



中华人民共和国国家标准

GB/T 24128—2018/ISO 16869:2008
代替 GB/T 24128—2009

塑料 塑料防霉剂的防霉效果评估

Plastics—Assessment of the effectiveness of fungistatic
compounds in plastics formulations

(ISO 16869:2008, IDT)

2018-12-28 发布

2019-11-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
中国国家标准化管理委员会

目 次

前言	III
引言	IV
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 仪器和材料	2
6 试验样品	4
7 试样制备	4
8 试验步骤	5
9 霉菌生长的评估	6
10 结果描述	6
11 精度和偏差	6
12 试验报告	7
参考文献	8

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 GB/T 24128—2009《塑料防霉性能试验方法》，与 GB/T 24128—2009 相比，主要技术变化如下：

- 修改了第 1 章“范围”中的规定和适用范围，增加了试样厚度要求（见第 1 章，2009 年版的 1.1 和 1.2）；
- 删除了概要（见 2009 年版的第 3 章）；
- 增加了术语和定义（见第 3 章）；
- 删除了用途和意义（见 2009 年版的第 4 章）；
- 增加了原理（见第 4 章）；
- 将原来的第 5 章“仪器设备”和第 6 章“试剂和材料”合并为第 5 章“仪器和材料”（见第 5 章，2009 年版的第 5 章和第 6 章）；
- 修改了霉菌培养基，将“马铃薯-蔗糖培养基”修改为“麦芽提取物琼脂和毛壳琼脂”（见第 5.2，2009 年版的 6.5）；
- 修改了部分测试菌种（见 5.3.1，2009 年版的 6.6.1）；
- 修改了霉菌孢子接种方式（见 8.4.2，2009 年版的 9.1）；
- 培养温度由原来“28℃～30℃”修改为“24℃±1℃”（见 8.4.4，2009 年版的 9.2.1）；
- 培养时间由原来“28 d”修改为“21 d”（见 8.4.4，2009 年版的 9.2.2）；
- 增加了有效性控制，删除了孢子活力检查（见 8.4.5，2009 年版的第 7 章）；
- 防霉等级由原来的 5 个等级修改为 3 个等级（见第 10 章，2009 年版的 9.3）；
- 删除了“物理性能、光学性能、电性能的影响”（见 2009 年版的 9.4）；
- 将“不确定度”修改为“精度和偏差”（见第 11 章，2009 年版的第 11 章）。

本标准使用翻译法等同采用 ISO 16869:2008《塑料 塑料防霉剂的防霉效果评估》。

与本标准中规范性引用的国际文件有一致性对应关系的我国文件如下：

- GB/T 2918—2018 塑料 试样状态调节和试验的标准环境（ISO 291:2008，MOD）。

为了便于使用，本标准还做了下列编辑性修改：

- 标注了测试菌种的中国普通微生物菌种保藏中心的菌株编号。

本标准由中国石油和化学工业联合会提出。

本标准由全国塑料标准化技术委员会老化方法分技术委员会（SAC/TC 15/SC 5）归口。

本标准起草单位：广东省微生物研究所、广州合成材料研究院有限公司、金发科技股份有限公司、同轨科技成都有限公司、山东天壮环保科技有限公司、晋大纳米科技（厦门）有限公司、广东迪美生物技术有限公司、北京天罡助剂有限责任公司、上海润河纳米材料科技有限公司、泉州市隐形盾鞋服科技有限公司、晋江拓普旺防霉材料有限公司、浙江金海环境技术股份有限公司、北京崇高纳米科技有限公司、宁波壹贰叁科化塑胶技术有限公司、安阳北清科技创新研究院有限责任公司、中国石油化工股份有限公司北京化工研究院、广州工业微生物检测中心。

本标准主要起草人：谢小保、陈娟、宁凯军、吴继贤、王丽红、刘煜、陈宏愿、王浩江、刘罡、孙廷丽、顾海斌、林国栋、何水洞、俞剑、彭红芳、王峰、李毕忠、李杰、李素娟、赵培静、周经纶、李维义、肖鹏。

引 言

众所周知,增塑剂以及塑料配方中的其他成分,易被细菌、酵母菌和霉菌等微生物侵蚀,而霉菌是导致塑料质量下降最重要的原因。微生物侵蚀导致塑料质量下降,造成脆化以及变色。这种变质会造成重大的经济损失。

霉菌侵蚀的预防可以通过在配方中添加防霉剂的方式实现,防霉剂的功能是抑制塑料制品表面任何霉菌的生长。

本标准中所描述的方法是用来确定塑料中添加防霉剂对试验霉菌的防霉效果。

塑料 塑料防霉剂的防霉效果评估

警示——处理和操作具有潜在危险的微生物需要很高的技术能力,并必须遵守现行国家法律和条例。只有经过微生物学技术培训的人员才能进行这些检测工作。应严格执行相关的消毒、灭菌和个人卫生规范程序。

1 范围

本标准规定了一种确定塑料配方中用于保护如增塑剂、稳定剂等易感成分的防霉剂的防霉效果的试验方法。本方法可验证某种塑料制品是否能有效防止霉菌的侵蚀。

通过目视检查评价防霉效果。

本标准适用于由塑料制成的不超过 10 mm 厚的薄膜或片材。此外,如泡沫塑料之类的多孔材料也可以在制成上述形态时采用本方法进行测试。

防霉剂在基体中要有一定的溶出性能。

与 ISO 846 不同,本标准不是在试样表面喷霉菌孢子悬液,而是覆盖一层含孢子的琼脂。这样会更好分散孢子,并且在原本具有疏水性的塑料表面上提供孢子萌发所必需的水分。

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。

ISO 291:2008 塑料 试样状态调节和试验的标准环境(Plastics—Standard atmospheres for condition and testing)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

易长霉塑料 **plastic susceptible to fungal attack**

配方中包含一个或多个可支持霉菌生长所需营养物质的塑料。

3.2

防霉剂 **fungistat**

能够防止易感染霉菌材料表面霉菌生长的化合物。

4 原理

将试样表面暴露在霉菌孢子悬浮液中,将孢子分散在测试样品表面的一层薄的无添加碳源的琼脂培养基中,这样能保证孢子均匀的分散和适宜的水分供给。

没有添加防霉剂的塑料会导致霉菌孢子的萌发和初期生长,当塑料中有容易受霉菌侵蚀的组分并且在配方中没有添加有效的防霉剂时,霉菌孢子将会在试样表面及其周围进一步生长并产生孢子。

含有防霉剂的塑料将会抑制试样表面及其周围的孢子萌发和初期生长。防霉剂可以溶出到试样周

围的琼脂中,产生一个更大的抑制孢子萌发和生长的抑菌环。

虽然抑菌环不作为测试结果评价指标,仍可以显示防霉剂的抑菌效果。

5 仪器和材料

5.1 仪器

采用下列方法之一将所有玻璃器皿和会接触到培养基和/或试剂的其他仪器进行灭菌处理(无菌仪器除外):

方法 A:使用高压蒸汽灭菌锅(见 5.1.2),在 121 °C 灭菌至少 15 min;

方法 B: 使用一个干热灭菌器(见 5.1.2),在 180 °C 灭菌至少 30 min,在 170 °C 灭菌至少 1 h,或在 160 °C 灭菌至少 2 h;

方法 C:使用孔径 0.45 μm 的膜过滤系统。

5.1.1 培养箱,温度能保持在 24 °C $\pm$ 1 °C,相对湿度能保持在 85%或以上。

5.1.2 灭菌设备

5.1.2.1 湿热杀菌,适宜的高压灭菌锅。

5.1.2.2 干热灭菌,热烘箱需维持一个在方法 B 中指定的温度。

5.1.2.3 膜过滤除菌,一种膜过滤装置,方法 C 中指定的孔径。

5.1.3 分析天平,精确到 ± 0.1 mg。

5.1.4 实验室离心机,转速为 2 000 r/min $\sim$ 5 000 r/min。

5.1.5 计数板(在显微镜下直接计数)。

5.1.6 显微镜,放大倍数可达到 100 倍。

5.1.7 pH 计,精确度在 ± 0.1 pH 单位,有温度校准功能。

5.1.8 涡旋振荡器,转速为 2 000 r/min $\sim$ 2 500 r/min。

5.1.9 玻璃容器:试管,烧瓶或容量适当的瓶子。

5.1.10 培养皿,直径 90 mm $\sim$ 100 mm,深度至少 15 mm。

5.1.11 标准移液器,标准容量 1.0 mL 和 15.0 mL,经过校准的自动移液器。

5.1.12 标准量筒,最小容量 30 mL。

5.1.13 玻璃珠,直径 3 mm $\sim$ 5 mm。

5.2 培养基和试剂

所有试剂应是分析纯级和/或适用于微生物试验试剂。

5.2.1 水

所使用的水应是蒸馏水或去离子水,电导率小于 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

5.2.2 麦芽提取物琼脂(MEA)

麦芽提取物	30.0 g
大豆蛋白胨	3.0 g
琼脂	15.0 g
水	定容补足至 1 000 mL

进行高压蒸汽灭菌(见 5.1.2),灭菌后,培养基的 pH 值应为 7.0 $\pm$ 0.2。

5.2.3 球毛壳霉琼脂

NaNO ₃	2.0 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5 g
KCl	0.5 g
Fe ₂ (SO ₄) ₃ · H ₂ O	0.01 g
KH ₂ PO ₄	0.14 g
K ₂ HPO ₄	1.20 g
琼脂	15.0 g
酵母提取物	0.02 g
微晶纤维素	20.0 g
或	
羧甲基纤维素(钠盐)	10.0 g
水(5.2.1)	定容补足至 1 000 mL

进行高压蒸汽灭菌(见 5.1.2),灭菌后,培养基的 pH 值应为 7.2±0.2。

5.2.4 润湿剂

制备 5%(*m/V*)吐温 80(聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯)的储备液,用水稀释至 0.05%(*m/V*)用于收集孢子。

5.2.5 营养盐溶液和琼脂储备液

NaCl	0.5 g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g
MnSO ₄ · H ₂ O	0.06 g
水(5.2.1)	定容补足至 1 000 mL

在长期储存之前,应该将储备液通过膜过滤除菌。

5.2.6 营养盐溶液

KH ₂ PO ₄	2.62 g
Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	0.2 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.7 g
NH ₄ NO ₃	1.0 g
原液(5.2.5)	10 mL
水(5.2.1)	定容补足至 1 000 mL

进行高压蒸汽灭菌(见 5.1.2)。灭菌后,培养基的 pH 值应为 5.5±0.2。

5.2.7 营养盐琼脂

KH ₂ PO ₄	2.62 g
Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	0.20 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.70 g
NH ₄ NO ₃	1.0 g
琼脂	15.0 g

储备液 (5.2.5)	10 mL
水 (5.2.1)	定容补足至 1 000 mL

将准备好的培养基加热至琼脂溶化,然后测量温度并调节 pH 值到 5.5 ± 0.1 ,进行高压蒸汽灭菌(见 5.1.2)。

当没有有效的长期储存方法(超过 3 d)时琼脂平板应现配现用。灭菌后的溶液至多存放 3 个月,储存时应防止水分蒸发。

5.3 微生物和培养

5.3.1 测试微生物

5.3.1.1 黑曲霉	CGMCC 3.3928 或 ATCC 6275
5.3.1.2 球毛壳霉	CGMCC 3.3601 或 ATCC 6205
5.3.1.3 宛氏拟青霉	CGMCC 3.4253 或 CBS 628.66
5.3.1.4 绳状青霉	CGMCC 3.3875 或 ATCC 9644
5.3.1.5 长枝木霉	CGMCC 3.4291 或 ATCC 13631

根据产品用途和需要,可以增加其他测试霉菌(例如土曲霉、出芽短梗霉),在试验报告中应列出使用的所有菌株。

注:CGMCC 为中国普通微生物菌种保藏管理中心,ATCC 为美国典型菌种保藏中心,CBS 为荷兰微生物菌种保藏中心。

5.3.2 培养条件

在 5.3.1.1 和 5.3.1.3 至 5.3.1.5 中,应在试管中的麦芽提取物琼脂 (5.2.2)斜面上培养菌株,在 $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 14 d~21 d。

在 5.3.1.2 中,应在球毛壳霉琼脂 (5.2.3)培养基上培养菌株,在 $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 14 d~21 d。

用于储存的培养物应保存在琼脂斜面上,最好是做成冻干种或冷冻保存。

6 试验样品

6.1 形状和尺寸

将符合要求的切片器灭菌,根据需从每个测试样品中切出直径 1 cm~4 cm 的圆片或边长 1 cm~4 cm 的方片试样。试样的厚度不超过 10 mm。

6.2 试样数量

每种测试样品至少制备 3 个试样进行测试评估。

7 试样制备

7.1 清洗

用镊子夹持测试样品,反复清洗(必要时用刷子)后存放在一个干净的容器中并自然晾干。使用镊子进行所有后续处理,以避免样品污染。

7.2 标签和储存

在测试过程中标签或标记可能会与塑料相互作用,因此要在室温下将样品分开储存在密闭容器内

(如培养皿),标记容器而不是样品。

8 试验步骤

8.1 试验温度

按照 ISO 291:2008 中 2 级大气条件[温度 $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和相对湿度 $(50 \pm 10)\%$]制备和调节试样状态。

8.2 倾注培养基

灭菌后,在每个培养皿中倾注 20 mL 营养盐琼脂 (5.2.7),使其凝固和干燥,直到在其表面上没有可见的水分。

8.3 试样放置

分别将试样尽可能平整的分开放置在凝固后的培养基中间。

如果试样厚度超过 5 mm,要用和试样大小相同尺寸的打孔器在琼脂上打孔,并将试样放入琼脂孔中,打孔器应灭菌,如火焰灭菌。

8.4 试样接种

8.4.1 孢子悬液的制备

按以下方法从培养好的孢子培养物中制备混合孢子悬液:

在每个培养管中加入(见 5.3.2) 5 mL 润湿剂 (5.2.4),用无菌接种环轻轻刮取孢子培养基的表面以获取孢子悬液,轻轻摇动培养管分散孢子,将孢子悬液倒入含有 10 个~20 个玻璃珠的无菌锥形瓶中,按上述过程重复洗涤三次。然后用振荡器(5.1.8)振荡每一个放有玻璃珠的孢子悬液,并且通过一层薄薄的无菌棉或玻璃棉进行过滤,以消除残留的菌丝。

按无菌操作离心过滤后的孢子悬液,弃去上清液。用 50 mL 的营养盐溶液(5.2.6)将沉淀物重新悬浮,再一次离心,用 100 mL 相同的溶液(5.2.6)悬浮沉淀物。

用计数板测定每种孢子悬液的浓度,孢子数应至少在 5×10^6 个/mL。

在使用前,将每种孢子悬液等量混合在一起,用振荡器(5.1.8)混匀。单个孢子悬浮液在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下至多可储存 4 d,在 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下至多可储存 2 个月,或在 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下至多可储存 12 个月。

8.4.2 营养盐覆盖琼脂接种

加热溶化试管中的 15 mL 营养盐琼脂(5.2.7)并放置在 $45\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 48\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中,直到需要用时再取出,使用前每管琼脂接种 1 mL 混合孢子悬液(见 8.4.1)。

8.4.3 试样的覆盖

在琼脂基底和试样表面倾注已接种溶化后的营养盐琼脂,从而形成薄薄的第二层。小心旋转培养皿使培养基分散均匀铺平。

8.4.4 培养

将接种的培养皿置于 $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度不低于 85%的条件下培养 21 d。

8.4.5 有效性控制

作为一个有效性控制,试验应包括一种未经防霉处理且已知易被测试霉菌侵蚀的对照样。对照样

应和试样按照相同的方法进行处理。

如果没有对照样,可采取以下步骤进行有效性控制。准备一个装有麦芽提取物琼脂(5.2.2)的琼脂平板,将接种的营养盐琼脂(8.4.2)覆盖其上,并按照试验样品的方法进行测试。

培养后,对照样或在麦芽提取物琼脂上应可以明显观察到有霉菌生长。如果未见霉菌生长,应重复试验。

9 霉菌生长的评估

按照表 1 要求,目视评估每个试样表面及四周的霉菌生长情况。实践证明,切向观察有助于检测霉菌的初期生长。

表 1 霉菌生长情况

等级	霉菌生长情况
0	没有生长
1	初期生长(与其余的琼脂表面相比)
2	明显生长和产生孢子

注:另外,虽然抑菌环不是本标准的测试项目,但可以同时测量。
彩色照片是一种对目视检查结果的有效记录,宜尽可能放入最终试验报告中。

10 结果描述

根据表 1 中给出的霉菌生长等级,描述每个试样目视评估的结果。
结果可按表 2 所示进行描述。

表 2 防霉等级

等级	霉菌生长情况	描述
0	没有生长	该材料可抗霉菌侵蚀
1	初期生长(与其余的琼脂表面相比)	该材料部分可防止霉菌侵蚀或一般不易受到霉菌侵蚀
2	明显生长和产生孢子	该材料容易受霉菌侵蚀

11 精度和偏差

如果某个样品的平行试验得出不同的等级,应用新的试样重复测试。
目视检查的准确性取决于受过培训的检测人员。
此外,建议同时将结果拍照留证。

该方法的精确度是由国际生物腐蚀研究组(IBRG)的塑料保护小组(PPG)经过 8 个循环对比试验后确定的。塑料保护小组(PPG)的任务是建立一个准确的、可再现的方法,用于评估添加在塑料中的防霉剂的防霉效果。这些实验室间的研究进行了 6 年(1991—1997 年)。塑料保护小组(PPG)能够证明该方法适用于塑料配方中防霉剂的防霉效果评估。而且,这些实验室间的研究结果表明,该方法具有良

好的可再现性和可重复性。

循环对比试验结果已发表在参考文献[2]中。

12 试验报告

试验报告应包含以下内容：

- a) 注明本标准；
- b) 测试材料的完整识别信息；
- c) 测试试样的形状和尺寸；
- d) 所使用的微生物；
- e) 霉菌菌株来源的详细资料；
- f) 每个试样的霉菌生长等级；
- g) 任何特别的现象，如样本周围的抑菌环，详细记录到毫米，异常生长特征，被测试霉菌以外的霉菌或细菌感染，以及发生的任何变色斑点；
- h) 与本标准的任何偏离；
- i) 测试实验室的完整识别信息；
- j) 评估的日期；
- k) 负责测试人员的姓名和签字。

参 考 文 献

- [1] BORGMANN-STRAHSEN, R. and BESSEMS, E., Evaluating microbiological susceptibility of plasticised PVC films—Reproducible values with a new test method, *Kunststoffe/Plast Europe*, 84 (1994), 2, pp. 24-26 (English text), pp. 158-162 (German text)
- [2] BESSEMS, E., The protection of flexible plastics against fungal attack—A collaborative study performed by the “Plastics Protection Group” (PPG) of the International Biodeterioration Research Group (IBRG), *Journal of Industrial Textiles*, 30 (2001), 3, pp. 185-200
- [3] IEC 60068-2-10:2005, Environmental testing—Part 2-10: Tests—Test J and guidance: Mould growth
- [4] ISO 846, Plastics—Evaluation of the action of microorganisms
- [5] ISO 7218, Microbiology of food and animal feeding stuffs—General requirements and guidance for microbiological examinations
-