

ICS 83.080.01  
分类号: G31  
备案号: 12513-2003

# QB

## 中华人民共和国轻工行业标准

QB/T 2591—2003

---

### 抗 菌 塑 料 抗菌性能试验方法和抗菌效果

**Antimicrobial plastics—Test for antimicrobial activity and efficacy**

(JIS Z 2801—2000, Antimicrobial products—Test for antimicrobial activity and efficacy, NEQ & ASTM G 21—1996, Standard Practise for Determining Resistance of Synthetic Polymeric Materials to Fungi, NEQ)

2003-09-13 发布

2003-10-01 实施

---

中华人民共和国国家发展和改革委员会 发布

## 前 言

本标准规定了抗菌塑料的抗菌性能试验方法和对抗菌效果的评价。本标准的抗菌性能要求和试验方法对应于日本国家工业标准 JIS Z 2801—2000《抗菌加工制品 抗菌性试验方法和抗菌效果》(英文版),及美国材料与试验协会标准 ASTM G 21—1996《合成高分子材料耐真菌性的测定》(英文版)。本标准与 JIS Z 2801—2000 和 ASTM G21—1996 的一致性程度为非等效。

本标准的附录 A 和附录 B 为规范性附录。

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归口。

本标准由海尔科化工程塑料国家工程研究中心股份有限公司负责起草;中国科学院理化技术研究所、北京崇高纳米科技有限公司、中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所、上海维来新材料科技有限公司、广州擎天新材料研究开发有限公司、山东正元纳米材料工程有限公司、广东省微生物分析检测中心、美菱集团参加起草。

本标准主要起草人:董晓旭、季君晖、李毕忠、颜乃泓、王友斌、陶志清、陈仪本。

本标准首次发布。

## 引 言

抗菌塑料是一种新型的功能塑料，随着人们对生活质量要求的提高，其应用日益广泛。为保证国内抗菌塑料制品的质量，为抗菌塑料的评价提供统一的技术依据，特制定本行业标准。

本标准主要提供抗菌塑料的试验方法和抗菌效果评价。对于抗菌塑料的其他重要性能，如产品的理化性能和安全性可参考其他相关标准，在本标准中不作明确规定。而抗菌效果的长效性问题比较复杂，需要进一步研究，本标准暂不涉及。

# 抗菌塑料 抗菌性能试验方法和抗菌效果

## 1 范围

本标准界定了抑菌、杀菌、抗菌和抗菌塑料的术语。

本标准规定了抗菌塑料抗菌性能的术语和定义、产品分类、抗菌性能要求和试验方法。

本标准适用于具有抑制/杀死细菌和（或）抑制/杀死霉菌作用的抗菌塑料，不适用于软质抗菌泡沫塑料和添加光触媒类抗菌剂的抗菌塑料。

## 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

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

### 3.1

#### 抑菌

抑制微生物生长繁殖的作用叫做抑菌。

### 3.2

#### 杀菌

杀死微生物营养体和繁殖体的作用叫做杀菌。

### 3.3

#### 抗菌

抑菌和杀菌作用的总称为抗菌。

### 3.4

#### 抗菌塑料

具有抗菌作用的塑料称为抗菌塑料。

## 4 产品分类

按抗菌性能可分为三种类型：

- a) 抗细菌型（应符合表1的要求）；
- b) 抗霉菌型（应符合表2的要求）；
- c) 抗细菌和霉菌型（应同时符合表1和表2的要求）。

## 5 抗菌性能要求

### 5.1 抗菌塑料的抗细菌性能

抗菌塑料的抗细菌性能应符合表1的规定。

表 1

项 目 名 称	抗 细 菌 率, %	
	I	II
抗 细 菌 性 能 试 验	≥99	≥90
注: 抗细菌率(见附录 A)符合 I ≥99% 的抗菌塑料可以报告有强抗细菌作用; 抗细菌率符合 II ≥90% 的抗菌塑料可以报告有抗细菌作用。		

## 5.2 抗菌塑料的抗霉菌性能

抗菌塑料的抗霉菌性能应符合表 2 的规定。

表 2

项 目 名 称	长 霉 等 级	
抗霉菌性能试验	0 级	I 级
注: 长霉等级(见附录 B)符合 0 级的抗菌塑料可以报告有强抗霉菌作用; 长霉等级符合 I 级的抗菌塑料可以报告有抗霉菌作用。		

## 6 试验方法

## 6.1 抗菌性能试验

按附录 A 规定的方法进行试验。

## 6.2 抗霉菌性能试验

按附录 B 规定的方法进行试验。

## 附录 A (规范性附录)

### 抗菌塑料 抗细菌性能试验方法

#### A.1 原则

本方法通过定量接种细菌于待检样品上,用贴膜的方法使细菌均匀接触样品,经过一定时间的培养后,测得样品中的活菌数,并计算出样品的抗细菌率。

本方法适用于抗菌塑料的抗细菌性能试验。

#### A.2 条件

##### A.2.1 主要设备

A.2.1.1 恒温培养箱( $37\pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 、冷藏箱  $0^{\circ}\text{C}\sim 5^{\circ}\text{C}$ 、超净工作台、生物光学显微镜、压力蒸汽灭菌器、电热干燥箱。

A.2.1.2 灭菌平皿、灭菌试管、灭菌移液管、接种环、酒精灯。

##### A.2.2 主要材料

###### A.2.2.1 覆盖膜

聚乙烯薄膜,标准尺寸为 $(40\pm 2)\text{mm}\times(40\pm 2)\text{mm}$ 、厚度为  $0.05\text{mm}\sim 0.10\text{mm}$ 。如试验样品外形尺寸较小,可按其面积减小该覆盖膜尺寸,且保证样品覆盖膜部位所铺的菌浓度不变。用 70%乙醇溶液浸泡 1 min,再用无菌水冲洗,自然干燥。

###### A.2.2.2 样品

###### A.2.2.2.1 阴性对照样品

编号 A,是直径 90 mm 或 100 mm 的灭菌平皿的内平板。

###### A.2.2.2.2 空白对照样品

编号 B,是未添加抗菌成分的塑料,标准尺寸为 $(50\pm 2)\text{mm}\times(50\pm 2)\text{mm}$ 、厚度不大于 5 mm。可用与抗菌塑料样基材相同的树脂、相同的加工工艺制成;也可直接从普通塑料制品(与抗菌塑料检测样基材相同)中裁剪,并尽可能选择表面平整的部分。若尺寸小于  $50\text{mm}\times 50\text{mm}$ ,应不小于  $20\text{mm}\times 20\text{mm}$ ,否则需将其重新加工制成标准尺寸。

###### A.2.2.2.3 抗菌塑料样品

编号 C,是添加抗菌成分的塑料,推荐采用标准尺寸为 $(50\pm 2)\text{mm}\times(50\pm 2)\text{mm}$ 、厚度不大于 5 mm。若尺寸小于  $50\text{mm}\times 50\text{mm}$ ,应不小于  $20\text{mm}\times 20\text{mm}$ ,且覆盖膜面积也相应减小,否则将其重新加工制成标准尺寸。

以上 A.2.2.2 中的所有样品在试验前应进行消毒,建议用消毒剂(70%乙醇溶液)(A.2.3.3.1)擦拭样品表面,1 min 后用无菌水冲洗,自然干燥。如不适于用消毒剂处理的样品,可直接用无菌水冲洗。

#### A.2.3 培养基和试剂

##### A.2.3.1 营养肉汤(NB)

牛肉膏	5.0 g
蛋白胨	10.0 g
氯化钠	5.0 g

制法:取上述成分加入 1000 mL 蒸馏水中,加热溶解后,用  $0.1\text{mol/L}$  氢氧化钠(NaOH)溶液调节 pH 使灭菌后为 pH  $7.0\sim 7.2$ ,分装后置压力蒸汽灭菌器内,  $121^{\circ}\text{C}$  灭菌 30 min。

**A. 2.3.2 营养琼脂培养基 (NA)**

营养肉汤(NB)(A.2.3.1)1000 mL 中加入 15 g 琼脂, 加热溶化, 用 0.1 mol/L 氢氧化钠(NaOH)溶液调节 pH 使灭菌后为 pH 7.0~7.2, 分装后置压力蒸汽灭菌器内, 121℃ 灭菌 30 min。

**A. 2.3.3 试剂**

**A. 2.3.3.1 消毒剂**

70%乙醇溶液。

**A. 2.3.3.2 洗脱液**

含 0.80%氯化钠(NaCl)的生理盐水。为便于洗脱可加入少量无菌表面活性剂(如吐温 80)。用 0.1 mol/L 氢氧化钠(NaOH)溶液或 0.1 mol/L 盐酸(HCl)溶液调节 pH 使灭菌后为 pH 7.0~7.2, 分装后置压力蒸汽灭菌器内, 121℃ 灭菌 30 min。

**A. 2.3.3.3 培养液**

营养肉汤(NB)(A.2.3.1)/生理盐水溶液。建议用于大肠杆菌的浓度为 1/500, 金黄色葡萄球菌的浓度为 1/100。为便于细菌分散可加入少量无毒表面活性剂(如吐温 80)制成。用 0.1 mol/L 氢氧化钠(NaOH)溶液或 0.1 mol/L 盐酸(HCl)溶液调节 pH 使灭菌后为 pH 7.0~7.2, 分装后置压力蒸汽灭菌器内, 121℃ 灭菌 30 min。

**A. 2.4 检验菌种**

- a) 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) ATCC 6538
- b) 大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) ATCC 25922

根据产品的使用要求, 可选用其他菌种作为检验菌种, 但菌种应由国家级菌种保藏管理中心提供。

**A. 3 操作步骤**

**A. 3.1 菌种保藏**

将菌种接种于营养琼脂培养基(NA)(A.2.3.2)斜面上, 在(37±1)℃下培养 24 h 后, 在 0℃~5℃下保藏(不得超过 1 个月), 作为斜面保藏菌种。

**A. 3.2 菌种活化**

将斜面保藏菌种(A.3.1)转接到平板营养琼脂培养基上, 在(37±1)℃下培养 24 h, 每天转接 1 次, 不超过 2 周。试验时应采用连续转接 2 次后的新鲜细菌培养物(24 h 内转接的)。

**A. 3.3 菌悬液制备**

用接种环从 A.3.2 的培养基上取少量(刮 1~2 环)新鲜细菌, 加入培养液(A.2.3.3.3)中, 并依次做 10 倍递增稀释液, 选择菌液浓度为  $5.0 \times 10^5$  cfu/mL~ $10.0 \times 10^5$  cfu/mL 的稀释液作为试验用菌液, 按 GB/T 4789.2 的方法操作。

**A. 3.4 样品试验**

分别取试验用菌液(A.3.3)0.2 mL 滴加在阴性对照样品(A)、空白对照样品(B)和抗菌塑料样品(C)上。每个样品做 5 个平行。

用灭菌镊子夹起灭菌覆盖膜分别覆盖在样品(A)、样品(B)和样品(C)上, 一定要铺平, 使菌均匀接触样品, 置于灭菌平皿中, 在(37±1)℃、相对湿度大于 90%条件下培养 24 h。

取出培养 24 h 的样品, 分别加入洗脱液(A.2.3.3.2)20 mL, 反复洗样品(A)、样品(B)、样品(C)及覆盖膜(最好用镊子夹起薄膜冲洗), 充分摇匀后, 取一定量接种于营养琼脂培养基(NA)(A.2.3.2)中, 在(37±1)℃下培养 24 h~48 h 后活菌计数, 按 GB/T 4789.2 的方法测定活菌数。

以上试验重复两次。

**A. 4 检验结果计算**

将 A.3.4 中测定的活菌数结果乘以 100 为样品 A、样品 B、样品 C 培养 24 h 后的实际回收活菌数

值，数值分别为  $A$ 、 $B$ 、 $C$ ，保证试验结果要满足以下要求，否则试验无效：

同一空白对照样品  $B$  的 5 个平行活菌数值要符合（最高对数值-最低对数值）/ 平均活菌数值对数值不大于 0.3；

样品  $A$  的实际回收活菌数值  $A$  应均不小于  $1.0 \times 10^5$  cfu/片，且样品  $B$  的实际回收活菌数值  $B$  应均不小于  $1.0 \times 10^4$  cfu/片。

抗细菌率按式 (A.1) 计算。

$$R(\%) = (B - C) / B \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

$R$ ——抗细菌率，%；

$B$ ——空白对照样品平均回收菌数，cfu/片；

$C$ ——抗菌塑料样品平均回收菌数，cfu/片。



## 附录 B

(规范性附录)

## 抗菌塑料 抗菌性能试验方法

## B.1 原则

本方法用以测定抗菌塑料在霉菌生长的条件下对霉菌的抑制作用。

本方法规定将一定量的孢子悬液喷在待测样品和培养基上,通过直接观测长霉程度来评价抗菌塑料的长霉等级。

## B.2 条件

## B.2.1 主要设备

B.2.1.1 恒温恒湿培养箱( $28 \pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 和相对湿度大于90%、冷藏箱 $0^{\circ}\text{C} \sim 10^{\circ}\text{C}$ 、超净工作台、离心机、生物光学显微镜、压力蒸汽灭菌器、电热干燥箱。

B.2.1.2 血球计数板、灭菌平皿、灭菌试管、灭菌移液管、灭菌离心管、灭菌锥形瓶、接种环、酒精灯。

## B.2.2 主要材料

## B.2.2.1 阴性对照样品

25 mm $\times$ 25 mm 无菌滤纸。

## B.2.2.2 空白对照样品

编号 A, 是未添加抗菌成分的塑料, 标准尺寸为 $(50 \pm 2)$  mm $\times$  $(50 \pm 2)$  mm, 厚度不大于5 mm。可用与抗菌塑料样基材相同的树脂, 相同的加工工艺制成; 也可直接从普通塑料制品(与抗菌塑料样品基材相同)中剪裁, 应保证表面平整。若尺寸小于50 mm $\times$ 50 mm, 应不小于40 mm $\times$ 40 mm, 否则将其重新加工制成标准尺寸。

## B.2.2.3 抗菌塑料样品

编号 B, 是添加抗菌成分的抗菌塑料, 标准尺寸为 $(50 \pm 2)$  mm $\times$  $(50 \pm 2)$  mm, 厚度不大于5 mm。可用与抗菌塑料样基材相同的树脂, 相同的加工工艺制成; 也可直接从普通塑料制品(与抗菌塑料样品基材相同)中剪裁。若尺寸小于50 mm $\times$ 50 mm, 应不小于40 mm $\times$ 40 mm, 否则将其重新加工制成标准尺寸。

以上 B.2.2.2 和 B.2.2.3 中所有样品试验前均应进行消毒, 建议用消毒剂(B.2.3.4.1)(70%乙醇溶液)擦拭样品表面, 1 min 后用无菌水冲洗, 自然干燥。如不适用于消毒剂处理的样品, 可直接用无菌水冲洗。

## B.2.3 试剂和培养基

## B.2.3.1 营养盐培养液

硝酸钠 ( $\text{NaNO}_3$ )	2.0 g
磷酸二氢钾 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.7 g
磷酸氢二钾 ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	0.3 g
氯化钾 ( $\text{KCl}$ )	0.5 g
硫酸镁 ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.5 g
硫酸亚铁 ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.01 g
蔗糖	30.0 g

制法：取上述成分加入 0.05% 润湿剂水溶液(B.2.3.4.2)1000 mL 中，加热溶解后，用 0.1 mol/L 氢氧化钠(NaOH)溶液调节 pH 使灭菌后为 pH 6.0~6.5，分装后置压力蒸汽灭菌器内 115℃ 灭菌 30 min。

### B.2.3.2 营养盐琼脂培养基

营养盐培养液(B.2.3.1)1000 mL 中加入琼脂 15 g，加热溶化，用 0.1 mol/L 氢氧化钠(NaOH)溶液调节 pH 使灭菌后为 pH 6.0~6.5，分装后置压力蒸汽灭菌器内 115℃ 灭菌 30 min。

### B.2.3.3 马铃薯-葡萄糖琼脂培养基(PDA)

马铃薯用水洗净，去皮切成小块。称取 200 g，加 1000 mL 蒸馏水，加热煮沸 1 h。然后用双层纱布挤出滤液，将滤液加蒸馏水 1000 mL，加入葡萄糖 20 g，琼脂 20 g，加热溶化，用 0.1 mol/L 氢氧化钠(NaOH)溶液调节 pH 使灭菌后为 pH 6.0~6.5，115℃ 灭菌 30 min。

### B.2.3.4 试剂

#### B.2.3.4.1 消毒剂

70% 乙醇溶液。

#### B.2.3.4.2 洗脱液

土温 80、N-甲基乙磺酸(N-methyltaurine)和二辛磺化丁二酸钠(Dioctyl Sodium Sulphosuccinate)，以上润湿剂任选一种，制成含 0.05% 润湿剂水溶液，调节 pH 使灭菌后为 pH 6.0~6.5，115℃ 灭菌 30 min。

### B.2.4 检测菌种

序号	名称	菌号
1	黑曲霉 ( <i>Aspergillus niger</i> )	AS 3.4463 等同 ATCC 6275
2	土曲霉 ( <i>Aspergillus terreus</i> )	AS 3.3935
3	宛氏拟青霉 ( <i>Paecilomyces Varioti</i> )	AS 3.4253
4	绳状青霉 ( <i>Penicillium funiculosum</i> )	AS 3.3875
5	出芽短梗霉 ( <i>Aureobasium Pullulans</i> )	AS 3.3984
6	球毛壳 ( <i>Chaetomium globosum</i> )	AS 3.4254 或 ATCC 6205

根据产品的使用要求，可选用其他菌种作为检测菌种，但菌种应由国家级菌种保藏管理中心提供。

## B.3 操作步骤

### B.3.1 菌种保藏

将菌种分别接种在马铃薯-葡萄糖琼脂培养基(PDA)(B.2.3.3)斜面上，在 28℃~30℃ 下培养 7d~14d 后，在 5℃~10℃ 下保藏(不得超过 4 个月)，作为保藏菌。

### B.3.2 菌种活化

将保藏菌(B.3.1)接种在 PDA 斜面培养基试管中，培养 7d~14d，使生成大量孢子。未制备孢子悬液时，不得拔去棉塞。每打开 1 支只供制备 1 次悬液，每次制备孢子悬液必须使用新培养的霉菌孢子。

### B.3.3 孢子悬液制备

在培养 7d~14d 内 B.3.2 的 PDA 斜面培养基中加入少量无菌蒸馏水，用灭菌接种针轻轻刮取表面的新鲜霉菌孢子，将孢子悬液置于 250 mL 锥形瓶内，然后注入洗脱液(B.2.3.4.2)40 mL。

锥形瓶中加入直径 5 mm 的玻璃珠 10 粒~15 粒与孢子混合，密封后置水浴振荡器中不断振荡使成团的孢子散开，然后用单层纱布棉过滤以除去菌丝。将其装入灭菌离心管中，用离心机分离沉淀孢子，去上层清液。再加入洗脱液(B.2.3.4.2)40 mL，重复离心操作 3 次。

用 B.2.3.1 营养盐培养液稀释孢子悬液，用血球计数板计数，制成浓度为  $(1 \times 10^6 \pm 2 \times 10^5)$  spores/mL 的霉菌孢子悬液。

6 种霉菌均用以上方法制成孢子悬液，将 6 种孢子悬液混合在一起，充分振荡使其均匀分散。

混合孢子悬液应在当天使用，若不在当天使用应在 3℃~7℃ 保存，4 d 内使用。

#### B.3.4 平板培养基制备

无菌平皿中注入营养盐琼脂培养基(B.2.3.2)，厚度3mm~6mm，凝固后待用(48h内使用)。

#### B.3.5 霉菌活性控制

阴性对照样品(无菌滤纸)(B.2.2.1)铺在平板培养基(B.3.4)上，用装有新制备的混合孢子悬液(B.3.3)的喷雾器喷孢子悬液，使其充分均匀地喷在培养基和滤纸上。

在温度28℃，相对湿度大于90%的条件下培养7d，滤纸条上应明显有菌生长，否则应重新制备孢子悬液。

#### B.3.6 样品试验

同时空白对照样品A、抗菌塑料样品B也分别铺在平板培养基(B.3.4)上，喷孢子悬液(B.3.3)，使其充分均匀地喷在培养基和样品上。每个样品做5个平行。

以上样品在温度28℃，相对湿度大于90%的条件下培养28d，若样品长霉面积不小于10%，可提前结束实验。

以上试验重复两次。

### B.4 检验结果

取出样品需立即进行观察，空白对照样品A长霉面积应不小于10%，否则不能作为该试验的空白对照样品。

样品长霉等级：

- |    |                            |
|----|----------------------------|
| 0级 | 不长，即显微镜(放大50倍)下观察未见生长；     |
| 1级 | 痕迹生长，即肉眼可见生长，但生长覆盖面积小于10%； |
| 2级 | 生长覆盖面积不小于10%。              |
-