

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

**TCVN 11108:2015
ISO 17094:2014**

**GÓM MỊM (GÓM CAO CẤP, GÓM KỸ THUẬT CAO CẤP) -
PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN
CỦA VẬT LIỆU BÁN DẪN XÚC TÁC QUANG TRONG
MÔI TRƯỜNG ÁNH SÁNG TRONG PHÒNG**

Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) - Test method for antibacterial activity of semiconducting photocatalytic materials under indoor lighting environment

HÀ NỘI - 2015

Lời nói đầu

TCVN 11108:2015 hoàn toàn tương đương với ISO 17094:2014.

TCVN 11108:2015 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC206 *Gốm cao cấp* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Lời giới thiệu

Phương pháp thử đối với vải hoặc vải dệt không được đề cập trong tiêu chuẩn này vì không có vải hoặc vải dệt có xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng. Nếu vải hoặc vải dệt có xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng được phát triển, thì phương pháp thử phù hợp sẽ được xây dựng với phương pháp kết dính thủy tinh đã đưa ra trong TCVN 8555 (ISO 27447).

Gốm mịn (gốm cao cấp, gốm kỹ thuật cao cấp) - Phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn của vật liệu bán dẫn xúc tác quang trong môi trường ánh sáng trong phòng

*Fine coramics (advanced ceramics, advanced technical coramics) - Test method for
antibacterial activity of semiconducting photocatalytic materials under indoor lighting
environment*

CẢNH BÁO – Xử lý và thao tác các vi sinh vật có tiềm năng độc hại yêu cầu có khả năng kỹ thuật ở
trình độ cao. Chỉ những người được đào tạo về kỹ thuật vi sinh mới được thực hiện thử nghiệm.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hoạt tính kháng khuẩn của vật liệu có chứa
vật liệu xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng hoặc có màng xúc tác quang hoạt tính với
ánh sáng trong phòng trên bề mặt bằng cách đo vi khuẩn còn sống sót sau khi chiếu sáng bằng
ánh sáng trong phòng.

Tiêu chuẩn này áp dụng cho nhiều loại vật liệu xúc tác quang bán dẫn hoạt tính với ánh sáng trong
phòng khác nhau được sử dụng làm vật liệu xây dựng, tấm phẳng, vách ngăn, dạng tấm hoặc sợi là
cơ sở tạo thành vật liệu cho các ứng dụng khác nhau. Tiêu chuẩn này không áp dụng cho các loại
vật liệu xúc tác quang bán dẫn hoạt tính với ánh sáng dạng bột, hạt hoặc dạng xốp, cũng không áp dụng
đối với vải hoặc sợi dệt.

Tiêu chuẩn này áp dụng đối với các loại vật liệu xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng
được sản xuất cho ứng dụng kháng khuẩn. Các loại tính năng khác của các loại vật liệu xúc tác quang
hoạt tính với ánh sáng trong phòng, như phân hủy các chất nhiễm bẩn nước, tự làm sạch,
chống mờ và làm sạch không khí không thể xác định bằng phương pháp này.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau đây rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu
viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm
công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 7870-1:2010 (ISO 80000-1:2009), *Đại lượng và đơn vị - Phần 1: Tổng quan.*

TCVN 11108:2015

TCVN 8555 (ISO 27447), *Gốm mịn (gốm cao cấp, gốm kỹ thuật cao cấp) – Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn của vật liệu bán dẫn xúc tác quang.*

TCVN 11105 (ISO 14605), *Gốm mịn (gốm cao cấp, gốm kỹ thuật cao cấp) – Nguồn sáng để thử nghiệm vật liệu bán dẫn xúc tác quang được sử dụng trong môi trường ánh sáng trong nhà*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Tiêu chuẩn này áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau.

3.1

Chất xúc tác quang (photocatalyst)

Chất thực hiện nhiều chức năng dựa trên phản ứng oxy hóa và phản ứng khử dưới chiếu xạ tử ngoại (UV), gồm sự phân hủy và loại bỏ các chất nhiễm bẩn không khí và nước, khử mùi và hoạt tính kháng khuẩn, tự làm sạch và chống mờ.

3.2

Chất quang xúc tác ánh sáng với hoạt tính trong phòng (indoor light active photocatalyst)

Chất xúc tác quang hoạt động dưới chiếu sáng bằng ánh sáng nhân tạo được sử dụng cho mục đích chiếu sáng chung.

3.3

Môi trường ánh sáng trong phòng (indoor lighting environment)

Chiếu sáng bằng nguồn sáng nhân tạo được sử dụng cho mục đích chiếu sáng chung và không bao gồm ánh sáng mặt trời.

3.4

Vật liệu xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng (indoor light active photocatalytic material)

Vật liệu mà trong đó hoặc trên đó chất xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng được bổ sung bằng cách phủ, ngâm, trộn, v.v...

3.5

Kháng khuẩn (antibacterial)

Tình trạng ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn trên bề mặt của vật liệu hoặc vải bề mặt phẳng.

3.6

Hoạt tính kháng khuẩn vật liệu xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng (indoor light active photocatalyst antibacterial activity value)

Độ chênh lệch giữa các giá trị loga của tổng số vi khuẩn còn sống trên bề mặt phẳng đã được xử lý chất xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng và chưa được xử lý chất xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng sau khi chiếu xạ ánh sáng trong phòng.

CHÚ THÍCH: Giá trị này bao gồm sự giảm số lượng vi khuẩn không có chiếu xạ ánh sáng trong phòng.

3.7

Hoạt tính kháng khuẩn vật liệu xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng với chiếu xạ ánh sáng trong phòng (indoor light active photocatalyst antibacterial activity value with indoor lighting illumination)

Chênh lệch bằng số giữa các giá trị loga của tổng số vi khuẩn còn sống trên vật liệu được xử lý chất xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng sau khi chiếu ánh sáng trong phòng và vật liệu tương tự được giữ trong bóng tối.

4 Ký hiệu

- A là số lượng trung bình của vi khuẩn còn sống của mẫu chưa được xử lý, chỉ sau khi cấy ghép
- B_D là số lượng trung bình của vi khuẩn còn sống của mẫu chưa được xử lý, sau khi được giữ trong khu vực tối
- B_L là số lượng trung bình của vi khuẩn còn sống của mẫu chưa được xử lý, sau khi chiếu xạ ánh sáng trong phòng với cường độ L
- C_D là số lượng trung bình của vi khuẩn còn sống của mẫu đã được xử lý xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng, sau khi được giữ trong khu vực tối
- C_L là số lượng trung bình của vi khuẩn còn sống của mẫu đã được xử lý xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng, sau khi chiếu xạ ánh sáng trong phòng với cường độ L
- D_F là hệ số pha loãng
- L là cường độ chiếu xạ ánh sáng trong phòng
- L_{max} là giá trị logarit lớn nhất của vi khuẩn còn sống
- L_{mean} là giá trị logarit trung bình của vi khuẩn còn sống đối với 3 mẫu thử
- L_{min} là giá trị logarit nhỏ nhất của vi khuẩn còn sống
- N là số lượng vi khuẩn còn sống
- P là nồng độ vi khuẩn
- R_L là giá trị hoạt tính kháng khuẩn của chất xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng, sau khi chiếu xạ tại cường độ không đổi (L) trên vật liệu xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng
- ΔR là giá trị hoạt tính kháng khuẩn của xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng có chiếu xạ ánh sáng trong phòng
- V là thể tích của nước phân hủy casein đậu nành với lexithin và môi trường polysobat 80 để rửa
- Z là số lượng trung bình của khuẩn lạc trong hai đĩa Petri

5 Nguyên lý

Phương pháp này được sử dụng để thu được hoạt tính kháng khuẩn của vật liệu xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng bằng cách cho tiếp xúc mẫu thử với vi khuẩn, dưới điều kiện ánh sáng trong phòng. Phương pháp bao phủ tấm màng có sẵn đối với vật liệu tấm phẳng, vách ngăn, dạng tấm.

Mẫu thử được đặt nằm trong đĩa Petri và thể huyền phù vi khuẩn được chảy nhỏ giọt vào mẫu thử. Khi đó màng bao phủ được đặt lên trên thể huyền phù và kính giữ độ ẩm được đặt lên trên đĩa Petri. Đĩa Petri có chứa mẫu được phơi ra ngoài ánh sáng. Sau khi phơi, vi khuẩn thử nghiệm được rửa ra khỏi mẫu và màng bao phủ. Dung dịch rửa huyền phù này được đo bằng phương pháp đếm vi khuẩn còn sống.

6 Vật liệu

6.1 Chủng vi khuẩn và chuẩn bị thử nghiệm

6.1.1 Chủng vi khuẩn

Chủng vi khuẩn được sử dụng trong phép thử là giống hoặc tương đương với chủng vi khuẩn được mô tả trong Bảng 1 và được cung cấp theo thực thể đã được đăng ký ở Liên đoàn thế giới về bộ sưu tập chủng cây hoặc Hiệp hội Nhật bản về bộ sưu tập chủng cây.

Bảng 1 – Các chủng vi khuẩn được sử dụng trong thử nghiệm

Các loài vi khuẩn	Mã WDCM
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00195
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00196
CHÚ THÍCH: tham chiếu WDCM (Trung tâm dữ liệu thế giới về vi sinh vật) và trang mạng điện tử: http://www.wdcm.org/ .	

CHÚ THÍCH: Nếu cần thiết, thử nghiệm bổ sung với vi khuẩn khác có thể được phép thực hiện.

6.1.2 Chuẩn bị vi khuẩn

Các thao tác vô trùng sử dụng vi sinh vật có thể được tiến hành trong khoang an toàn. Nuôi cấy từng chủng trong môi trường cấy sinh học (môi trường thạch dinh dưỡng), ủ từ 16 h đến 24 h ở $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ và sau đó bảo quản trong tủ lạnh ở $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Lặp lại nuôi cấy phụ trong một tháng bằng cách lặp lại quy trình này. Số lượng tối đa của các vi khuẩn từ chủng gốc được truyền bởi sự thu gom vi khuẩn là 10. Vi khuẩn cấy không được sử dụng nếu tồn chứa sau một tháng.

CHÚ THÍCH 1: Trong trường hợp vi khuẩn được bảo quản ở nhiệt độ lạnh sâu, số lượng tối đa của các vi khuẩn từ chủng gốc được truyền bởi sự thu gom vi khuẩn là 10.

CHÚ THÍCH 2: Nếu cần, có thể cho phép các phép bổ sung với các vi khuẩn khác.

6.2 Hóa chất và cách dùng

6.2.1 Tổng quát

Có thể sử dụng môi trường bán sẵn có cùng thành phần được quy định dưới đây.

Thể tích của môi trường đã được chuẩn bị phải được điều chỉnh theo số mẫu thử.

6.2.2 Nước dinh dưỡng 1/500 (1/500 NB)

Đối với 100 mL nước tinh khiết, lấy 3,0 g dịch chiết thịt, 1,0 g pepton và 0,5 g natri clorua, cho vào bình và hòa tan thật kỹ. Khi hỗn hợp đã được hòa tan hoàn toàn, sử dụng dung dịch natri hydroxit hoặc axit clohydric để chỉnh pH về $(7,1 \pm 0,1)$ ở 25 °C. Lấy 2 mL môi trường này và pha loãng khoảng 500 lần bằng nước tinh khiết và đạt đến độ pH $(7,0 \pm 0,2)$ sử dụng dung dịch axit clohydric hoặc dung dịch natri hydroxit. Khử trùng trong nồi hấp tại $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong ít nhất 15 min. Sau khi chuẩn bị, nếu nước dinh dưỡng 1/500 không được sử dụng ngay, lưu giữ ở nhiệt độ 5 °C đến 10 °C. Không sử dụng nước dinh dưỡng đã pha chế quá một tháng.

6.2.3 Thạch dinh dưỡng

Đối với 1000 mL nước tinh khiết, lấy 0,3 g dịch chiết thịt, 5,0 g peptone, cho vào trong bình và hòa tan thật kỹ. Khi hỗn hợp đã được hòa tan hoàn toàn, sử dụng dung dịch natri hydroxit hoặc axit clohydric để đạt được độ pH $(6,8 \pm 0,2)$ tại 25 °C. Cho 15,0 g bột thạch vào môi trường này và gia nhiệt bình trong bồn cách thủy đang sôi để hòa tan hoàn toàn bột thạch. Đậy bằng nút cotton và khử trùng trong nồi hấp (xem 6.2.2). Sau khi chuẩn bị, nếu thạch dinh dưỡng không được sử dụng ngay, lưu giữ tại nhiệt độ 5 °C đến 10 °C. Không sử dụng thạch dinh dưỡng đã pha chế quá một tháng. Giữ nhiệt độ môi trường trong khoảng 45 °C và 48 °C khi trộn với huyền phù vi khuẩn.

6.2.4 Nước phân hủy đậu nành-cazein với lexithin và polysorbat 80 (SCDLP)

Đối với 1000 mL nước tinh khiết, lấy 17,0 g pepton cazein, 3,0 g pepton đậu nành, 5,0 g natri clorua, 2,5 g di-kali hydrophosphat, 2,5 g gluco và 1,0 g lexithin, cho hỗn hợp vào bình và hòa tan hỗn hợp. Thêm 7,0 g polyoxyetylen sorbitan monooleat và hòa tan nó. Sử dụng dung dịch natri hydroxit hoặc axit clohydric để chỉnh pH về $(7,0 \pm 0,2)$ ở 25 °C. Khử trùng trong nồi hấp (xem 6.2.2). Nếu cần, định lượng hỗn hợp trong ống thử, đậy bằng nút cotton và khử trùng trong nồi hấp (xem 6.2.2). Sau khi chuẩn bị, nếu SCDLP không được sử dụng ngay, bảo quản ở 5 °C đến 10 °C. Không sử dụng SCDLP đã pha chế quá một tháng.

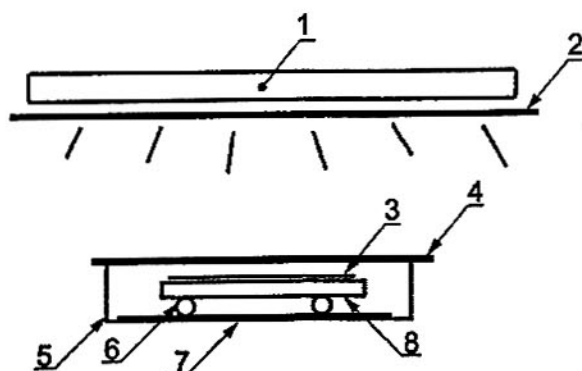
6.2.5 Dung dịch muối sinh lý

Đối với 1000 mL nước tinh khiết, lấy 8,5 g natri clorua, cho vào bình và hòa tan hoàn toàn. Khử trùng trong nồi hấp (xem 6.2.2). Nếu cần, định lượng trong ống thử và khử trùng trong nồi hấp (xem 6.2.2). Sau khi chuẩn bị, nếu dung dịch muối sinh lý không được sử dụng ngay thì bảo quản ở 5 °C đến 10 °C. Không sử dụng dung dịch muối sinh lý đã pha chế quá một tháng.

7 Thiết bị, dụng cụ

7.1 Tổng quát

Thiết bị, dụng cụ thử nghiệm cho phép xác định hoạt tính kháng khuẩn của vật liệu xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng khi cho chiếu xạ ánh sáng trong phòng để kích hoạt chất xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng. Thiết bị bao gồm nguồn sáng và khoang chứa mẫu thử. Ví dụ về hệ thống thử nghiệm chỉ ra trong Hình 1.



CHÚ DẪN

- | | |
|---|----------------------------------|
| 1 | nguồn sáng |
| 2 | bộ lọc ngưỡng UV |
| 3 | màng bao phủ |
| 4 | tấm kính giữ ẩm |
| 5 | đĩa Petri |
| 6 | ống thủy tinh hoặc đĩa thủy tinh |
| 7 | giấy lọc |
| 8 | mẫu thử |

Hình 1 – Sơ đồ thiết bị thử nghiệm

7.2 Màng bao phủ

Màng bao phủ phải trơn, không hấp thụ nước và có tính chất kết dính tốt, có mức độ truyền quang trên 85 % trong dải 380 nm đến 780 nm. Những tấm này được cắt thành hình vuông với kích thước (40 ± 2) mm $\times$ (40 ± 2) mm.

7.3 Tấm kính giữ ẩm

Kính giữ ẩm bao gồm tấm kính có chiều dày nhỏ hơn 1,1 mm, có mức độ truyền quang trên 85 % trong dải 380 nm đến 780 nm. Các tấm kính được cắt với kích thước đủ để che hoàn toàn đĩa Petri.

7.4 Ống thủy tinh hoặc đĩa thủy tinh

Ống thủy tinh hoặc đĩa thủy tinh được quy định trong TCVN 8555 (ISO 27447). Ống thủy tinh hoặc đĩa thủy tinh được chuẩn bị bằng cắt ống hoặc đĩa có chiều dài từ 10 cm đến 15 cm và uốn thành hình chữ U hoặc V.

7.5 Nguồn sáng

Nguồn sáng đối với điều kiện ánh sáng trong phòng được quy định trong TCVN 11105 (ISO 14605). Phải sử dụng nguồn sáng từ đèn huỳnh quang halophosphat có nhiệt độ màu tương quan trong khoảng 3800 K đến 4500 K.

Khi không có sẵn đèn huỳnh quang halophosphat, có thể sử dụng đèn huỳnh quang ba dải, có nhiệt độ màu tương quan trong khoảng 3800 K đến 4500 K và chỉ số hoàn màu (Ra) cao hơn 80.

7.6 Bộ lọc cắt UV

Bộ lọc cắt UV quy định trong TCVN 11105 (ISO 14605) phải được sử dụng theo điều kiện ngưỡng UV (điều kiện A hoặc điều kiện B). Bộ lọc cắt UV phải được gắn ngay dưới đèn.

Điều kiện A (theo điều kiện ngưỡng 400 nm)

Bộ lọc cắt UV loại A được quy định trong TCVN 11105 (ISO 14605).

Điều kiện B (theo điều kiện ngưỡng 380 nm)

Bộ lọc cắt UV loại B được quy định trong TCVN 11105 (ISO 14605).

7.7 Đồng hồ đo độ rọi

Đồng hồ đo độ rọi được quy định trong TCVN 11105 (ISO 14605).

8 Mẫu thử

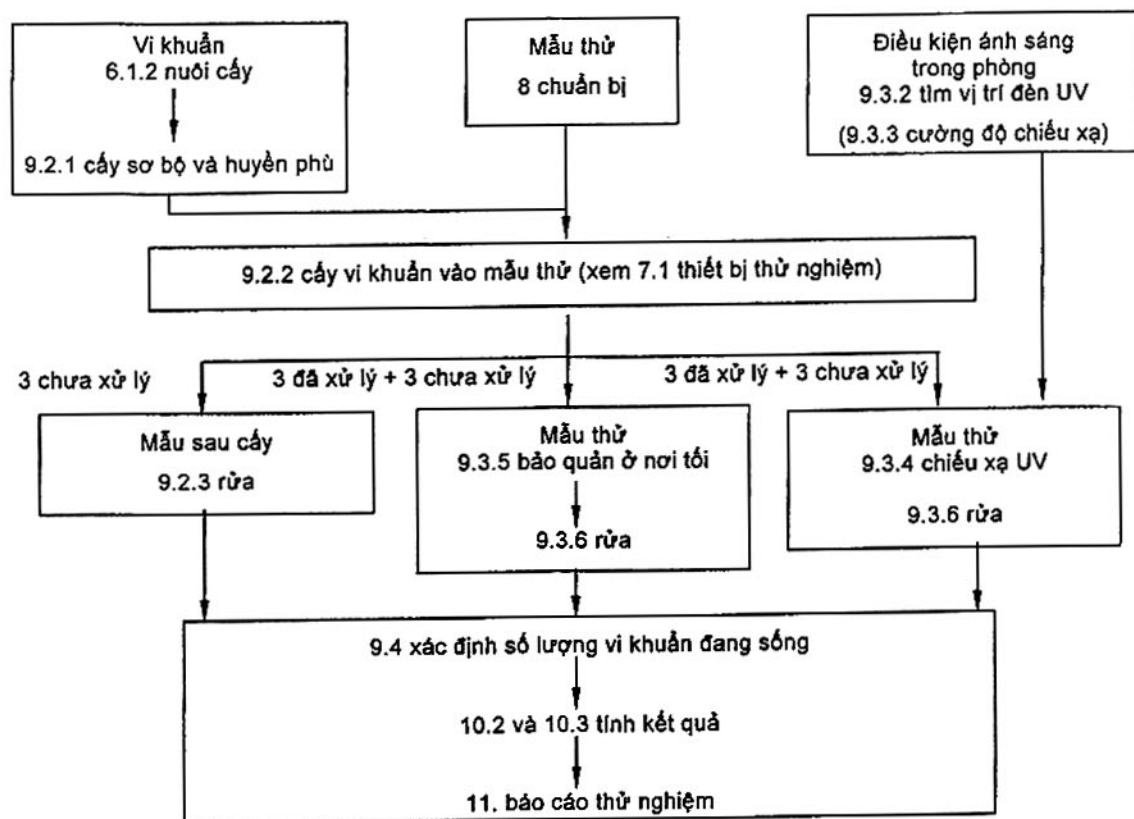
Cắt phần phẳng của vật liệu hình vuông kích thước (50 ± 2) mm $\times$ (50 ± 2) mm. Độ dày của vật liệu không lớn hơn 10 mm. Sử dụng vật liệu làm mẫu thử có hình dạng được tiêu chuẩn hóa. Chuẩn bị 9 miếng của mẫu không xử lý và 6 miếng của mẫu đã xử lý xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng. Nếu không thể có các mẫu không xử lý thì sử dụng các tấm kính thay thế. Cần thận trọng nhiễm vi sinh vật và lây nhiễm chéo các mẫu.

CHÚ THÍCH: Nếu khó hoặc không thể cắt hình vuông có chiều dài (50 ± 2) mm (chiều dày đến mm), có thể chấp nhận sử dụng kích cỡ mẫu khác miễn là bề mặt mẫu có thể che phủ màng có diện tích 400 mm² đến 1600 mm². Nếu bề mặt mẫu bị nhiễm tạp chất hữu cơ, có thể chấp nhận trước tiên loại bỏ chất nhiễm bẩn bằng cách phơi dưới nguồn sáng 1,0 mW/cm² trong thời gian 24 h. Nếu cần, mẫu có thể được tẩy trước khi thử (có nghĩa là bằng cách rửa với etanol hoặc 70 % etanol trong nước).

9 Cách tiến hành

9.1 Tổng quát

Biểu đồ phương pháp thử nghiệm được thể hiện trong Hình 2.



Hình 2 – Biểu đồ của phương pháp thử

9.2 Phương pháp màng bao phủ

9.2.1 Cho vi khuẩn đã được lưu giữ vào ống thạch dinh dưỡng sử dụng vòng bạch kim và ủ tại $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ trong thời gian 16 h đến 24 h. Cho vi khuẩn đã được ủ vào ống thạch dinh dưỡng mới và ủ tại $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ trong thời gian 16 h đến 20 h. Phân tán đồng đều một lượng nhỏ vi khuẩn thử nghiệm trong NB 1/500 bằng vòng bạch kim, và đo đếm vi khuẩn sử dụng phương pháp quan sát kính hiển vi quang học hoặc bất kỳ phương pháp thích hợp nào khác. Pha loãng thích hợp huyền phù vi khuẩn này với NB 1/500 để đạt được phép đếm $6,7 \times 10^5$ tế bào/mL đến $2,6 \times 10^6$ tế bào/mL và sử dụng kết quả là huyền phù vi khuẩn đối với thử nghiệm. Nếu huyền phù vi khuẩn thử nghiệm không được sử dụng ngay, lưu giữ tại nhiệt độ 0°C và sử dụng trong 4 h.

9.2.2 Đặt bộ giấy lọc kiểm soát hơi ẩm đã khử trùng trong đáy đĩa Petri đã được khử trùng, cho một lượng thích hợp nước đã khử trùng, để tránh tiếp xúc giữa mẫu thử và bộ lọc giấy đã được tẩm ướt, để que hoặc ống thủy tinh đã được uốn, như được mô tả trong 7.4, trên bộ lọc giấy và

đặt mẫu thử trên nó với bề mặt đã được xử lý quang xúc tác. Lấy 0,15 mL huyền phù vi khuẩn thử nghiệm bằng pipet đã khử trùng và cho vào trên mẫu thử. Đặt một miếng màng bao phủ trên phía trên huyền phù được nhỏ và đẩy nhẹ để huyền phù lan rộng ra toàn bộ bề mặt màng bao phủ, trong khi chú ý không để huyền phù rò rỉ ra cạnh màng bao phủ. Sau đó dùng kính giữ ẩm đĩa Petri. Lặp lại quy trình này đối với từng mẫu thử đã được xử lý quang xúc tác và chưa được xử lý quang xúc tác được sử dụng trong thử nghiệm (sáu mẫu thử đối với mẫu xử lý xúc tác quang và 9 miếng đối với mẫu chưa được xử lý xúc tác quang). Ngoại trừ ba mẫu thử chưa được xử lý đối với phép đếm tế bào có thể sống sót được thực hiện chỉ sau khi huyền phù vi khuẩn thử nghiệm được ủ, tiến hành với thử nghiệm chiếu sáng trong 9.3.

CHÚ THÍCH 1: Để ngăn kính giữ ẩm che mờ, cho 4 mL đến 6 mL nước đã khử trùng vào đĩa Petri (đường kính 90 mm).

CHÚ THÍCH 2: Số lượng huyền phù được điều hòa có thể tạo ra sự rò rỉ huyền phù từ cạnh tấm màng bao phủ hoặc có thể không đủ để làm huyền phù lan ra đồng đều. Trong trường hợp như vậy, có thể chấp nhận để giảm một nửa số lượng huyền phù hoặc tăng gấp đôi số lượng huyền phù. Tuy nhiên, thậm chí khi số lượng huyền phù vi khuẩn để ủ đã bị thay đổi, phép đếm trên mẫu thử phải như mẫu thử cơ tiêu chuẩn, có $1,0 \times 10^5$ tế bào đến $4,0 \times 10^5$ tế bào. Số lượng huyền phù vi khuẩn thử nghiệm để ủ trong trường hợp mẫu thử có cơ không tiêu chuẩn (mẫu thử có cơ khác nhau, khác với cơ được mô tả trong Điều 8) phải tương ứng với diện tích màng bao phủ được sử dụng.

9.2.3 Đối với ba mẫu thử được ủ huyền phù vi khuẩn chưa qua xử lý dùng để thử nghiệm (mẫu thử sau khi ủ của vi khuẩn thử nghiệm), đặt màng bao phủ và mẫu thử chưa được xử lý trong túi Stomacher sử dụng kẹp đã được khử trùng, chú ý tránh làm rò rỉ huyền phù vi khuẩn từ màng bao phủ và mẫu thử chưa được xử lý. Cho 10 mL SCDLP, chà xát kỹ mẫu thử và màng bao phủ từ bên ngoài túi Stomacher bằng tay và làm sạch vi khuẩn thử nghiệm. Nhanh chóng mang dung dịch rửa này để thực hiện phép đo số tế bào sống sót.

9.3 Điều kiện ánh sáng trong phòng

9.3.1 Phụ thuộc vào điều kiện thực tế mà vật liệu quang xúc tác hoạt tính ánh sáng trong phòng được sử dụng, chọn điều kiện ngưỡng UV từ hai điều kiện được đề cập trong 7.6.

Duy trì nhiệt độ xung quanh mẫu thử tại nhiệt độ $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong suốt thời gian trong 9.3.4 và 9.3.5.

9.3.2 Đặt đồng hồ đo độ rọi trên để thiết bị chiếu sáng. Đặt màng bao phủ và đĩa thủy tinh được sử dụng cho thử nghiệm trên phía trên của bộ phận cảm ứng.

9.3.3 Điều chỉnh cường độ đèn để đạt được chiếu sáng $1000\text{ lx} \pm 50\text{ lx}$ tại bề mặt của mẫu thử.

CHÚ THÍCH: Độ chiếu sáng này có thể được thay đổi trong khoảng $100\text{ lx} \pm 5\text{ lx}$ và $3000\text{ lx} \pm 150\text{ lx}$ có tính đến điều kiện thực tế mà vật liệu quang xúc tác hoạt tính ánh sáng trong phòng được sử dụng hiệu quả.

9.3.4 Phơi sáng các đĩa Petri có chứa mẫu thử (ba mẫu thử chưa được xử lý và ba mẫu thử đã được xử lý xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng) bằng huyền phù vi khuẩn trong 8 h.

CHÚ THÍCH: Thời gian phơi nhiễm có thể thay đổi trong khoảng từ 4 h và 24 h có tính đến điều kiện thực tế mà vật liệu quang xúc tác hoạt tính ánh sáng trong phòng được sử dụng hiệu quả.

9.3.5 Giữ đĩa Petri có chứa mẫu thử (ba mẫu thử chưa được xử lý và ba mẫu thử đã được xử lý xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng) bằng huyền phù vi khuẩn, trong nơi tối trong khoảng thời gian như được sử dụng trong 9.3.4.

9.3.6 Đối với mẫu thử 9.3.4 và 9.3.5 thực hiện việc rửa theo cùng cách như trong 9.2.3.

9.4 Phép đo số vi khuẩn còn sống

1) Lấy 1 mL dung dịch rửa (xem 9.2.3) bằng pipet đã khử trùng. Cho $(9 \pm 0,1)$ mL dung dịch muối sinh lý vào trong ống thử nghiệm và lắc mạnh.

2) Lấy 1 mL dung dịch [xem 1)] bằng pipet mới đã khử trùng. Cho ống thử nghiệm khác có chứa $(9 \pm 0,1)$ mL dung dịch muối sinh lý và lắc mạnh.

Quá trình này được lặp lại để đạt được một loạt dung dịch pha loãng, theo phương pháp pha loãng gấp 10 lần.

3) Lấy 1 mL dung dịch từ các ống của từng dãy [xem 9.2.3 và 1) và 2)] bằng pipet mới đã được khử trùng và cho 1 mL dung dịch vào hai đĩa Petri.

4) Cho 15 mL đến 20 mL thạch dinh dưỡng được giữ tại nhiệt độ 45°C đến 48°C trong từng đĩa Petri [xem 3)]. Để yên trong 15 min tại nhiệt độ phòng.

5) Úp ngược các đĩa Petri xuống, khi môi trường thạch đông chắc. Ủ trong khoảng thời gian từ 40 h đến 48 h tại nhiệt độ $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$.

6) Đếm số lượng khuẩn lạc trong loạt đĩa Petri có từ 30 khuẩn lạc đến 300 khuẩn lạc.

Nồng độ của vi khuẩn của chất lỏng rửa đạt được bằng công thức (1) với hai con số có nghĩa.

$$P = Z \times D_F \quad (1)$$

trong đó

P là nồng độ của vi khuẩn (tế bào/mL);

Z là số trung bình các cụm trong hai đĩa cấy vi khuẩn;

D_F là hệ số pha loãng.

Khi số lượng vi khuẩn còn sống sót ít hơn 30 trong các đĩa Petri có 1 mL dung dịch rửa, số lượng tế bào này được sử dụng để tính số lượng trung bình. Khi số lượng vi khuẩn sống sót ít hơn một trong đĩa Petri có 1 mL dung dịch rửa, số lượng trung bình được lấy là 1.

10 Tính kết quả

10.1 Tổng quát

Kết quả thử nghiệm được tính như sau. Các giá trị tính được luôn luôn được làm tròn đến dấu thập phân thứ hai theo TCVN 7870-1 (ISO 80000-1).

10.2 Công nhận hoàn thành yêu cầu thử nghiệm

Sử dụng nồng độ vi khuẩn nhận được trong 9.4 và áp dụng công thức (2) để tính số lượng vi khuẩn còn sống.

$$N = P \times V \quad (2)$$

trong đó

- N là số lượng tế bào của vi khuẩn còn sống;
- P là nồng độ vi khuẩn nhận được trong 9.4 (tế bào/mL);
- V là thể tích của môi trường SCDLP để rửa (mL).

Phép thử được coi là có giá trị nếu hoàn thành tất cả 4 hạng mục sau. Nếu một hoặc nhiều hơn các hạng mục này không được hoàn thành, phép thử được coi là không có giá trị và phải tiến hành làm lại.

- 1) Giá trị logarit của số lượng vi khuẩn còn sống chưa được xử lý sau khi nuôi cấy được lấy từ công thức (3)

$$(L_{\max} - L_{\min}) / (L_{\text{mean}}) \leq 0,2 \quad (3)$$

trong đó

- $L_{\max}$ là giá trị logarit lớn nhất của vi khuẩn còn sống;
- $L_{\min}$ là giá trị logarit nhỏ nhất của vi khuẩn còn sống;
- L_{mean} là giá trị logarit trung bình của vi khuẩn còn sống đối với 3 mẫu.

- 2) Giá trị logarit của vi khuẩn còn sống của các mẫu chưa được xử lý sau khi nuôi cấy phải nằm trong dải từ $1,0 \times 10^5$ đến $4,0 \times 10^5$ tế bào.
- 3) Vi khuẩn còn sống của các mẫu chưa được xử lý sau khi phơi ngoài ánh sáng phải nhiều hơn $1,0 \times 10^3$ tế bào đối với tất cả 3 mẫu. Tuy nhiên, nếu sử dụng tấm kính làm mẫu chưa được xử lý thì số lượng vi khuẩn còn sống sau khi phơi ngoài ánh sáng phải nhiều hơn $1,0 \times 10^4$ tế bào.
- 4) Sau khi được giữ ở nơi tối, vi khuẩn còn sống của các mẫu chưa được xử lý phải nhiều hơn $1,0 \times 10^3$ tế bào đối với tất cả 3 mẫu. Tuy nhiên, nếu sử dụng tấm kính làm mẫu chưa được xử lý thì số lượng vi khuẩn còn sống sau khi phơi ngoài ánh sáng phải nhiều hơn $1,0 \times 10^4$ tế bào.

10.3 Tính giá trị hoạt tính kháng khuẩn của chất xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng

Sử dụng công thức (4) và (5) để tính giá trị hoạt tính kháng khuẩn của chất xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng sau khi phép thử được hoàn thành.

Bỏ dấu thập phân thứ hai và biểu thị giá trị với một dấu thập phân.

$$R_L = [\log_{10}(B_L / A) - \log_{10}(C_L / A)] = \log_{10}[B_L / C_L] \quad (4)$$

trong đó

- R_L là giá trị hoạt tính kháng khuẩn của chất xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng, sau khi chiếu xạ UV với cường độ L ;
- L là cường độ chiếu xạ ánh sáng trong phòng (lx);
- A là số lượng trung bình của vi khuẩn còn sống của các mẫu chưa được xử lý, chỉ sau khi nuôi cấy;
- B_L là số lượng trung bình của vi khuẩn còn sống của các mẫu chưa được xử lý, sau khi chiếu xạ ánh sáng trong phòng với cường độ L ;
- C_L là số lượng trung bình của vi khuẩn còn sống của các mẫu đã xử lý xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng, sau khi chiếu xạ ánh sáng trong phòng với cường độ L .

$$\Delta R = \log_{10}[B_L / C_L] - [\log_{10}(B_D / A) - \log_{10}(C_D / A)] = \log_{10}[B_L / C_L] - \log_{10}[B_D / C_D] \quad (5)$$

trong đó

- ΔR là giá trị hoạt tính kháng khuẩn của chất xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng với chiếu xạ ánh sáng trong phòng;
- B_D là số lượng trung bình của vi khuẩn còn sống của các mẫu chưa được xử lý, sau khi được giữ ở nơi tối;
- C_D là số lượng trung bình của vi khuẩn còn sống của các mẫu đã xử lý xúc tác quang hoạt tính với ánh sáng trong phòng, sau khi được giữ ở nơi tối.

11 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm các thông tin sau:

- a) Viện dẫn tiêu chuẩn này [TCVN 11108 (ISO 17094)];
- b) Mô tả loại, kích cỡ, hình dạng và độ dày của chất xúc tác quang hoạt tính ánh sáng trong phòng và các mẫu thử chưa được xử lý;

- c) Mô tả các điều kiện trước khi áp dụng việc phơi ánh sáng;
 - d) Loại vi khuẩn thử nghiệm và số chủng vi khuẩn;
 - e) Nhà sản xuất đèn huỳnh quang UV và số sản phẩm;
 - f) Loại bộ lọc ngưỡng UV (nhà sản xuất, số sản phẩm);
 - g) Nhà sản xuất đồng hồ đo chiếu xạ và số sản phẩm;
 - h) Các điều kiện ánh sáng bao gồm cường độ chiếu xạ và thời gian phơi ngoài ánh sáng;
 - i) Loại và kích cỡ màng bao phủ và kính giữ ẩm;
 - j) số lượng huyền phù vi khuẩn thử nghiệm được nuôi cấy; số lượng vi khuẩn còn sống trong huyền phù thử nghiệm;
 - k) các giá trị A , B_L , C_L , R_L , B_D , C_D , ΔR trong 10.3;
-