

## 前 言

使用档案防霉剂是进行档案保管与保护的重要措施之一,防霉剂的防霉效果直接影响档案保管的质量,因此有必要对防霉剂的防霉效果进行测定。

本标准对挥发性档案防霉剂防霉效果的测试材料、仪器设备、测试条件、测试方法、结果评定等内容进行了规定,用以检验挥发性档案防霉剂的防霉效果。

本标准的附录 A 是标准的附录。

本标准的附录 B、附录 C、附录 D 都是提示的附录。

本标准由上海市档案局提出。

本标准由国家档案局归口。

本标准起草单位:上海市档案局、上海市工业微生物研究所。

本标准主要起草人:何鸿根、马振瀛、朱建中、朱艳静、金洁慧、詹美。

## 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(15 mm×150 mm)
- 2.1.8 培养皿(90 mm)
- 2.1.9 移液管(吸管)(1 mL)
- 2.1.10 三角烧瓶(250 mL、500 mL)
- 2.1.11 烧杯(250 mL、500 mL、1 000 mL)
- 2.1.12 量筒(100 mL、500 mL、1 000 mL)
- 2.1.13 带盖的圆柱形玻璃器皿(容积约为 1200 mL)

### 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 20 mm×30 mm),胶片、录像带(尺寸大小为自然宽度×30 mm)。

### 3.7 药量

1 000 mL 体积中悬挂 1.0 g(即 1 000 mg)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 250 mL 三角瓶中注入 100 mL 生理盐水,并放入几十粒玻璃珠,灭菌(参见附录 B)。在 250 mL 三角瓶中注入 200 mL 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 3 min~5 min,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 200 mL 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 1 000 mL)。

4.4.3 将 1.0 g 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。

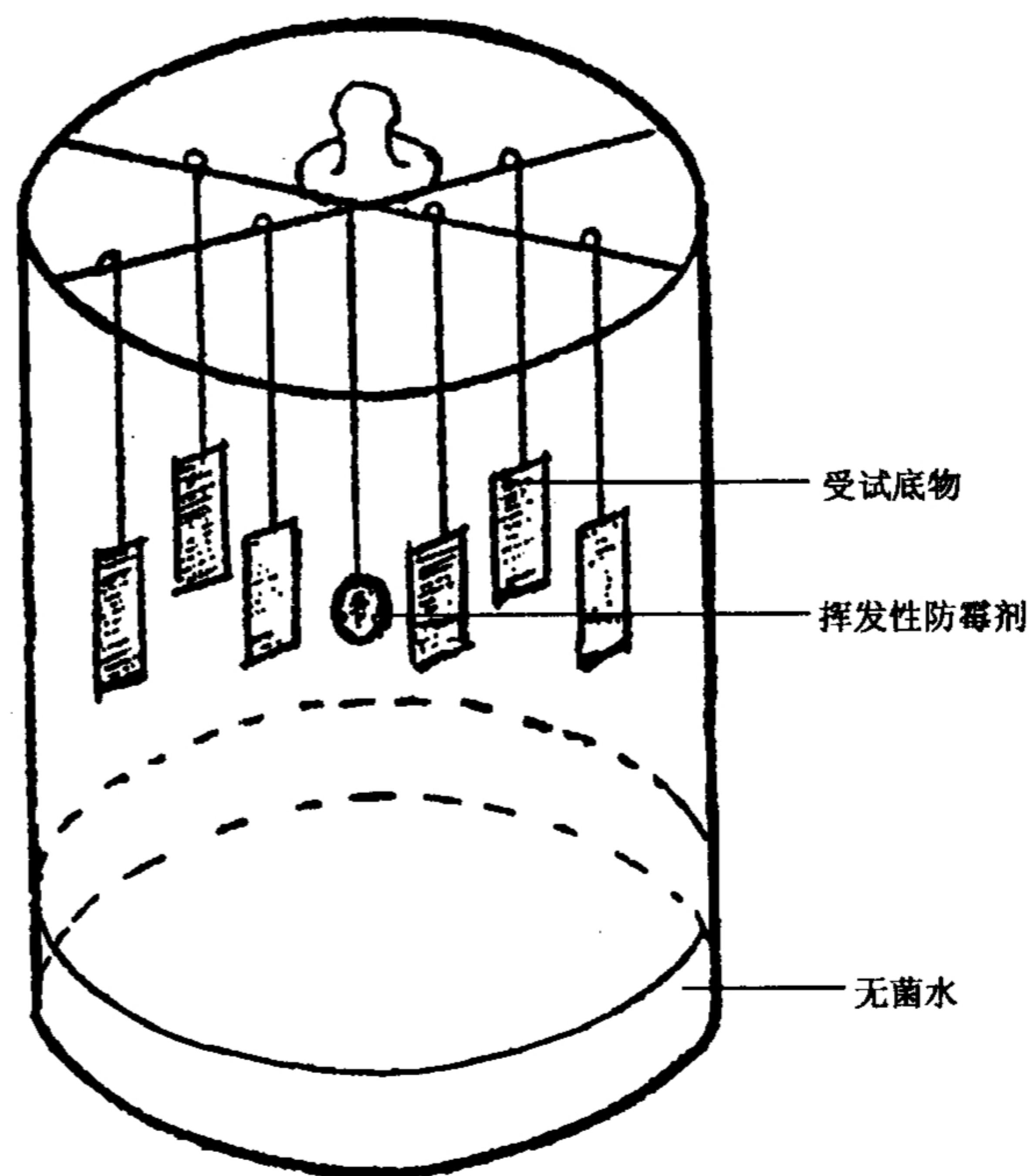


图 1

## 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。其配制步骤为:

## a) 物料称量

明确培养基的组成成分,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入烧杯内调匀,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 1 mol/L(1 N) NaOH,1 mol/L(1 N) HCl 或 0.5 mol/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 15 mL~20 mL,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 kg/cm<sup>2</sup> 压力下消毒 30 min 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)200 g、水 1 000 mL、琼脂 20 g、pH 5.0

将土豆洗净去皮,称取 200 g,切成小块,加 1 000 mL 水煮沸 1 h,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 900 mL,重铬酸钾(粗制)100g,自来水 100 mL。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  $1 \text{ kg/cm}^2$  压力下消毒 45 min 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  $150^\circ\text{C} \sim 170^\circ\text{C}$ ,约保持 1 h~2 h。

## 附录 C

(提示的附录)

## 活菌计数

## C1 步骤

a) 用灭菌吸管吸取 1 mL 霉菌孢子悬浮液注入到 9 mL 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 1 mL 1:10 的霉菌孢子稀释液注入到另一支 9 mL 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 1:1 000、1:10 000、1:100 000、1:1 000 000、1:10 000 000 等稀释菌液(每次稀释应更换一支灭菌吸管)。



d) 用灭菌吸管吸取上述稀释液各 1 mL 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℃ 左右的霉菌琼脂培养基放入各培养皿内(每皿约 15 mL~20 mL), 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℃±2℃ 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:

$$X = (S/N) \cdot M \text{ (个/mL)}$$

式中:  $X$ ——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:

1:10 000 000 (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:

$$X = [(6+10+7+9+8)/5] \times 10\,000\,000 = 80\,000\,000 \text{ 个/mL, 即 } 8 \times 10^7 \text{ 个/mL}$$

## 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。具体步骤是:

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℃±2℃ 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 2℃~4℃ 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。