用于暗条件试验。

5.5.4.3 试验用膜

采用医用级聚乙烯膜(PE)制成,标准尺寸为 $(40\text{ mm}\pm 2\text{ mm})\times (40\text{ mm}\pm 2\text{ mm})$,厚度 0.02 mm~0.1 mm;若样片尺寸较小,可相应减少膜的尺寸,并适当减少接种菌液量,但要保证接种菌液中细菌个数不少于 10^5 cfu 。

若试样是织物,采用的膜尺寸为 $(50\text{ mm}\pm 2\text{ mm})\times (50\text{ mm}\pm 2\text{ mm})$,样品尺寸为 $(40\text{ mm}\pm 2\text{ mm})\times (40\text{ mm}\pm 2\text{ mm})$ 。

5.5.4.4 试样、膜的清洁

用脱脂棉蘸酒精擦拭上述试样、膜 2 次~3 次,充分干燥待用。若试样不适合用酒精擦拭,也可采用其他适合的方法清洁(如无菌水擦拭后,置紫外灯下照射)。

对于光催化试样,采用不低于 1.0 mW/cm^2 的紫外(UVA)照射 24 h 来清洁样片表面。

5.5.5 接种

将步骤 5.5.4 中的各个试样分别放入洁净的平皿中,试验面朝上。用移液管准确量取 0.4 mL 5.5.3 制得的接种液,滴加到每个试样的表面,小心的用薄膜覆盖,调节薄膜使菌液分散均匀。注意不要将菌液溢出洒落,否则试验无效。

对于织物试样,将薄膜置于样品下方,然后滴加菌液到样品上。

5.5.6 培养

打开黑光灯(UVA),稳定 0.5 h 以上,然后调节黑灯管高度或功率来调节光照强度,采用紫外照度计测量,使明条件中到达样片表面的光照强度为 $0.01\text{ mW/cm}^2\sim 0.1\text{ mW/cm}^2$,具体光照强度须在报告中注明。

将步骤 5.5.5 得到的 3 个标准空白对照样、3 个光催化试样置于明条件下,另外 3 个标准空白对照样、3 个光催化试样置于暗条件下。为保证样品培养过程中的湿度,平皿中样品下部可以放置一块潮湿纱布,注意不要将菌液沾染到纱布上。

明条件和暗条件的培养条件控制为:温度 $35\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度不低于 85%,培养时间为 8 h~24 h。

5.5.7 洗脱、计数

5.5.7.1 “0”接触时间试样的洗脱、计数

在3个0接触时间的标准空白对照样中分别加入20 mL磷酸盐缓冲生理盐水洗脱液,充分洗脱后,按照GB/T 4789.2对洗脱液进行活菌计数。

5.5.7.2 培养后试样的洗脱、计数

采用步骤5.5.7.1的方法进行洗脱,之后马上按照GB/T 4789.2对洗脱液进行活菌计数。

注:如任何培养皿中均没有菌落,则记录为小于1。如果细菌数和稀释比例不成反比,则要考虑是否是脱落抗菌剂的作用而影响了菌落的形成。

5.6 活菌数计算

活菌数以N计,数值以cfu表示,按式(1)计算:

$$N = C \times D \times V \dots\dots\dots(1)$$

式中:

C——菌落数(3个培养皿的平均值)的数值,单位为cfu;

D——稀释倍数;

V——用于洗脱的洗脱液的体积的数值,单位为毫升(mL)。

对三个试样的活菌数取算术平均值,保留二位有效数字。

5.7 结果计算

5.7.1 试验成立条件

只有下述3个条件全部成立,试验被判定有效。反之,则试验无效,须重新进行试验。

1) 空白对照样0接触时间的活菌数满足如下条件:

$$(L_{最大} - L_{最小}) / L_{平均} \leq 0.2$$

式中:

$L_{最大}$ ——活菌数的最大对数值;

$L_{最小}$ ——活菌数的最小对数值;

$L_{平均}$ ——三个试样的活菌数对数的平均值。

2) 0接触时间空白对照样的活菌平均值应为 $(1.0 \sim 4.0) \times 10^5$ cfu。

3) 明条件、暗条件的3个空白对照样经8 h~24 h培养后的活菌数均不能小于 1.0×10^3 cfu。

5.7.2 抗细菌率的计算

试验成立条件下,抗细菌率以 $R_{\text{抗}}$ 计,数值以%表示,按式(2)计算:

$$R_{\text{抗}} = [(C_0 - C_1) / C_0] \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

式中:

C_0 ——明条件下对照样片经培养后的活菌计数的数值,单位为cfu;

C_1 ——明条件下光催化样片经培养后的活菌计数的数值,单位为cfu。

光催化材料在UVA照射下的抗细菌贡献值以 $R_{\text{光}}$ 计,数值以%计算,按式(3)计算:

$$R_{\text{光}} = [(B_1 - C_1) / B_1] \times 100 \dots\dots\dots(3)$$

式中:

B_1 ——暗条件下光催化样片经培养后的活菌计数的数值,单位为cfu。

6 试验报告

试验报告至少包括以下内容：

- a) 光照条件(包括光源波长、到达试样表面的光照强度、光照时间)；
 - b) 试验用菌；
 - c) 抗细菌率($R_{总}$ 、 $R_{光}$)等。
-

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
光催化抗菌材料及制品
抗菌性能的评价
GB/T 23763—2009

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

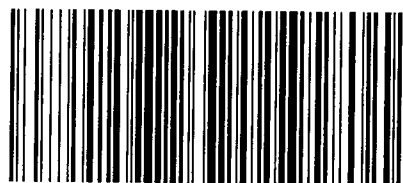
*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 11 千字
2009年7月第一版 2009年7月第一次印刷

*

书号: 155066·1-38203 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



GB/T 23763-2009

打印日期: 2009年8月20日