

# DA

## 中华人民共和国档案行业标准

DA/T 26-2000

---

### 挥发性档案防霉剂防霉效果 测定方法

2000-12-06 批准

2001-01-01 实施

---

中华人民共和国国家档案局 发布

# 目 录

1 范围.....	1
2 测试用品与设备 .....	1
2•1 用品 .....	1
2•2 设备 .....	2
3 测试条件 .....	2
4 测试方法 .....	3
5 结果测定 .....	5
附录 A.....	6
A1 培养基的配制 .....	6
A2 霉菌培养基配方.....	7
附录 B.....	8
B1 玻璃器皿的清洗.....	8
B2 玻璃器皿的灭菌.....	8
附录 C.....	10
C1 步聚 .....	10
C2 要求 .....	10
C3 计数 .....	11
附录 D.....	12
D1 接种 .....	12
D2 保藏 .....	12

# 挥发性档案防霉剂防霉效果 测定方法

---

## 1 范围

本标准规定了挥发性档案防霉剂防霉效果测试材料、仪器设备、测试条件、测试方法、结果评定等内容。

本标准适用于挥发性档案防霉剂防霉效果的测定。

## 2 测试用品与设备

### 2·1 用品

2·1·1 培养基

2·1·2 供试菌种

2·1·3 受试底物

2·1·4 医用喷雾器

2·1·5 医用剪刀

2·1·6 医用纱布

2·1·7 小试管(15mm×150mm)

2·1·8 培养皿(90mm)

2·1·9 移液管(吸管)(1mL)

2·1·10 三角烧瓶(250mL、500mL)

2·1·11 烧杯(250mL、500mL、1000mL)

2·1·12 量筒(100mL、500mL、1000mL)

2·1·13 带盖的圆柱形玻璃器皿(容积约为 1200mL)

## 2·2 设备

2·2·1 手提医用消毒器

2·2·2 架盘天平

2·2·3 电热干燥箱

2·2·4 恒温恒湿培养箱

2·2·5 电冰箱

2·2·6 无菌操作台或无菌室

## 3 测试条件

3·1 温度  $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。

3·2 湿度  $\text{RH} \geq 93\%$ 。

3·3 培养基

土豆汁培养基(配方见附录 A)。

3·4 菌种

杂色曲霉(*Aspergillus Versicolor*)

黑曲霉(*Aspergillus niger*)

产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)

桔青霉(*Penicillium citrinum*)

球毛壳霉(*Chaetomium globosum*)

腊叶芽枝霉(*Cladosporium herbarum*)

绿色木霉(*Trichoderma viride*)

宛氏拟青霉(*Paecilomyces varioti*)

### 3·5 菌量(见附录 C)

混合孢子悬浮液浓度: $1 \times 10^5$  个/mL~ $1 \times 10^7$  个/mL。

### 3·6 底物

宣纸、卡纸、书写纸、牛皮纸、漆纸、漆布(尺寸大小为 20mm×30mm), 胶片、录像带(尺寸大小为自然宽度×30mm)。

### 3·7 药量

1000mL 体积中悬挂 1.0g(即 1000mg) 药物。

### 3·8 时间

放置 28 天。

## 4 测试方法

### 4·1 消毒器皿

先用清水中加入数滴洗涤剂的洗洁液浸洗圆柱玻璃器皿, 再用清水冲洗, 最后用 75%乙醇涂擦消毒, 待干, 备用。

### 4·2 准备无菌水

准备好带玻璃珠的无菌生理盐水和不带玻璃珠的无菌水若干瓶。即在 250mL 三角瓶中注人 100mL 生理盐水, 并放人几十粒玻璃珠, 灭菌(参见附录 B)。在 250mL 三角瓶中注人 200mL 自来水, 同样灭菌。

### 4·3 制备霉菌孢子悬浮液(见附录 D)

在无菌室或无菌操作台，在火焰旁，用接种环分别挑取 8 株供试霉菌，接入带上述玻璃珠的无菌生理盐水中，用手振荡 3min~5min，使孢子充分分散，复制成  $1 \times 10^5$  个/mL~ $1 \times 10^7$  个/mL 的霉菌孢子悬浮液，备用。

#### 4·4 放置样品(见图 1)

4·4·1 在适当的玻璃器皿内，悬挂受试底物，并喷洒霉菌孢子悬浮液(以表面湿润为宜)，晾干，备用。

4·4·2 在圆柱形玻璃器皿底部倒入 200mL 左右的无菌水(其目的是保持湿度，同时占去多余容积，使玻璃器皿内的空间容积正好为 1000mL)。

4·4·3 将 1.0g 挥发性防霉剂用二层纱布或无纺布包裹后悬挂于玻璃器皿中央部位。

4·4·4 在防霉剂周围悬挂受试底物(间隔至少 1cm，不能相互接触)

4·4·5 将玻璃器皿瓶口用盖子盖紧(或用透明复合塑料膜包扎)，保持密封。

4·4·6 将玻璃器皿置于恒温恒湿培养箱内，在  $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ， $\text{RH} \geq 95\%$  条件下，培养 28 天。

#### 4·5 空白对照

在圆柱形玻璃器皿中央部位不悬挂挥发性防霉剂，重复上述步骤，作空白对照。

当空白对照容器内的受试底物发霉严重时(即长霉程度++~+++)，测试有效，否则必须重做。

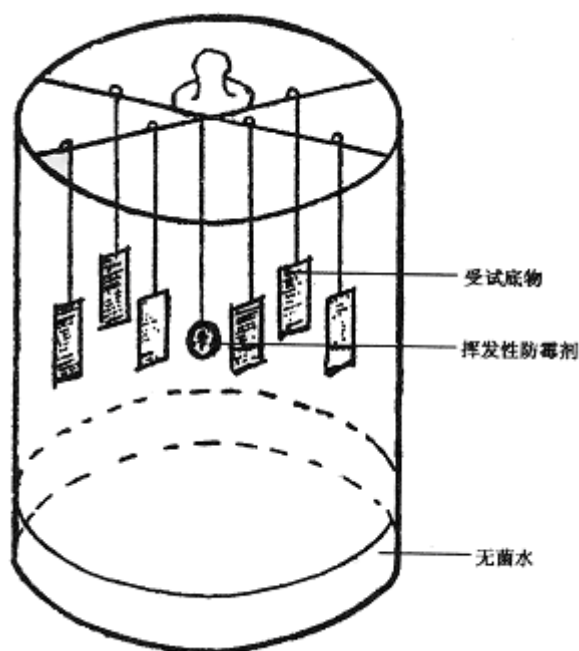


图 1

## 5 结果测定

用肉眼观察长霉程度并进行等级评定(见表 1)。

表 1 长霉程度和等级

菌丝生长情况	长霉程度	长霉等级
试样表面看不到菌丝生长	-	0 级
试样表面看到菌丝生长, 但菌丝生长面积不超过全面积的三分之一	+	1 级
试样表面看到菌丝生长, 菌丝生长面积超过全面积的三分之一, 但不超过全面积的三分之二	++	2 级
试样表面看到菌丝生长, 菌丝生长面积超过全面积的三分之二	+++	3 级

提示:长霉等级 0 级表示挥发性防霉剂防霉效果很好, 1 级表示效果较好, 2 级表示效果较差, 3 级表示效果很差。

## 附录 A

(标准的附录)

### 培养基的配制与灭菌

#### A1 培养基的配制

培养基从形式区分有固体培养基和液体培养基:从内容区分有合成培养基和天然培养基等。其配制步聚为:

a) 物料称量

明确培养基的组成部分,根据需要配制的量计算好各成分的重量,逐一称取。

b) 溶解

一般情况下,可将几种原料和药品一起放大烧杯内调匀,并定容到需要的体积。

c) 调节 pH

微生物生长需要合适的 pH,通常用 1mol/L(1 N)NaOH, 1mol/L(1 N)HCl 或 0.5mol/L(1 N)H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 调节 pH 至 5.0。调节时要慢慢滴入,不断用 pH 试纸检查,至所需要的 pH 为止。

d) 加热溶解

配制固体培养基一般加入 2%的琼脂(俗称洋菜),与培养基一起加热溶解。加入琼脂后,须不断搅拌,以免琼脂粘底烧焦。

e) 过滤

一般来说,培养基配制好后要过滤,滤去不溶物或块状物。过滤必须趁热进行,通常用 4~6 层纱布作滤层。无不溶物或块状物的培养基也可以不过滤。

f) 分装



按照需要，分装进试管、培养皿或三角烧瓶中。一般只装到试管的 1/5，培养皿中装入 15mL~20mL，三角烧瓶装入一半量。

g) 加棉花塞或纱布、绒布扎口

培养基灌装后，应在试管口或三角烧瓶口上加棉花塞或纱布、绒布扎口，其作用有二：一是阻止外界微生物进入，二是保证有良好的通气，以便微生物能不断获得无菌空气。

h) 包扎

棉塞塞好后，试管扎成捆，同时在外面包扎上一层牛皮纸。三角烧瓶口也用牛皮纸包扎好，以防灭菌时冷凝水浸湿棉塞和灭菌后的灰尘侵入。

i) 灭菌

一般情况下，培养基配制好后应立即灭菌，于  $1\text{kg}/\text{cm}^2$  压力下消毒 30min 即可。如不及时灭菌，则应放入冰箱内保存。

灭菌时，必须先将压力器内的空气排放干净，否则，即使压力到了所规定的数值，还是达不到所需要的温度。

j) 定形

固体培养基温度降到一定程度时便凝固成形。

## A2 霉菌培养基配方

霉菌培养基配方有多种，本标准采用土豆汁培养基，配方如下：

土豆(去皮)200g、水 1000mL、琼脂 20g、pH5.0

将土豆洗净去皮，称取 200g，切成小块，加 1000mL 水煮沸 1h，用双层纱布滤成清液。加水补充因蒸发而减少的水分。

## 附录 B

(提示的附录)

### 玻璃器皿的清洗与灭菌

#### B1 玻璃器皿的清洗

对买来的新试管、移液管、培养皿、三角烧杯、烧杯等玻璃器皿，先用水冲洗，然后放在 5% 的碱溶液内洗刷，再放在 3% 的盐酸溶液内中和，最后用水冲洗，晾干或烘干即可。

培养或污染过微生物的玻璃器皿，在洗涤之前，必须先进行消毒。一般采用高压灭菌，也可用常压煮沸或其他化学药品消毒。消毒后，将脏的培养物或其他污染物去掉，然后用清水冲洗，再在肥皂水中洗刷，最后用清水冲洗干净，晾干或烘干即可。

遇有不易洗刷干净的玻璃器皿，则可用硫酸重铬酸钾洗液浸渍后再清洗。其配方是：

粗硫酸 900mL，重铬酸钾(粗制)100g，自来水 100mL。配制顺序是：先将自来水和重铬酸钾置于烧杯中，加热溶化，待冷却后，再以细流加入硫酸即可。

若玻璃器皿上有橡皮胶、封蜡、凡士林等物时，应另外处理，然后再按上述清洗过程洗涤。

#### B2 玻璃器皿的灭菌

微生物试验中所用的玻璃器皿都可以采用高压灭菌。清洗干净的玻璃器皿晾干或烘干后分别进行封口、包扎，然后灭菌。

培养皿一般用牛皮纸包裹(10套一包)，用线扎牢，或装入特制的铝皮盒内。试管应先加棉花塞(采用脱脂棉)，棉塞的大小松紧要适宜，以便操作时易于拔取和塞回。最后装进试管筐内，上面包以牛皮纸。吸管(移液管)管口应先塞少许棉花，以免使用不慎将微生物吸入口中或橡皮吸球内。然后每支吸管都先用薄纸包

卷,每 10 支吸管用牛皮纸包扎好。三角烧瓶瓶口用绒布(或几层纱布)及牛皮纸包扎好。其他玻璃器皿也都用牛皮纸包裹后再进行灭菌。

准备工作做好后,将玻璃器皿置高压灭菌器内,在 1kg/cm<sup>2</sup> 压力下消毒 45min 即可。

灭菌后,取出,烘干,备用。

试管、培养皿、三角烧瓶等玻璃器皿以及金属用具也可施行干热灭菌。先用水洗涤干净,待干燥后塞上棉花或绒布,用牛皮纸包扎好,置电热干燥箱内,加热至 150℃~170℃,约保持 1h~2h。

## 附录 C

(提示的附录)

### 活菌计数

#### C1 步骤

- a) 用灭菌吸管吸取 1mL 霉菌孢子悬浮液注入 9mL 灭菌生理盐水试管中(注意勿使吸管接触液体)，充分混匀，制成 1:10 稀释菌液。
- b) 用灭菌吸管吸取 1mL 1:10 的霉菌孢子稀释液注入到另一支 9mL 灭菌生理盐水试管中，充分混匀，使成 1:100 稀释菌液。
- c) 根据霉菌孢子悬浮液的浓度，用同样方法，制成 1:1000、1:10000、1:100000、1:1000000、1:10000000 等稀释菌液(每次稀释应更换一支来菌吸管)。
- d) 用灭菌吸管吸取上述稀释液各 1mL 分别注入灭菌培养皿中，每种稀释度应做 3~5 块培养皿。
- e) 将溶化并冷却至 45°C 左右的霉菌琼脂培养基放入各培养皿内(每皿约 15mL~20mL)，随即晃动培养皿，使菌液与培养基充分混合，平放，待凝固。
- f) 将培养基凝固后的培养皿置于 28°C±20°C 的恒温培养箱内培养 2~3 天，取出，观察菌落并计数。

#### C2 要求

操作必须在无菌室或无菌箱内进行。

## C3 计数

用肉眼观察，点数菌落数。由于霉菌不同于细菌和酵母，其菌落大，且扩展快，故计数时依每皿 5~10 个菌落为宜，少于或超过这一数字的培养皿可不作计数。每种稀释度的 3~5 块培养皿取其平均值。

应使用下列公式：

式中

$$X=(S/N) \cdot M(\text{个/mL})$$

X——每毫升霉菌孢子悬浮液的活菌数；

S——稀释度培养皿上出现的菌落总数；

N——培养皿的数目；

M——稀释倍数。

示例：

1:10000000(即  $1 \times 10^{-7}$ ) 稀释度 5 块培养皿上出现的菌落数分别为 6、10、7、9、8，则每毫升霉菌孢子悬浮液的活菌数为：

$$X=[(6+10+7+9+8)/5] \times 10000000=80000000 \text{ 个/mL, 即 } 8 \times 10^7 \text{ 个/mL}$$

## 附录 D

(提示的附录)

### 菌株接种与保藏

#### D1 接种

菌株接种常用接种环或接种针。接种过程必须执行严格的无菌操作，通常在无菌室或无菌操作台上进行，并靠近火焰(煤气灯或酒精灯)操作。

斜面接种是从已生长好的菌种斜面上用接种环(或针)挑取少许菌落，把它们移接到另一支新鲜斜面培养基上。具体步聚是：

手持试管斜面→旋松棉塞→取接种环→拔棉花塞→环灼烧冷却→挑取菌种→接种→塞棉花塞→接种环灭菌。

将接种过的斜面培养基置于  $28\text{°C} \pm 2\text{°C}$  恒温中培养，3~5 天后取出。

#### D2 保藏

菌种保藏方法有多种，常用的是斜面菌种保藏法。

霉菌一般保藏在土豆琼脂斜面或察氏琼脂斜面。通常存放于  $20\text{°C} \sim 40\text{°C}$  的冰箱或冰库中，用此法可保存 3 个月，即 3 个月以后必须重新移植一次。