

www.newmaker.com

中华人民共和国
国家标准



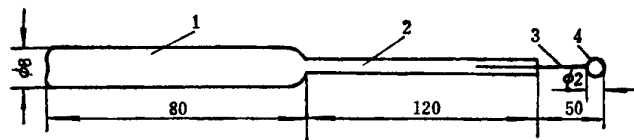
漆膜耐霉菌测定法

本标准适用于漆膜耐霉菌性能的测定。

一、一般规定

1. 材料和仪器设备

- 无色玻璃试管：直径15毫米，长150毫米；
- 无色玻璃培养皿：直径90毫米；
- 三角瓶：50毫升、100毫升、500毫升、1000毫升；
- 量筒：100毫升；
- 量杯：500毫升；
- 无色玻璃漏斗；
- 不锈钢刀；
- 试管架：20~40孔；
- 酒精灯：150毫升；
- 喷雾器：医用喉头喷雾器；
- 马口铁板：15×40×0.2~0.3毫米；
- 铝板：LY 12, 15×40×1~2毫米；
- 保温箱：25~60℃；
- 高压灭菌锅：1.4公斤/厘米²；
- 天平：感量为0.001克；
- 接种环：如图。



1—柄(圆木涂漆)；2—杆(φ2~3毫米，粗铝线改制)；3—不锈钢丝(直径0.5~0.8毫米)；4—不锈钢丝一端的小环

2. 试剂

- 硝酸铵(GB 659—77)：化学纯；
- 磷酸氢二钾(HGB 3155—60)：化学纯；
- 氯化钾(GB 646—77)：化学纯；
- 硫酸镁(GB 671—77)：化学纯；
- 硫酸亚铁(GB 664—77)：化学纯；
- 蔗糖：绵白糖或白砂糖；

琼脂；

吐温80-聚羟基乙烯油酸山梨醇酐；

95%乙醇（GB 679—65）：化学纯。

3. 各种培养基及无菌水的制备

（1）无基盐培养基（供检验样品用）的组成：

硝酸铵：1.5克；

磷酸氢二钾：1.0克；

氯化钾：0.25克；

硫酸镁：0.5克；

硫酸亚铁：0.002克；

琼脂：15~20克（用量冬少夏多）；

水（pH值6.8~7.0）：1000毫升。

按上列组成配好的培养基，放在三角瓶中，盛放量为瓶深的1/2，塞上棉塞（棉塞要求松紧适中，深入瓶口内约3厘米，瓶外部分能握住，保持整洁），用纸包住棉塞。放入高压灭菌锅中，在1.07~1.1公斤/厘米²蒸汽压力下灭菌30分钟。待表压降至零时，开盖取出，稍凉就可趁热倒在培养皿中，培养基厚约5~7毫米。如当天不用，应将灭菌后的培养基存放在阴凉清洁处，用时再加热融化后倒入培养皿中，不能用培养皿盛放保存。

（2）合成培养基（供培养霉菌用）的组成：

硝酸铵：1.5克；

磷酸氢二钾：1.0克；

氯化钾：0.5克；

硫酸镁：0.5克；

硫酸亚铁：0.01克；

蔗糖：30克；

琼脂：15~20克（用量冬少夏多）；

水（pH值6.8~7.0）：1000毫升。

按上列组成配好的培养基放在三角瓶中，盛放量为瓶深的1/2，加热使琼脂完全融化后，用漏斗装入试管内3厘米深（装时不要让培养基沾及管口，如沾及可用湿纱布擦去）。塞上棉塞（棉塞要松紧适中深入管内2厘米，管外留2厘米，保持整洁），扎成一捆，用纸包住棉塞。然后放入高压灭菌锅中，试管必须直立，在1.07~1.1公斤/厘米²蒸汽压力下灭菌30分钟。待表压降至零时，趁热取出试管，分开斜放在横棍上，使培养基顶部保持在试管的中部（除棉塞外），待其自然凉成冻后，存放阴凉清洁处备用。

（3）麦芽汁培养基（供交替培养霉菌用）

将啤酒厂取得的未加苦酒花的麦芽汁，用水冲稀至糖度表10度，加入琼脂15~20克/升（用量冬少夏多）。加热使琼脂完全融化后，用漏斗装入试管〔详见方法（1）〕放入高压灭菌锅中，在0.7~0.8公斤/厘米²蒸汽压力下灭菌30分钟。待表压降至零时，趁热取出试管，分开斜放在横棍上，待其自然冷成冻后，存放阴凉清洁处备用。

（4）马铃薯培养基（供交替培养霉菌用，与麦芽汁培养基可任意选用）

将新鲜马铃薯洗净去皮，用不锈钢刀切成长斜条，大小以能放入试管，斜块顶部保持在试管中部为宜，放入试管中。每管加1毫升水，塞上棉塞，扎成一捆，用纸包住棉塞，放入高压灭菌锅中，在1.07~1.1公斤/厘米²蒸汽压力下灭菌30分钟。待表压降至零时，趁热取出试管，放在阴凉清洁处备用。

（5）无菌水

用100份蒸馏水加0.005份分散剂（吐温80）配成无菌水，放在100毫升三角瓶中，盛放量为瓶深的1/2，塞上棉塞，用纸包住棉塞。放入高压灭菌锅中，在1.07~1.1公斤/厘米²蒸汽压力下灭菌30分钟。

待表压降至零时，取出后放阴凉清洁处备用。

4. 菌种及混合霉菌孢子（种子）悬浮液的制备

(1) 菌种：黄曲霉、黑曲霉、萨氏曲霉、土曲霉、焦曲霉、黄青霉、拟青霉、芽枝霉、毛壳霉、木霉。

(2) 菌种种植培养

先将接种环在酒精灯上烧红金属丝部分，杀死被沾污的杂菌，再放入消毒（含乙醇70~75%的酒精瓶中冷却，酒精量以没过金属丝2/3处为宜。将新鲜培养基试管与老菌管并放在左手心上，由中央三指和掌心握住试管，先分别旋松两试管上的棉塞。右手用三指拿住接种环柄，自消毒酒精瓶中取出，并迅速使金属丝部分通过火苗，燎去酒精而不使环烧热。用右手小指和掌心同时夹住两管的棉塞，轻轻拔出。左手将试管微向上，靠近酒精灯火苗。右手接种环悬空伸入老菌管中，在菌种表面轻擦一下，环上就沾上霉菌孢子，再仔细地退出接种环，将管口时，左手将两试管口稍离火苗，同时右手接种环迅速退出老菌管进入新鲜培养基管内，在培养基表面轻轻擦一下。退出接种环，按原管塞住棉塞。然后，在火苗上把接种环烧红灭菌，放在消毒酒精瓶中冷却。种好的新菌管用标签标明菌号、接种日期，集中在29~30℃保温箱中培养。老菌管暂存。

新菌管培养5~7天后，取出与老菌管对照检查，应无错误、污染。将新菌管保存在阴凉清洁处。将老菌管灭菌后洗净。保存的菌种需要定时更换新菌，一般夏季每月更换一次，冬季两月更换一次。

作为试验用菌种，培养10~14天，取出制备混合霉菌孢子悬浮液。

霉菌菌种可用三种培养基交替培养，以保持生长良好。

(3) 混合霉菌孢子（种子）悬浮液

将预先培养好的试验菌种，按每10毫升无菌水，菌种5环的量计算总的无菌水所需接种环数，再分别计算每种菌所需接种环数。孢子多的取种环数可少些，孢子少的，取种环数可多些。接种环先经烧红灭菌，在酒精中冷却。逐个将霉菌种子取出放在无菌水中，取完后，塞上棉塞，充分摇动，使霉菌种子在无菌水中充分的分散。混合霉菌孢子悬浮液，必须当天制备，当天使用。用过的菌管经高压蒸汽灭菌后洗净备用。

二、测定方法

5. 甲法：培养皿法

本方法适用于使用小片试样检验漆膜耐霉菌的性能。

将三块马口铁板（水性漆可选用铝板）用溶剂擦洗干净，按漆膜制备法的喷涂法制备漆膜，待漆膜实干后，平放在无机盐培养基表面。用喷雾器将悬浮液均匀细密地喷在样板上，稍晾干后，盖上皿盖。盖口注明试样、编号和日期，放入保温箱中保持在29~30℃培养。三天后检查样板表面生霉是否正常，若生霉正常可将培养皿倒置，使培养基部分在上，这样培养基不易干，样板表面凝露减少。若不见霉菌生长（从培养基上可以辨明）则需另喷混合霉菌孢子悬浮液。七天后检查试样生霉程度，十四天后总检查。按本标准评定等级。

检验周期如产品标准中另有规定，按产品标准规定进行。

6. 乙法：局部法

本方法主要适用于大型器件成品漆膜的耐霉菌性能的测定。

在大件成品试样局部的漆膜表面上，均匀细密地喷洒混合孢子悬浮液。稍晾干后，先放上半块平板培养基，盖上留下半块平板培养基的圆皿（半个培养皿），使上、下两个半块培养基互相交叉，构成优越的生霉环境。四周用胶布固定（但不能将盖缝封死），标明试样编号和日期，放入保温箱中，在29~30℃培养。三天后检查样板表面生霉状况，如生霉正常，七天后检查生霉程度，十四天后总检查，按标准评定等级。

检查周期如产品标准中另有规定，按产品标准规定进行。

三、检查方法和评级标准

直接从正面或侧面观察样板表面霉菌、菌体、菌丝生长状况。在十四天培养期内以不开盖检查为宜，以保持样板在培养过程的稳定状况，避免霉菌在温度改变时枯萎，影响检验的准确性。

评 级 标 准

等 级	
0	无长霉
1	长霉斑点在1毫米左右，分布稀疏
2	长霉斑点在2毫米左右或蔓延生长在2毫米范围内，霉斑分布最大量不超过整个表面的四分之一
3	长霉斑点在2毫米左右或分布量占整个表面的二分之一左右
4	长霉斑点大部分在5毫米以上或整个表面布满菌丝

四、注 意 事 项

7. 培养皿灭菌法

将洗净晾干的培养皿，几个一起用纸包住，在1.3公斤/厘米²蒸汽压力下灭菌1小时后取出，在110℃的烘箱中烘干。

8. 操作室灭菌法

(1) 甲醛熏蒸法

把高锰酸钾放在地上的瓷盘内，然后倒入定量的甲醛，使高锰酸钾湿透，即迅速放出气体，有效地清洁了室内的空气。

应注意在操作前必须使窗户及通风管道关闭。一般每米²用5克高锰酸钾，3毫升37%的甲醛，即可。加完甲醛后，操作人员必须迅速退出并关好门，在24小时内不使人进入室内。

(2) 乳酸消毒法

每100米³用80%乳酸100毫升，加热熏蒸30~60分钟。

9. 高压蒸汽灭菌锅操作法

先检查压力表和安全阀，如用外加热，必须检查锅内水位保持安全位置。

装好物品后，盖紧锅盖，打开放气口。通入蒸汽或加热到放气口出现水汽时，表明锅内空气已被赶走，关好放气口。继续加热升压至所需压力，保持压力到足够时间，停止加热。待冷却至表压0.2公斤/厘米²以下时，打开放气口，放掉剩余压力，即可开启锅盖，取出物品，晾干水汽，保存待用。

注：自本标准实施之日起，原部标准HG 2—740—77作废。