



中华人民共和国国家标准

GB/T 37206—2018

有机分离膜抗菌性能测试方法

Test method for antibacterial properties of organic separation membrane

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

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国分离膜标准化技术委员会(SAC/TC 382)提出并归口。

本标准起草单位：天津膜天膜工程技术有限公司、北京科泰兴达高新技术有限公司、天津大学、天津膜天膜科技股份有限公司、山东招金膜天股份有限公司、长江大学、广州中国科学院先进技术研究所、浙江津膜环境科技有限公司、国家海洋局天津海水淡化与综合利用研究所。

本标准主要起草人：赵莹、于慧、周明璟、王志、王春浩、王乐译、张梦、孔赞、王剑鸣、冯磊、王瀚漪、刘燕、许以农、唐小珊。

有机分离膜抗菌性能测试方法

1 范围

本标准规定了水处理用有机分离膜抗菌性能的测试方法。

本标准适用于有机平板膜、中空纤维膜抗菌性能的测试,其他类型的有机分离膜可参考执行。

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—2016 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

GB/T 26813 双光束紫外可见分光光度计

YY 0569—2011 II级生物安全柜

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

抗菌 antibacterial

制品表面抑制细菌生长的状态或药剂抑制制品表面细菌生长的效果。

[GB/T 31402—2015,定义 3.1]

3.2

有机膜 organic membrane

以有机聚合物制成的具有分离功能的半透膜。

[GB/T 20103—2006,定义 2.1.8]

3.3

平板膜 flat membrane

外形为平板或纸片状的膜。

[GB/T 20103—2006,定义 2.1.27]

3.4

中空纤维膜 hollow fiber membrane

外形为纤维状、空心的膜。

注:改写 GB/T 20103—2006,定义 2.1.28。

3.5

菌落形成单位 colony forming unit;CFU

在活菌培养计数时,为表达活菌的数量,由单个菌体或聚集成团的多个菌体在固体培养基上生长繁殖所形成的集落。

3.6

抗菌率 antibacterial rate

在抗菌试验中用百分率表示微生物数量减少的值。

[GB 21551.1—2008, 定义 3.6]

4 方法原理

将膜试样和空白对照分别与一定细菌浓度的测试用菌悬液培养一定时间,测定培养后洗脱液中的细菌数,计算膜试样的抗菌率。

5 仪器设备

- 5.1 II级生物安全柜:符合 YY 0569—2011 的规定。
- 5.2 分光光度计:符合 GB/T 26813 的规定。
- 5.3 恒温恒湿培养箱:温度应保持 $(36\pm 1)^\circ\text{C}$ 。
- 5.4 电热恒温水浴锅:控温准确度 $\pm 1^\circ\text{C}$ 。
- 5.5 高压蒸汽灭菌锅:温度应保持 $(121\pm 2)^\circ\text{C}$ 。
- 5.6 冷藏箱:温度应保持 $5^\circ\text{C}\sim 10^\circ\text{C}$ 。
- 5.7 天平:感量为 0.1 g。
- 5.8 无菌平皿:玻璃或聚苯乙烯制,直径 90 mm。
- 5.9 无菌试管:15 mm \times 150 mm。
- 5.10 无菌移液器:量程为 10 $\mu\text{L}\sim 100 \mu\text{L}$ 、100 $\mu\text{L}\sim 1\ 000 \mu\text{L}$ 、2 mL $\sim 10 \text{ mL}$ 。
- 5.11 无菌接种环。

6 试剂或材料

6.1 要求

测试中培养基和试剂应按制造商的说明书配制,配制后,放入高压蒸汽灭菌锅中,在 121°C 条件下灭菌 20 min 后待用。如不立即使用,应置于无菌冷藏箱中,在 $5^\circ\text{C}\sim 10^\circ\text{C}$ 条件下保藏。所有培养基和试剂存放时间不应超过 30 d。

6.2 主要试剂

- 6.2.1 无菌水:符合 GB/T 6682 中规定的二级水,使用前灭菌。
- 6.2.2 氢氧化钠(NaOH):分析纯。
- 6.2.3 盐酸(HCl):分析纯。
- 6.2.4 氯化钠(NaCl):分析纯。
- 6.2.5 磷酸二氢钾(KH_2PO_4):分析纯。
- 6.2.6 葡萄糖:分析纯。
- 6.2.7 牛肉膏:生化试剂。
- 6.2.8 蛋白胨:生化试剂。
- 6.2.9 琼脂粉:生化试剂。
- 6.2.10 酵母膏:生化试剂。
- 6.2.11 胰蛋白胨:生化试剂。

6.3 培养基和试剂的制备

6.3.1 1/500 营养肉汤

称取 0.3 g 牛肉膏、1.0 g 蛋白胨、0.5 g 氯化钠于烧杯中，加入 100 mL 无菌水，加热煮沸溶解并混合均匀后，取 2 mL 用无菌水稀释至 1 000 mL，用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液和 0.1 mol/L 的 HCl 溶液调节 pH 值至 7.0 ± 0.2 。

6.3.2 营养琼脂

称取 3.0 g 牛肉膏、10.0 g 蛋白胨、5.0 g 氯化钠、15.0 g 琼脂粉于烧杯中，加入 1 000 mL 无菌水，加热煮沸溶解并混合均匀后，用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液和 0.1 mol/L 的 HCl 溶液调节 pH 值至 7.0 ± 0.2 。

6.3.3 平板计数琼脂

称取 2.5 g 酵母膏、5.0 g 胰蛋白胨、1.0 g 葡萄糖、15.0 g 琼脂粉于烧杯中，加入 1 000 mL 无菌水，加热煮沸溶解并混合均匀后，用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液和 0.1 mol/L 的 HCl 溶液调节 pH 值至 7.0 ± 0.2 。

6.3.4 斜面培养基

取 6 mL~10 mL 经过高压蒸汽灭菌未凝固的营养琼脂加入到倾角约 15° 的试管中，冷却凝固。

6.3.5 磷酸盐缓冲液

称取 3.4 g 磷酸二氢钾溶解于 50 mL 无菌水中，用浓度为 1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 7.0 ± 0.2 ，转移到 100 mL 容量瓶中加无菌水定容，然后取 1.25 mL 稀释至 1 000 mL。

6.4 菌种

测试所用的菌种或菌株应来源于国家级菌种保藏管理中心。根据需要可选用其他菌种或菌株作为测试用菌，但应在检测报告中注明并说明理由。推荐用测试菌种如下：

- 金黄色葡萄球菌(CGMCC 1.2910 或 ATCC 6538P)；
- 大肠杆菌(CGMCC 1.2463 或 ATCC 8739)。

7 测试方法

7.1 样品处理

在无菌环境下对膜试样进行处理，操作步骤如下：

- a) 将待测有机平板膜制成直径为 (20 ± 1) mm 的圆形，中空纤维膜剪成 (20 ± 1) mm 的试样；
- b) 用无菌水清洗干净，浸泡 24 h，多次漂洗；
- c) 对膜试样进行灭菌处理，风干 24 h；
- d) 中空纤维膜试样整齐紧密地排成 (20 ± 1) mm \times (20 ± 1) mm 的正方形，固定。准备 3 个平行试样。

7.2 测试用菌悬液的制备

7.2.1 菌种保藏

将菌种接种于斜面培养基(6.3.4)上，在 $5^\circ\text{C} \sim 10^\circ\text{C}$ 下保藏，每月转种 1 次。不得使用转种超过 5 次或

转种间隔超过 30 d 的菌种。疑有污染时,应以菌落形态、革兰氏染色与生化试验等方法进行鉴定。

7.2.2 细菌预培养

用无菌接种环将菌种从 7.2.1 保藏菌种的培养基上转移到新鲜的斜面培养基(6.3.4)上,在(36±1)℃条件下培养 24 h。再用无菌接种环将此细菌转移至新鲜的斜面培养基(6.3.4)上,在(36±1)℃条件下培养 12 h~16 h。

7.2.3 测试用菌悬液

使用无菌接种环,转移 1 环 7.2.2 中预培养好的细菌到 1/500 营养肉汤中,振荡混匀。用分光光度计测定细菌浓度,用 1/500 营养肉汤稀释菌悬液,使菌悬液的细菌浓度在 2.5×10^5 CFU/mL~ 10×10^5 CFU/mL 之间,用作测试用菌悬液。测试用菌悬液不立即使用时,应将其放置于 0℃ 冷藏箱中保藏,并在 2 h 内使用。

7.3 测试步骤

抗菌率测试步骤如下:

- a) 取两个无菌平皿,编号 A、B,分别移取 0.4 mL 测试用菌悬液(7.2.3)滴加在平皿上;
- b) 用无菌镊子夹起膜试样平铺覆盖在平皿 A 的菌悬液上(平板膜以有效过滤面接触),并使菌悬液均匀接触膜试样,平皿 B 作为空白对照,不加膜试样;
- c) 同时将平皿 A、B 放入温度为(36±1)℃,相对湿度不小于 90% 的恒温恒湿培养箱中,培养 2 h;
- d) 取出培养后的平皿 A、B,分别用 10 mL 的磷酸盐缓冲液(6.3.5)反复洗脱平皿及膜试样,洗脱液充分混匀;
- e) 用 1 mL 无菌移液器吸取 1 mL 洗脱液注入盛有 9 mL 磷酸盐缓冲液的试管中,充分混匀;
- f) 吸取 1 mL 步骤 e) 中的稀释液注入盛有 9 mL 磷酸盐缓冲液的试管中,充分混匀;
- g) 按步骤 f) 操作,逐级稀释,制备 10 倍系列梯度稀释液(可根据情况,逐级稀释约 4 次~5 次);
- h) 分别移取洗脱液及 10 倍系列梯度稀释液 1 mL,放入无菌平皿中,每个稀释度做 2 个平皿,倾注(45±2)℃融化的平板计数琼脂约 15 mL,轻轻晃动平皿使细菌分散均匀,冷却凝固后翻转平皿,放入(36±1)℃的恒温培养箱中培养 46 h~48 h;
- i) 取出培养后的平皿,按照 GB 4789.2—2016 中 6.3 规定的方法,进行菌落计数,计作 N_A 、 N_B ;
- j) 以上测试平行进行 3 组。

7.4 试验数据处理

7.4.1 抗菌率

试样的抗菌率 K ,按式(1)计算:

$$K = \frac{N_B - N_A}{N_B} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

K ——抗菌率,%;

N_B ——空白受试菌培养后的菌落数(平皿 B),单位为菌落形成单位(CFU);

N_A ——测试样与受试菌接触培养后的菌落数(平皿 A),单位为菌落形成单位(CFU)。

计算结果保留小数点后一位。

7.4.2 平均抗菌率

平均抗菌率 \bar{K} 为 3 组平行测试抗菌率的算术平均值,按式(2)计算:

$$\bar{K} = \frac{K_1 + K_2 + K_3}{3} \dots\dots\dots(2)$$

式中：

- \bar{K} ——平均抗菌率，%；
- K_1 ——第 1 组测试的抗菌率，%；
- K_2 ——第 2 组测试的抗菌率，%；
- K_3 ——第 3 组测试的抗菌率，%。

计算结果保留小数点后一位。

8 检测报告

检测报告应包括以下内容：

- a) 膜试样名称、材质；
- b) 送检单位；
- c) 膜生产单位；
- d) 受试菌种和菌株号；
- e) 检测方法及执行标准编号；
- f) 检测日期；
- g) 检测人员；
- h) 检测结果。

9 注意事项

测试时应注意以下事项：

- a) 测试操作均应在Ⅱ级生物安全柜中进行；
- b) 测试所用设备使用前均应经过灭菌处理；
- c) 测试中应佩戴口罩、手套等防护用具，做好个人防护；
- d) 测试用菌种的保藏应有专人负责并做好取用记录。

参 考 文 献

- [1] GB/T 20103—2006 膜分离技术 术语
 - [2] GB/T 21510—2008 纳米无机材料抗菌性能检测方法
 - [3] GB 21551.1—2008 家用和类似用途电器的抗菌、除菌、净化功能通则
 - [4] GB/T 21866—2008 抗菌涂料(漆膜)抗菌性测定法和抗菌效果
 - [5] GB/T 31402—2015 塑料 塑料表面抗菌性能试验方法
-