



中华人民共和国国家标准

GB/T 30706—2014

可见光照射下光催化抗菌材料及制品 抗菌性能测试方法及评价

Measurement method and evaluating of the antibacterial characteristics
of photocatalysis materials under visible light irradiation

2014-06-09 发布

2014-12-01 实施

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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国建筑材料联合会提出。

本标准由全国工业陶瓷标准化技术委员会(SAC/TC 194)归口。

本标准的起草单位:中国科学院理化技术研究所、北京中铁德成喷砖技术开发有限公司、广东省微生物分析检测中心、广州工业微生物检测中心、北京英特雅光高科技有公司。

本标准的主要起草人:郑苏江、只金芳、白振宏、黎婉园、于建强、高月红。

可见光照射下光催化抗菌材料及制品 抗菌性能测试方法及评价

1 范围

本标准规定了可见光响应的光催化抗菌材料及制品的抗菌性能的术语和定义、抗菌性能测试方法和评价。

本标准适用于在可见光光照激发下产生抗菌性能的光催化抗菌材料及制品,其材质可以为玻璃、陶瓷、塑料、涂层、不透水的织物等。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 测试方法

警告

微生物生长试验会危害人体健康,试验操作人员应经过微生物学培训并遵守实验室生物安全通用要求的规定。

3.1 一般规定

本标准所用试剂和水,除微生物学试剂应满足微生物学要求外,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 中规定的三级水。

3.2 设备

3.2.1 光源

荧光灯,色温 3 800 K~6 500 K,显色指数大于 90%,波长分布在 400 nm~780 nm,注意使用时应滤除紫外波段。推荐用色温为 5 000 K 的荧光灯(D50)。

3.2.2 照度计

配有 400 nm~780 nm 段传感器。

3.2.3 紫外截止滤光片

滤除小于 400 nm 的紫外光,效率应不低于 80%。

3.3 菌种、培养基和试剂

3.3.1 菌种

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

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

根据产品的使用要求,也可选用其他菌种作为测试菌种,但所用菌种应满足本标准并可溯源。

注: AS为中国普通微生物菌种保藏管理中心(CGMCC)的菌种编号。

3.3.2 营养肉汤(NB)

牛肉膏 3.0 g, 蛋白胨 10.0 g, 氯化钠 5.0 g; 加蒸馏水 1 000 mL 溶解(需加热)后, 室温下用 0.1 mol/L 的氢氧化钠或 0.1 mol/L 的盐酸溶液调节其 pH 至 7.0~7.2; 置于 121 °C 下高压湿热灭菌 15 min。

灭菌后的营养肉汤应在 5 °C~10 °C 下保存。保存期不超过 30 天。

3.3.3 营养琼脂(NA)

牛肉膏 5.0 g, 蛋白胨 10.0 g, 氯化钠 5.0 g, 琼脂 15.0 g; 加蒸馏水 1 000 mL 溶解(需加热)后, 室温下用 0.1 mol/L 的氢氧化钠或 0.1 mol/L 的盐酸溶液调节其 pH 至 7.0~7.2; 置于 121 °C 下高压湿热灭菌 15 min。

灭菌后的营养琼脂应在 5 °C~10 °C 下保存。保存期不超过 30 天。

3.3.4 平板计数琼脂

酵母粉 2.5 g, 胰蛋白胨 5.0 g, 葡萄糖 1.0 g, 琼脂 15.0 g; 加蒸馏水 1 000 mL 溶解(需加热)后, 室温下用 0.1 mol/L 的氢氧化钠或 0.1 mol/L 的盐酸溶液调节其 pH 至 7.0~7.2; 置于 121 °C 下高压湿热灭菌 15 min。

灭菌后的平板计数琼脂应在 5 °C~10 °C 下保存。保存期不超过 30 天。

3.3.5 磷酸盐缓冲(PBS, 0.06 mol/L)生理盐水洗脱液

磷酸二氢钾 2.7 g, 磷酸氢二钾 7.0 g, 氯化钠 8.5 g, 加蒸馏水至 1 000 mL 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 121 °C 下高压湿热灭菌 15 min。

灭菌后的洗脱液应在 5 °C~10 °C 下保存。保存期不超过 30 天。

3.4 操作步骤

3.4.1 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, 置于培养箱中, 在 37 °C±1 °C 下培养 24 h~48 h 后, 置于冰箱中在 5 °C~10 °C 下保藏。30 天内将其接种到新的斜面(以此类推), 但接种次数从菌种保藏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 30 天, 不可进行继代培养。

3.4.2 菌种的活化

将斜面保藏菌转接到 NA 平板或斜面培养基上, 置于培养箱中, 在 37 °C±1 °C 下培养 24 h±1 h,

每天转接 1 次,连续转接不超过 2 周。测试时应采用连续转接 2 次后(第 3 代~第 14 代)的 24 h 内转接的新鲜细菌培养物。

3.4.3 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 的盐酸溶液调节其 pH 至 7.0~7.2;为便于细菌分散可加入少量中性表面活性剂(如 1%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 $(5\sim 20)\times 10^5$ CFU/mL 的梯度作为测试用菌液。

若配好的接种液不立刻使用,则应在 4 °C 下保存,4 h 内使用。

3.4.4 样片制备

3.4.4.1 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 $(50\pm 2)\text{mm}\times(50\pm 2)\text{mm}$,厚度 1 mm~10 mm 左右。准备 9 片,其中 3 片用于 0 时间洗脱,3 片用于明条件测试,3 片用于暗条件测试。

3.4.4.2 光催化试样

从制品或材料上选取平整的部分,按步骤 3.4.4.1 中的标准尺寸准备 6 片,3 片用于明条件测试,3 片用于暗条件测试。

3.4.4.3 测试用膜

采用医用级 PE 制成,标准尺寸为 $(40\pm 2)\text{mm}\times(40\pm 2)\text{mm}$,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,取 0.1 mL~0.4 mL 均可,但必须使贴膜后材料表面的菌液符合 6.2×10^3 CFU/cm²~ 2.5×10^4 CFU/cm²。

3.4.4.4 试样、膜的清洁

用脱脂棉蘸消毒酒精擦拭上述试样、膜 2~3 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/cm² 的紫外(UVC,主波长在 273.8 nm)灯照射 4 h~24 h 来清洁样片表面;然后静置不低于 2 h,允许开始测试。

3.4.5 接种

将步骤 3.4.4 中的各个试样分别放入洁净的平皿中,测试面朝上。用移液管准确量取 0.2 mL 步骤 3.4.3 制得的接种液滴加到每个试样的表面,小心地用薄膜覆盖,调节薄膜使菌液分散均匀。注意不应将菌液溢出洒落,否则测试无效。

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。

3.4.6 培养

打开荧光灯(D65 或 D50),稳定 0.5 h 以上,然后调节荧光灯高度或功率来调节光照强度,采用照度计测量(用滤光片滤去波长小于 400 nm 的光后测量),记录测试用光照强度(300~2 500)(勒克斯, lx),偏差不超过 2%。测试中,通过在传感器前置一平皿上盖和膜来测定光照强度,用来表示测试实际到达

样品表面的光强。

将步骤 3.4.5 得到的 3 个空白样 3 个光催化试样置于明条件下,另外 3 个空白样 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潮湿纱布/1 滤纸,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 $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度不低于 85%,培养时间为 4 h~24 h。

3.4.7 洗脱、计数

3.4.7.1 “0”接触时间试样的洗脱、计数

在 3 个 0 接触时间的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 4789.2。

3.4.7.2 培养后试样的洗脱、计数

采用同步骤 3.4.7.1 的方法洗脱,之后马上对洗脱液进行活菌计数。

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

3.5 活菌数计算

活菌数 $N(\text{CFU})$ 按式(1)计算:

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

式中:

C —— 菌落数(3 个培养皿的平均值)CFU;

D —— 稀释倍数;

V —— 用于洗脱的洗脱液的体积,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。

3.6 结果计算

3.6.1 测试成立条件

只有下述 3 个条件全部成立,测试被判定有效。反之,则测试无效,须重新进行测试。

a) 空白对照样 0 接触时间的活菌数满足如下条件:

$$(L_{\text{最大}} - L_{\text{最小}})/L_{\text{平均}} \leq 0.2 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

$L_{\text{最大}}$ —— 活菌数的最大对数值;

$L_{\text{最小}}$ —— 活菌数的最小对数值;

$L_{\text{平均}}$ —— 三个试样的活菌数对数的平均值。

b) 0 接触时间空白对照样的活菌平均值应为 $6.2 \times 10^3 \text{ CFU/cm}^2 \sim 2.5 \times 10^4 \text{ CFU/cm}^2$ 。

c) 明条件、暗条件的 3 个空白对照样经 1 h~24 h 培养后的活菌数均不能小于 $6.2 \times 10^2 \text{ CFU/cm}^2$ 。

3.6.2 抗细菌率的计算

测试成立条件下,抗细菌率 $R_{\text{总}}$,数值以百分号计算,按式(3)计算:

$$R_{\text{总}} = (C_0 - C_1) / C_0 \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中：

C_0 ——明条件下对照样片经培养后的活菌计数 CFU；

C_1 ——明条件下光催化样片经培养后的活菌计数 CFU。

光催化材料在荧光灯照射下的抗细菌值 $R_{\text{光}}$ ，数值以百分号计算，按式(4)计算：

$$R_{\text{光}} = (B_1 - C_1) / B_1 \times 100 \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中：

B_1 ——暗条件下光催化样片经培养后的活菌计数 CFU。

4 抗菌性能评价

按本标准规定的测试方法，得到的总抗菌率($R_{\text{总}}$)结果评价：

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。

5 测试报告

测试报告至少包括以下内容：

- a) 光照条件(包括光源、到达试样表面的光照强度、光照时间)；
- b) 测试用菌；
- c) 抗菌率($R_{\text{总}}$ 、 $R_{\text{光}}$)等；
- d) 任何与本标准的偏离。

中华人民共和国
国家标准
可见光照射下光催化抗菌材料及制品
抗菌性能测试方法及评价

GB/T 30706—2014

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址: www.gb168.cn

服务热线: 400-168-0010

010-68522006

2014年8月第一版

*

书号: 155066·1-49703

版权专有 侵权必究



GB/T 30706-2014