

ICS 83.060  
G 40  
备案号:36868—2012

HG

# 中华人民共和国化工行业标准

HG/T 4301—2012

---

## 橡胶防霉性能测试方法

Test method for determining resistance of rubber to fungi

2012-05-24 发布

2012-11-01 实施

---

中华人民共和国工业和信息化部 发布



## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准使用重新起草法参考 ASTM G21—2009《合成聚合物材料防霉性能测定方法》(英文版)编制,与 ASTM G21—2009 的一致性程度为非等效。

本标准由中国石油和化学工业联合会提出。

本标准由全国橡胶与橡胶制品标准化技术委员会通用试验方法分技术委员会(SAC/TC35/SC2)归口。

本标准起草单位:广东省微生物研究所、北京橡胶工业研究设计院、广州合成材料研究院有限公司。

本标准主要起草人:谢小保、欧阳友生、谢君芳、丁晓英、谢宇芳、陈仪本。

本标准为首次发布。



## 橡胶防霉性能测试方法

**警告:**使用本标准的人员应有正规实验室工作的实践经验,本标准并未指出所有可能的安全问题,使用者有责任采取适当的安全和健康措施,并保证符合国家有关法规规定的条件。

**注意事项:**本标准的某些步骤中生成的物质和废料可能对当地的环境有所损害。应制定使用后安全处理的有关文件。

### 1 范围

本标准规定了橡胶材料及其制品的防霉性能试验和评价方法。本标准不涉及防霉产品安全性的评价。

本标准适用于橡胶材料及其制品。其他高分子材料及其制品也可参照执行。

### 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/T 2941 橡胶物理试验方法试样制备和调节通用程序(ISO 23529)

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(ISO 3696)

YY 0569—2005 生物安全柜

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

#### 3.1

##### 霉菌 moulds

丝状真菌的俗称,通常指菌丝体较发达又不产生肉质子实体结构的真菌。霉菌的菌体由菌丝构成,菌丝可无限伸长和产生分枝,分枝的菌丝相互交织在一起形成絮状、绒毛状和网状的肉眼可见的培养物。

#### 3.2

##### 防霉性能 anti-mould activity

产品具有抑制霉菌孢子萌发及菌丝体生长的能力。

### 4 用途和意义

**4.1** 橡胶材料及其制品中的聚合物成分不具有霉菌生长所需的碳源,对霉菌生长有抑制作用。而橡胶中的其他成分如硫化促进剂、补强填充剂等是造成霉菌侵染的主要原因。在材料最易遭受霉菌侵染的环境下(温度 2℃~38℃和相对湿度 60%~100%),验证其抵抗霉菌侵染的能力是很重要的。

**4.2** 橡胶材料及其制品受霉菌侵染后,可观察到橡胶材料及其制品表面被腐蚀、褪色和其他相关性能下降等现象。

**4.3** 经过水淋、自然老化和热处理等条件作用后,样品的防霉性能会受到影响,本标准不包括产品受这些作用影响后的防霉性能测试。

### 5 仪器设备

#### 5.1 恒温恒湿培养箱

温度能保持在  $29\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度能保持在 85 % 或以上。

#### 5.2 高压蒸汽灭菌锅

温度能保持在  $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 压力能保持在  $103\text{ kPa} \pm 5\text{ kPa}$ 。

#### 5.3 干热灭菌箱

温度能保持在  $160\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

#### 5.4 天平

精度  $0.0001\text{ g}$ 。

#### 5.5 pH 计

精度 0.1。

#### 5.6 离心机

转速能达到  $4000\text{ r/min}$ 。

#### 5.7 生物安全柜

应为符合 YY 0569—2005 规定的 II 级生物安全柜。

#### 5.8 显微镜

普通光学显微镜。

#### 5.9 冰箱

温度能保持在  $3\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

#### 5.10 喷雾器

30 mL 显色喷雾器。

#### 5.11 量筒

容量为  $1\text{ }000\text{ mL}$ 。

#### 5.12 培养器皿

宜采用玻璃或塑料培养皿盛放样品。根据样品的尺寸, 可选择以下器皿:

- a) 直径小于  $75\text{ mm}$  的样品, 用  $100\text{ mm} \times 100\text{ mm}$  的塑料盒或者直径为  $150\text{ mm}$  的有盖培养皿。
- b) 直径为  $75\text{ mm}$  及以上的样品, 可用尺寸为  $400\text{ mm} \times 500\text{ mm}$  的玻璃器皿。

### 6 试剂和材料

#### 6.1 试剂纯度

除另有规定, 所有试验均使用化学纯或化学纯级别以上的试剂。

#### 6.2 水

所用的水应为符合 GB/T 6682 规定的三级水。

#### 6.3 营养盐培养基(供培养样品使用)

##### 6.3.1 组分

磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.7 g
七水硫酸镁( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.7 g
硝酸铵( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )	1.0 g
氯化钠( $\text{NaCl}$ )	0.005 g
七水硫酸亚铁( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.002 g
七水硫酸锌( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.002 g
一水硫酸锰( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )	0.001 g
磷酸氢二钾( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	0.7 g
琼脂	15.0 g

水

1 000 mL

## 6.3.2 制法

将 6.3.1 组分加热溶解,用 0.01 mol/L NaOH 溶液调 pH 达到 6.0~6.5,分装,121 °C 高压灭菌 20 min。

## 6.4 营养盐溶液(稀释孢子液用)

除不加琼脂外营养盐溶液与 6.3.1 的其他组分相同,加热溶解,用 0.01 mol/L NaOH 溶液调 pH 达到 6.0~6.5,分装,121 °C 高压灭菌 20 min。

## 6.5 马铃薯-葡萄糖培养基(培养霉菌用)

## 6.5.1 组分

马铃薯	200 g
葡萄糖	20 g
琼脂	20 g
水	1 000 mL

## 6.5.2 制法

取新鲜的马铃薯,去皮切片,在水中煮沸 20 min 后过滤,取汁,按 6.5.1 要求加入其余组分,加热溶化,定容至 1 000 mL 后进行试管分装,经 121 °C 高压灭菌 20 min 后,趁热取出试管并倾斜摆放,自然凝固成斜面后备用。

## 6.6 混合霉菌孢子悬浮液

## 6.6.1 试验菌种

试验所用霉菌菌种见表 1,试验菌种应由国家级微生物菌种保藏中心提供。根据橡胶的特定用途或试验特殊需要,还可增选其他霉菌菌种。

表 1 防霉试验菌种

序号	中文名称	拉丁名	菌株号
1	黑曲霉	<i>Aspergillus niger</i>	CGMCC 3.5487 或 ATCC 9642
2	绳状青霉	<i>Penicillium funiculosum</i>	CGMCC 3.3875 或 ATCC 11797
3	球毛壳霉	<i>Chaetomium globosum</i>	CGMCC 3.3601 或 ATCC 6205
4	帚霉	<i>Gliocladium sp.</i>	CGMCC 3.3987 或 ATCC 9645
5	出芽短梗霉	<i>Aureobasidium pullulans</i>	CGMCC 3.837 或 ATCC 15233
注 1:CGMCC 为中国普通微生物菌种保藏管理中心。 注 2:ATCC 为美国典型微生物菌种保藏中心。			

6.6.2 分别接种各霉菌于马铃薯-葡萄糖培养基(6.5)上,于 28 °C~30 °C 培养箱中培养至斜面长满孢子,并置于 3 °C~10 °C 条件下保存,保存时间不宜超过 4 个月。

6.6.3 在无菌条件下,用接种环分别刮取按照 6.6.2 规定培养的各霉菌孢子,再次接种于马铃薯-葡萄糖培养基(6.5)上,于 28 °C~30 °C 的培养箱中培养 7 d~20 d,当培养基表面长满孢子时,向试管中加入 10 mL 无菌水或含有 0.05 g/L 的润湿剂(如琥珀辛酯磺酸钠)无菌水,用接种环在无菌操作条件下轻轻地刮取霉菌培养物表面的孢子,制成孢子悬浮液,备用。

6.6.4 将孢子悬浮液倒入 125 mL 带有塞子的无菌锥形瓶中,瓶内装有 45 mL 无菌水和 10 个~15 个直径 5 mm 的玻璃珠。用力振荡锥形瓶以打散孢子团并使孢子从子实体中释放出来。

6.6.5 将带有无菌玻璃棉的玻璃漏斗置于无菌锥形瓶上,把振荡后的孢子悬浮液倒入漏斗内过滤,以除去菌丝和培养基碎片。

6.6.6 无菌条件下用离心机以 4000 r/min 的速度离心已过滤的孢子悬浮液,去掉上清液,将孢子沉淀物用 50 mL 无菌水重新制作悬浮液并再离心。

6.6.7 用上述方法清洗孢子 3 次,将清洗离心之后的孢子沉淀物用营养盐溶液(6.4)稀释,用血细胞计数板测定孢子含量,使悬浮液中的孢子含量为  $1.0 \times 10^6$  cfu/mL $\sim 5.0 \times 10^6$  cfu/mL。也可采用平板培养计数法等其他计数方法测定孢子含量。

6.6.8 试验中用到的每种霉菌均重复以上操作,并等量混合,获得混合的孢子悬浮液。

6.6.9 每次试验都要准备新鲜的孢子悬浮液,或者将孢子悬浮液在 3℃ $\sim 10$ ℃ 保存不超过 4 d。

注:霉菌接种需在生物安全柜(5.7)中进行。

## 7 孢子活力检查

准备 3 片边长为 25 mm 大小的正方形滤纸,灭菌后,分别将滤纸平放在装有营养盐培养基(6.3)的平皿中,再用灭菌的喷雾器将混合霉菌孢子悬浮液(6.6)均匀喷洒于滤纸表面,使整个滤纸表面湿润,然后将已接种的平皿置于 28℃ $\sim 30$ ℃、相对湿度 $\geq 85\%$ 的恒温恒湿培养箱中培养 14 d。取出观察,在 3 片滤纸上均应有明显可见霉菌生长,如果没有霉菌生长,重新制备霉菌孢子液进行试验。

## 8 试验样品

8.1 按 GB/T 2941 中的规定,将样品制成 50 mm $\times$ 50 mm 的方形试样或直径为 50 mm 的圆形试样。选择合适的清洗方法进行清洁,烘干备用。

8.2 每个样品做 3 个平行试样,如果样品的正反面材质不同,试样的正反面都要进行试验。

## 9 试验步骤

### 9.1 接种

向灭菌后的平皿中倒入约 20 mL 营养盐培养基(6.3),当培养基凝固后,在无菌条件下将 3 个平行试样分别放置在 3 个平皿培养基表面中央。

用灭菌后的喷雾器向每个试样表面和培养基表面均匀喷洒 0.4 mL $\sim$ 0.6 mL 的混合霉菌孢子悬浮液(6.6),使整个试样表面和培养基表面湿润。

### 9.2 培养条件

#### 9.2.1 培养

盖好已接种试样的培养平皿,并置于温度 28℃ $\sim 30$ ℃、相对湿度 $\geq 85\%$ 的恒温恒湿培养箱中培养。

注:将培养平皿盖上盖子是为了保持所需要的湿度,大的器皿盖子可用胶带密封。

#### 9.2.2 培养时间

试验的培养时间为 28 d。当试样表面生长的霉菌达到 2 级或更高等级时,也可在少于 28 d 时终止试验。最终的报告应注明培养时间。

注:经委托检验方和检验方协商同意,也可以延长培养时间。

### 9.3 效果观察

试验结束,立即将试样从培养箱取出,观察试样表面霉菌生长情况。应先目视检查,1 级和 0 级时用显微镜进行复查,并在试验报告中注明显微镜的放大倍数。按表 2 评价样品的防霉等级。



表 2 样品上霉菌的生长情况及评价

长霉情况	防霉等级
不生长	0
痕量生长(长霉面积<10 %)	1
少量生长(长霉面积 $\geq$ 10 %,并<30 %)	2
中度生长(长霉面积 $\geq$ 30 %,并<60 %)	3
重度生长(长霉面积 $\geq$ 60 %)	4

## 10 试验报告

试验报告应包括以下内容:

- a) 本标准名称及编号;
  - b) 样品和试样的详细说明;
  - c) 菌种名称、编号;
  - d) 试验温湿度和培养时间;
  - e) 长霉情况和防霉等级(如用显微镜进行复查,还应注明显微镜的放大倍数);
  - f) 试验人员和日期;
  - g) 任何偏离本标准的情况。
-

中华人民共和国  
化工行业标准  
橡胶防霉性能测试方法

HG/T 4301—2012

出版发行:化学工业出版社

(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

化学工业出版社印刷厂

880mm×1230mm 1/16 印张 $\frac{1}{2}$  字数11千字

2012年10月北京第1版第1次印刷

书号:155025·1270

---

购书咨询:010-64518888

售后服务:010-64518899

网址:<http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

---

定价:10.00元

版权所有 违者必究