



中华人民共和国国家标准

GB/T 19275—2003

材料在特定微生物作用下潜在生物 分解和崩解能力的评价

**Evaluation of the potential biodegradability and disintegration of
plastic materials by the action of the specific microorganisms**

(ISO 846:1997 Plastics—Evaluation of the action of microorganisms, NEQ)

2003-08-25 发布

2004-02-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准非等效于 ISO 846:1997《材料——微生物作用下行为的评价》(英文版,第二版)。国际标准 ISO 846 是由 ISO/TC 61 技术委员会制定的,第二版在第一版的基础上进行了修改,并取代了第一版(ISO 846:1978)。全国塑料制品标准化中心生物分解材料工作组在 1996 年~2002 年间进行了一系列实验室试验,用于检验试验结果的可重复性,在验证试验的基础上制定了本标准。

附录 A 是规范性附录。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国塑料制品标准化技术委员会(CSBTS/TC 48)归口。

本标准由深圳市绿维科技有限公司、清华大学环境与工程系负责起草,宁波天安生物材料有限公司、武汉华丽环保科技有限公司、天津丹海股份有限公司、长春金鹰实业责任有限公司、内蒙古蒙西高新技术集团有限责任公司、国家塑料制品质量监督检验中心(北京)参加起草。

本标准主要起草人:翁云宣、孔 力、陈家琪、李金惠、王世和、陈学军、杨惠娣、张先炳、刘嘉藩、徐凤霞、刘彩霞、叶新建、毛国玉。

引 言

在一定的气候和环境条件下,微生物能在材料的表面生长繁殖,它们和/或它们的代谢产物可能破坏材料本身,并影响其中添加物如增塑剂等的耐久性,从而引起材料的分解和崩解。

微生物在材料上的作用包含以下两个过程:

直接作用:微生物将材料作为生长所需营养源而破坏材料;

间接作用:微生物代谢产物对材料的影响作用如变色或更进一步的破坏。

这两种作用直接表现为材料表面生长微生物、本身质量损失和物性下降,从而进一步引起材料的分解和/或崩解。

为了评价材料在微生物作用下潜在的生物分解和崩解能力,特制定本标准。

本标准仅适用于对试验材料进行生物分解和崩解能力的定性评价,不能作为判断材料是否生物分解和崩解的定量依据,如需对其进一步定量地测定生物分解和崩解能力时,请参照其他相关标准。

ISO 846:1997 中采用的试验菌种为国外菌种,而本标准为了方便国内实验室在试验中获得菌种及考虑到多数材料在国内使用时其接触到的主要为国内菌种,因此本方法标准中采用了与 ISO 846 中同类同名的国内菌种,标准应用的菌种编号采用了中国微生物菌种保藏管理委员会编著的中国菌种目录中的编号。

警告:微生物的操作和处理存在可能的危险,其要求可靠的技术能力,并应符合国家的立法和规定。只有经过专门培训的人员才能进行此试验。消毒、培养和个人卫生必须严格遵守相关的操作规程。

材料在特定微生物作用下潜在生物分解和崩解能力的评价

1 范围

本标准描述了定性评价材料在特定微生物的作用下潜在的生物分解能力的试验方法。

本标准仅适用于对试验材料进行生物分解和崩解能力的定性评价,不能作为判断材料是否生物分解和崩解的定量依据,如需对其进一步定量地测定生物分解和崩解能力时,请参照其他相关标准。

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 2918—1998 塑料试样状态调节和试验的标准环境(idt ISO 291:1997)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

生物分解 biodegradation

在微生物作用下,有机化合物被微生物分解为二氧化碳(CO₂)、水(H₂O)及其所含元素的矿化无机盐和新的生物质。由于材料被微生物作为营养源而逐步消解,导致质量损失、性能如物理性能下降等。

3.2

崩解 disintegration

材料物理断裂成为极其细小的碎片。

4 原理

在规定的温度和湿度条件下,将试样放置在特定的真菌和细菌等试验菌种环境下一定时间,试样会被微生物作为营养源,在微生物作用下逐步被侵蚀甚至分解,导致质量损失、性能下降。

在相同试验条件下,将微生物接种的试样组(I组)同未处理的试样组(0组)或灭菌试样组(S组)同时进行试验。试验结束后通过目测估计试样试验前后的变化,或通过准确地确定外观或质量或其他物理性质参数的变化来评价材料潜在的生物分解和崩解能力。

4.1 试验方法

4.1.1 方法 A:真菌试验

将试样放到含有真菌孢子混合液的非全养分培养基(无碳源)中培养,真菌只有通过消耗试样中碳源才能生长和繁殖,如果真菌不能生长和繁殖,说明试样不易被真菌分解和崩解。

4.1.2 方法 B:细菌试验

将试样放到含有细菌的非全养分培养基(无碳源)中培养,细菌只有通过消耗试样中碳源才能生长和繁殖,如果细菌不能生长和繁殖,说明试样不易被细菌分解和崩解。

4.1.3 方法 C:土壤填埋试验

将试样完全埋在具有水保持能力和特定湿度的自然土壤(见附录 A)中培养。本方法是模拟自然条件下材料与高湿度土壤始终接触时的状态,如垃圾填埋场底部的状态。

GB/T 19275—2003

4.2 评价潜在的生物分解和崩解能力的参数选择

评价参数的选择可按照试验的目的而定,可选用目测法,也可采用质量变化或其他物理性能变化,如弯曲、冲击、拉伸性能变化等。

5 试剂

使用分析纯级试剂。

5.1 蒸馏水或去离子水

不含毒性物质,导电率应小于 1 S/cm。

5.2 灭菌液

在报告中注明试验中所使用的灭菌液。

5.2.1 70%乙醇-水混合物(质量分数)

5.2.2 邻苯基苯酚

50 mL 90%乙醇中溶解邻苯基苯酚 1 g,加水(见 5.1)稀释至 1 000 mL,用乳酸调节 pH 值至 3.5。

5.3 试验菌种

本标准中的试验菌种编号主要采用了中国微生物菌种保藏管理委员会编著的中国菌种目录中的编号。真菌和细菌从中国微生物菌种保藏管理中心获得,使用的菌种应在试验报告中注明。

如果由于技术原因,在感兴趣的各方同意后,可使用其他菌种,但必须在试验报告中注明所用试验菌种。

5.3.1 真菌

本标准使用的真菌菌种见表 1。

表 1 试验用真菌表

真菌名称	菌种
黑曲霉	AS 3.392 8
绳状青霉	AS 3.387 5
木霉	AS 3.400 4
球毛壳	AS 3.425 4
拟青霉	AS 3.276 2

5.3.2 细菌

本标准使用的细菌菌种见表 2。

表 2 试验用细菌表

名称	菌种
绿脓杆菌	AS 1.112 9

5.4 溶液和培养基准备

5.4.1 真菌试验

5.4.1.1 菌种培养

将试验用的真菌在试管的琼脂斜面上进行培养。所用琼脂制备方法如下:

燕麦片	20 g
麦芽膏	10 g
琼脂	20 g
水(见 5.1)	1 000 mL

在高压消毒锅中于饱和蒸汽压、120℃下灭菌 20 min。

在 29℃±1℃或 24℃±1℃下,真菌经接种培养后,形成了可供使用的具有活性的孢子体。在上述

温度下,此孢子体的储存不能超过 28 d。

5.4.1.2 无机盐溶液的制备

H ₂ O(见 5.1)	1 000 mL
NaNO ₃	2.0 g
KH ₂ PO ₄	0.7 g
K ₂ HPO ₄	0.3 g
KCl	0.5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01 g

用 0.01 mol/L 灭菌的 NaOH 溶液将 pH 值调节至 6.0~6.5。

5.4.1.3 无机盐润湿液

无机盐溶液(见 5.4.1.2)中加入 0.1 g/L 的 N-甲基氨基乙磺酸,在高压消毒锅中 120℃ 下灭菌 20 min。

5.4.1.4 无机盐/葡萄糖溶液

无机盐溶液(见 5.4.1.2)中加入葡萄糖,使葡萄糖浓度达到 30 g/L±1 g/L,在高压消毒锅中 115℃ 下灭菌 30 min。

5.4.1.5 非全养分琼脂培养基

1 000 mL 的无机盐溶液(见 5.4.1.2)中加入琼脂 20 g,边加热边搅拌,使琼脂全部溶解。在高压消毒锅中 120℃ 下灭菌 20 min 后,在 20℃ 下用 0.01 mol/L 灭菌的 NaOH 溶液调节 pH 值至 6.0~6.5。

5.4.1.6 全养分琼脂培养基

非全养分琼脂培养基(见 5.4.1.5)中加入 30 g/L 葡萄糖,在高压消毒锅中 115℃ 下灭菌 30 min 后,在 20℃ 下用 0.01 mol/L 灭菌的 NaOH 溶液调节 pH 值至 6.0~6.5。

5.4.2 细菌试验

5.4.2.1 培养基

培养基为 BPY 培养基,制备如下:

牛肉膏	5 g
蛋白胨	10 g
NaCl	5 g
酵母膏	5 g
葡萄糖	5 g
琼脂	1%~2%
蒸馏水	1 000 mL
pH	7.0

5.4.2.2 无机盐琼脂培养基制备

H ₂ O(见 5.1)	1 000 mL
KH ₂ PO ₄	0.7 g
K ₂ HPO ₄	0.7 g
NH ₄ NO ₃	1.0 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.7 g
NaCl	0.005 g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.002 g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.002 g

GB/T 19275—2003

MnSO₄ · 7H₂O 0.001 g

琼脂 20 g

在高压消毒锅中 120℃ 下灭菌 20 min 后,在 20℃ 下用 0.01 mol/L 灭菌的 NaOH 溶液调节 pH 值至 7.0。

5.4.2.3 灭菌缓冲溶液

分别制备下面两种溶液:

KH₂PO₄ 9.1 g/L(溶液 A)

K₂HPO₄ 11.9 g/L H₂O(溶液 B)

将 600 mL 溶液 A 和 400 mL 溶液 B 混合,在高压消毒锅中 120℃ 下灭菌 20 min 后,在 20℃ 下用 0.01 mol/L 灭菌的 NaOH 将溶液调节 pH 值至 7.0。

5.4.3 土壤填埋试验

使用的活性土壤具有水保持能力,水分含量(质量分数)为 60%±5%。水保持能力是土壤浸泡在水中时,土壤中水分的含量。

水性土壤(水 20 g,土壤 1 g)的 pH 值应在 4.0~7.0 之间。

土壤湿度和土壤水保持能力与附录 A 保持一致。如果湿度超过了上述范围,可将它放在一个薄板上进行晾干。禁止对土壤加热或使它干燥,因为这样会影响土壤中的微藻。如需要增加湿度,可使用 1 L 含有亚硝酸铵 1 g 和磷酸盐 0.2 g 的水溶液来调节。

6 仪器和设备

6.1 生物培养箱

温度可控制在 20℃~35℃,RH(相对湿度)可控制在 90%或更高。

6.2 干燥器

标准温度和湿度条件可控制在 23℃ 和 50%RH。

6.3 高压消毒锅

温度和压力可控制在 120℃ 和 2×10⁵ Pa。

6.4 分析天平

精确度为 0.1 mg。

6.5 离心过滤机

6.6 体视显微镜

放大倍数 50 倍。

6.7 玻璃培养皿

培养皿应具有合适的尺寸,使样品被放置后不会接触到容器。

6.8 玻璃容器

约 1 L 的体积(高 16 cm,直径 11 cm),如带塞子的保鲜瓶。

7 试样

7.1 形状和尺寸

试样的形状和尺寸可由试验中试样暴露于真菌、细菌和土壤情况来确定。

试验如需测定试样的厚度,应从原始材料中制备试样,如试样在使用前需成型得到,则试样的最大厚度为 0.5 mm。

试验如需测定试样质量的变化,则使用边长 30.0 mm~60.0 mm,最大厚度为 2.0 mm 的正方形试样。

当用目测来评价试样外观的变化时,试样的尺寸无严格要求,但建议试样厚度最好为 0.5 mm~2.0 mm。

因微生物生长会影响试样的表面,为了使结果有可比性应使用相同尺寸试样进行试验。

7.2 试样及每组数量

7.2.1 试样组

对每个试样和每种试验方法,准备 3 组试样。

0 组:对照试样,在标准温度和湿度条件下保存。

I 组:用微生物接种并已培养的试样。

S 组:灭菌试样,在与 I 组相同的条件下培养。

7.2.2 每组试样的数量

用目测来评价试样外观的变化时,每组至少制备 5 个试样,每个试样和每种试验方法总计至少 15 个试样。

测量质量变化时,每组至少制备 6 个试样,每个试样和每种试验方法总计至少 18 个试样。

对于其他评价方法,使用的试样数目根据提到的标准来确定。

7.3 试样准备

7.3.1 状态调节

按照 GB/T 2918—1998 的规定,在温度 $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 和相对湿度 $50\% \pm 3\%$ 的标准条件下制备和评价试样,并在 $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 或 $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下进行状态调节。

7.3.2 清洗

在方法 A(见表 3)中,在确认乙醇不会对试样有影响后,将试样浸到乙醇-水混合液中 1 min,并在 45°C 下干燥 4 h。如果乙醇对试样有影响,将试样贮存在无菌的容器中,用无菌镊子夹取试样。以后的试验都要用无菌镊子夹取试样以避免外部的有机物质污染试样。

对于方法 C,无需清洗试样。

7.3.3 标注和保存

在环境温度下,将清洗过并已标注过(或加印记)的试样保存在培养皿中。

标注或印记应标记在培养皿上而不是试样上。

7.3.4 调整 and 称量

将用于测定质量变化的试样组在环境温度下保存在干燥器中,恒重后,称重每个试样的质量(m_1, m_2, m_3, \dots),精确至 0.1 mg,记录每一试样的质量。如试验采用目测评价或测量其他物理性能时,如无特殊要求,可以不进行此过程。

8 试验步骤

8.1 选择试验方法

表 3 是试验方法的总体描述。测定的性质和方法的选择取决于试验物质和所设定的条件。

表 3 试验方法

	真菌试验		细菌试验		土壤埋埋试验	
方法	A		B		C	
所使用的培养基	非全养分培养基		无机盐琼脂培养基		活性土壤	
组号	I	S	I	S	I	S
在试样上所加的溶液	孢子悬浮液	灭菌溶液	无	灭菌溶液	无	灭菌溶液
培养条件	$24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 或 $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$		$29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$			
	28 d; 相对湿度 $\geq 95\%$					

GB/T 19275—2003

8.2 真菌试验(方法 A)

8.2.1 装填培养皿

将灭菌后的非全养分琼脂培养基(见 5.4.1.5)冷却至 50℃ 左右后倒入到培养皿中,使培养基厚度为 5 mm~10 mm,冷却固化。

8.2.2 试样放置

将试样平铺在固化的培养基上,应避免试样之间或试样与培养皿壁之间的接触。将制备好的培养皿分成数量相同的两组,一组标记为“ I ”,另一组标记为“ S ”。

8.2.3 孢子悬浮液制备

利用无机盐润湿液(见 5.4.1.2)从接种好的孢子体制备孢子悬浮液。

8.2.3.1 孢子采集

将 5 mL 的灭菌无机盐润湿液导入到培养管中,用灭菌接种针轻轻刮经培养的菌的表面,摇动培养管以分散液体中的孢子,重复上述操作 3 次。用无菌玻璃球振动每一真菌培养管的孢子悬浮液,用薄层棉花或玻璃毛的玻璃漏斗来过滤去除菌丝碎片。

8.2.3.2 离心洗涤孢子和制备试验混合悬浮液

将过滤后的孢子悬浮液倒入离心管,进行离心分离,弃去上层清液,将沉淀物在 25 mL 灭菌无机盐溶液(见 5.4.1.1)中悬浮,再进行离心分离。将离心残余物倒入到约 50 mL 灭菌无机盐润湿液中。

将所得悬浮液浓度调节到约含 10^6 个孢子/mL。

对每种试验菌株重复上述操作,将 5 种真菌孢子悬浮液等体积混合,得到混合孢子悬浮液。制备的悬浮液须在 6 h 内使用。

8.2.4 孢子活性的控制

将孢子悬浮液接种到装有全养分琼脂培养基(见 5.4.1.5)的培养皿内,在 $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 或 $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下培养 3 d~4 d,如生长不旺盛,则需制备新的孢子悬浮液,并重复上述试验。

8.2.5 试样的接种与灭菌

将清洗并干燥后的试样平铺在冷却后的培养基上。

用美术喷枪吸取 0.1 mL 孢子悬浮液(见 8.2.3.2),往 I 组培养皿中的每一试样及琼脂表面喷上接种用孢子悬浮液,盖上皿盖,作好标记“ I ”。

往 S 组容器中的每一试样上及琼脂表面喷上 3 mL 的灭菌液(见 5.2),盖上皿盖,作好标记“ S ”。

8.2.6 培养

将培养皿置于温度为 $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 或 $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 95% 的生物培养箱中培养 28 d。培养期间不得有冷凝水滴在试样表面。如果在 28 d,用肉眼可明显地观察到有真菌生长,且真菌生长级别已经达到试验所期望的目标情况下,又在试验仅要求进行直观检验时,则可停止试验。

8.3 细菌试验(方法 B)

8.3.1 清洗试样

在确认乙醇不会对试样有影响后,将试样浸到乙醇-水混合液中 1 min,并在 45°C 下干燥 4 h。如果乙醇对试样有影响,将试样贮存在无菌的容器中,用无菌镊子夹取试样。以后的试验都要用无菌镊子夹取试样以避免外部的有机物质污染试样。

8.3.2 无机盐琼脂培养基的配制

按照 5.4.2.2 的步骤,配制足够数量的培养基。

8.3.3 细菌悬浮液的制备

用灭菌的接种环将培养后的细菌转移到 10 mL 的灭菌缓冲液中,然后用灭菌缓冲液将其稀释至约 10^6 个悬浮细胞/mL 溶液。此悬浮液须在 1 h 内使用。

8.3.4 活性的控制

在试验的同时,往两个装有 BPY 培养基容器中滴入 3 滴细菌悬浮液,在 $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下培养 2 d,如果生长旺盛则继续试验,否则重复上述试验。

8.3.5 接种的无机盐琼脂培养基的制备

无机盐琼脂培养基冷却到约 45°C 时,将细菌悬浮液接种到琼脂上,混合均匀,使浓度达到约 50 000 个细菌/mL 琼脂。

8.3.6 试样的放置

8.3.6.1 试样组 I(用于培养的接种试样)

将适量的已培养的琼脂倒入无菌的培养皿中,形成一个大约 5 mm 厚的琼脂层。

琼脂层凝固后,将试样放在琼脂层表面,然后用足够的已接种过的琼脂将试样覆盖,任其形成凝胶。

琼脂层应覆盖试样至少 1 mm。

8.3.6.2 试样组 S(无菌控制)

将没有接种过的无机盐琼脂倒入无菌培养皿中,放入已灭菌的试样,并将其放到已凝固的琼脂上。用同样的溶液对琼脂进行灭菌,并用没有接种的琼脂层覆盖试样。

8.3.7 培养

将 I 组、S 组培养皿放到生物培养箱中在 $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 95% 的生物培养箱中培养 28 d。

如果在 28 d,用肉眼可明显地观察到有细菌生长,且试验仅要求进行直观检验时,可停止试验。

8.4 土壤填埋试验(方法 C)

8.4.1 土壤的生物活性

将已经漂白但未经处理的棉花织物($250\text{ g}/\text{m}^2$)长条($2.5\text{ cm} \times 10\text{ cm}$)与试样同时填埋在土壤中,并培养 7 d。培养期结束后,棉花条的拉伸长度应不大于 25%。当土壤能达到上述水分解纤维素活性的水准后,可认为土壤的生物活性达到了要求,否则重新培育土壤。

8.4.2 填埋步骤

8.4.2.1 土壤

将湿度为($60\% \pm 5\%$)的具有水保持能力的土壤,填充于 1 L 大小的广口瓶中。

8.4.2.2 填埋试样

按图 1,用药匙和镊子,将试样填埋在两个广口瓶中,每一个广口瓶都要引入一个对比棉花条以检测土壤的活性。为了使氧气流通,广口瓶不要盖得太紧(可在广口瓶和瓶盖之间缠上一根大约 1 mm 的线)。

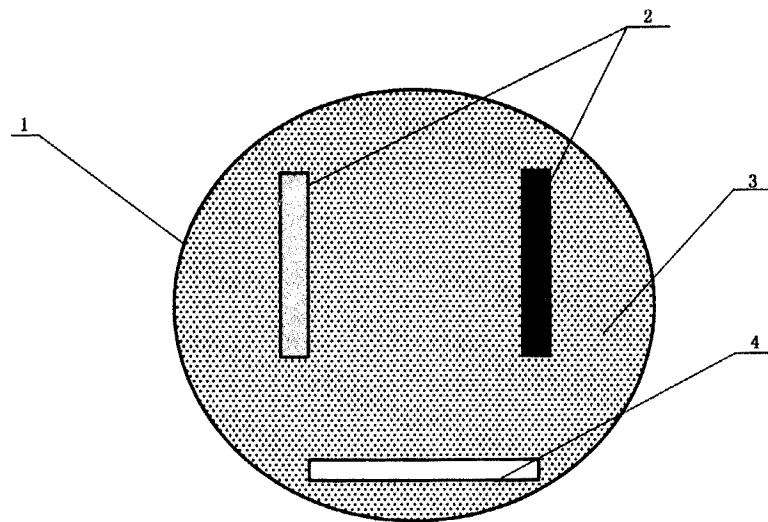
填埋试样时不得挤压广口瓶中的土壤,覆盖试样的土层厚度应不大于 12.5 cm。测量质量损失所用的方形试样应垂直填埋。如要测量试样的拉伸性能时,应将试样水平填埋在更大的广口瓶中。

8.4.2.3 检查试验

为了检查试验是否能在无菌条件下进行,将装有土壤和棉花条的 1 L 密闭贮存广口瓶(每次培养至少要 2 个广口瓶)放在高压消毒锅中,在 120°C 、气压 $2 \times 10^5\text{ Pa}$ 下连续 3 d 灭菌 30 min。将两个试样首先浸入邻苯基苯酚溶液中,然后分别放置于两个广口瓶中,并将 3 mL 邻苯基苯酚溶液倒在土壤上。

注 1: 为了防止密封的容器在消毒后的降温过程中崩裂,可使用带有压力梯度的高温蒸锅,也可在高温蒸锅打开前先使广口瓶的温度降到 65°C 。

注 2: 土壤和样品也可使用 γ 射线进行消毒。



- 1——玻璃广口瓶；
2——试样；
3——土壤；
4——棉花条。

图 1 在土壤填埋试验中试样在土壤中的位置

8.4.2.4 培养

制备好的广口瓶放置于培养箱中,在温度 $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 和相对湿度 $95\% \pm 2\%$ 的生物培养箱中,培养 28 d。

注:广口瓶在相对湿度 $95\% \pm 2\%$ 下培养是为了防止土壤干燥。

试验期间,通过比较初始时和不同试验间隔时的广口瓶的质量检查广口瓶的湿度。保持湿度恒定。如需要增加湿度,可使用 1 L 含有亚硝酸铵 1 g 和磷酸盐 0.2 g 的水(见 5.1)溶液来调节。

9 结果的表述

9.1 目测评定真菌在试样上的生长级别(方法 A 和 C)

先目测试样(I组和S组),必要时可用体视显微镜观测(放大倍数为 50 倍),按照表 4 中给出的等级数评定真菌的生长程度。

注:为提高评价的准确度,建议用一带有刻度的网栅放在试样上,以便更准确、方便地确定试样表面真菌比表面的生长级别。

如在一组中试样的目测结果差别大于两个等级,则用新的试样重复以上试验。

如结果评价只采用目测结果时,应在试验期间每隔两天拍照(彩色照片)纪录试样表面变化情况。

表 4 真菌生长行为的评价

生长级别	评价
0	显微镜下没有明显生长
1	没有肉眼可见的生长,但在显微镜下清晰可见
2	肉眼看到明显生长,覆盖 $<25\%$ 的试样表面
3	肉眼看到明显生长,覆盖 $<50\%$ 的试样表面
4	大量生长,覆盖 $>50\%$ 的表面
5	生长繁茂,覆盖整个试样表面

9.2 测量

9.2.1 清洗

将试验后的 I 组、S 组、O 组试样,分别浸于 70% 的乙醇溶液中约 5 min 后在流水下漂洗,用滤纸擦净,置于无盖干净的培养皿中,然后与培养皿一起放入干燥器中干燥至恒重。

在测定的最后,使用气体(如环氧乙烷)或蒸汽(在高压消毒锅里)对所有使用的玻璃器皿灭菌。

9.2.2 质量变化

为测定试样的质量变化,将清洁的试样放在干燥器中,定期称量它们的质量,精确到 0.1 mg,直至恒重。记录最终质量 m_1', m_2', \dots 。

对于每一个试样,测定试样前后的质量差值,即 Δm ,例如 $\Delta m = m_1' - m_1$ (m_1 为试样初始质量)。

测量质量变化时,接种的试样和无菌的对照试样的几何尺寸应相同。

9.2.3 其他物理性能变化

按试样的原料、产品或标准试验方法选择试验内容。

清洗试样并根据有关材料标准进行状态调节。

从有关的塑料成型材料标准中选择试验参数、试验条件和试样尺寸。

9.3 结果表示

利用各种结果,计算数学平均值和标准偏差。

9.3.1 目测

每一试样的目测结果可采用表 4 中给出的真菌生长级数的方式来表示。

9.3.2 质量变化

测定每一试样的质量变化($\Delta m = m_1' - m_1$)计算并记录每一组的数学平均值 $\overline{\Delta m_o}$ 、 $\overline{\Delta m_1}$ 和 $\overline{\Delta m_s}$ 精确到小数点后第一位,质量变化的平均百分率(%)采用下述公式计算:

$$\frac{\overline{\Delta m_1} - \overline{\Delta m_s}}{m_e} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$\overline{m_e}$ ——原始试样质量的平均值。

9.3.3 其他物理性能参数

计算每组试样(O 组、L 组和 S 组)在每一性能变化的数学平均值,分别记为 \overline{V}_0 、 \overline{V}_1 、 \overline{V}_s 对每一性质,按式(2)计算接种试样相对于灭菌试样的变化百分率(%)

$$\frac{\overline{V}_1}{\overline{V}_s} \times 100 \quad \dots\dots\dots (2)$$

对每一性质,按式(3)计算接种试样相对于对照试样的变化百分率(%)

$$\frac{\overline{V}_1}{\overline{V}_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

一般地,第一个值比第二个值能更好地表征微生物对材料的破坏作用。

10 检验报告

10.1 测量的准确性

所有的测量按各自依据的标准进行,结果和数据分析应一起被记录在报告中。

目测得到的结果的精确性很大程度上取决于个人的观测客观性,因此,在采用对比物质外形变化的方法时,应采用拍照方式记录。

10.2 试验报告

报告应该包括以下几个部分:

——引用标准;

——完全定义试样所需的信息;

GB/T 19275—2003

- 试样的尺寸；
- 使用的接种物和培养的温度；
- 使用的灭菌溶液；
- 使用的试验方法；
- 使用的真菌、细菌和土壤；
- 测定的参数及方法；
- 结果；
- 任何特殊的现象,如被真菌、细菌及其他试验微生物感染,不正常的生长特性,影响孢子生长的因素,任何退色现象等；
- 任何与标准不同的地方；
- 其他对试验室必要的描述；
- 试验日期；
- 试验室领导的签字。

附 录 A
(规范性附录)

土壤湿度和水保持能力的测定

A.1 综述

任何具有规定的纤维素活性的试验土壤均可用于上述的测定。土壤在试验前,应具有 60% 的水保持能力,并在 25℃~30℃ 温度下进行 2~3 个月的预曝置。水保持能力为 100% 的土壤,它的湿度为 60%。水保持能力为 60% 和 180% 的土壤的湿度分别为 36% 和 108%。

注:水保持能力是土壤浸泡在水中时,土壤中水分的含量。

A.2 湿度的测定

在 3 个培养皿中分别放入土壤 50 mL。在温度 104℃±1℃ 的炉子中,加热 4 h,在干燥器中冷却后,称量,并达到恒定质量,精确至 1 mg。当连续两次称量的结果相差小于 0.1% 时,可以认为已经达到恒定质量。

对于每一个培养皿,计算土壤湿度时,结果偏差不大于 1%。计算 3 个结果的平均值。

示例:

空培养皿	11.325 g;
湿土壤+培养皿	20.475 g;
湿土壤	9.150 g;
干土壤+培养皿	16.600 g;
干土壤	5.275 g;
水分(干燥时损失的质量)	3.875 g;
水分(相当于干土壤的质量分数)	73%。

A.3 水保持能力的测定

将土壤分别装入 3 个 50 mL 的玻璃过滤器中,土壤应离器口边缘 0.5 cm。在木头表面上踱过滤器,使土壤夯实。将过滤器放入烧杯中,并将水倒入烧杯,直到水面高出过滤器 1 cm。当上层土壤由于毛细管作用的结果变潮湿后,加水直到漫过土壤表面。

12~16 h 之后(隔夜),将过滤器从烧杯中移走。将过滤器用湿布盖住,上面压一玻璃皿,使用水-气抽吸器,抽干没有保存在土壤中的水,吸水 10 min±1 min。

在 104℃±1℃ 下加热 4 h,使浸过水的土壤干燥,并在干燥器中冷却,称量,并达到恒定质量,精确至 1 mg。当连续两次称量的结果相差小于 0.1% 时,可以认为已经达到恒定质量。

对于以前使用过的土壤,如不检查是否达到恒定质量时,可采用以前确定的干燥时间。

对每一个过滤器,计算水保持能力时,结果偏差不大于 1%。

示例:

空过滤器	11.325 g;
过滤器+新鲜土壤	20.475 g;
新鲜土壤	9.150 g;
过滤器+浸过水的土壤	24.105 g;
浸过水的土壤	12.780 g;
过滤器+干燥过的土壤	16.600 g;

GB/T 19275—2003

干燥过的土壤 5.275 g;

保持水的能力 7.505 g;

水保持能力(相当于干燥过土壤质量分数) 142%。

最后结果:土壤可保存的最大水质量相当于它干燥质量的 142%。
