

# 中华人民共和国国家标准

GB/T 39104.1—2020

---

## 纺织品 抗真菌性能的测定 第 1 部分：荧光法

Textiles—Determination of antifungal activity of textile products—  
Part 1: Luminescence method

(ISO 13629-1:2012, MOD)

2020-10-21 发布

2021-05-01 实施

国家市场监督管理总局 发布  
国家标准化管理委员会



## 前 言

GB/T 39104《纺织品 抗真菌性能的测定》分为两个部分：

——第1部分：荧光法；

——第2部分：平皿计数法。

本部分为 GB/T 39104 的第1部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分使用重新起草法修改采用 ISO 13629-1:2012《纺织品 抗真菌性能的测定 第1部分：荧光法》。

本部分与 ISO 13629-1:2012 相比在结构上调整如下：

——将 ISO 13629-1:2012 的 8.5 内的悬置段内容调整为 8.5.1,其后条号顺延；

——将 ISO 13629-1:2012 第 10 章内的悬置段内容调整为 10.1,其后条号顺延；

——调整了 ISO 13629-1:2012 中 12.1.2.2 的结构,将列项 d)调整为 12.1.2.1“样品洗涤”,其后条号顺延,将列项 e)调整为 12.1.2.4“试样灭菌”。

本部分与 ISO 13629-1:2012 的主要技术性差异如下：

——关于规范性引用文件,本部分做了具有技术性差异的调整,以适应我国的技术条件,调整的情况集中反映在第 2 章“规范性引用文件”中,具体调整如下：

- 删除了 ISO 105-F02；
- 增加引用了 GB/T 20944.2—2007(见第 2 章)；

——明确了 ISO 13629-1:2012 的 8.5.1 中 SDB 培养基配方纯水用量为最终定容至 1 000 mL；

——补充了 10.7 中孢子悬液的冷藏温度条件；

——补充了 12.1.3.1 中必要时对样品进行灭菌的规定；

——将 ISO 13629-1:2012 的 12.1.2.2 d)和 12.1.3.1 中“必要时,可按 ISO 6330 或其他适当方法洗涤试样”修改为“必要时,按 GB/T 20944.2—2007 的 10.1 方法洗涤试样”；

——补充了 14.3 抗真菌效果评价；

——附录 A 中增加了国内保藏机构对应真菌菌株的保藏号。

本部分还做了下列编辑性修改：

——将 3.1 的英文由“control specimen”修改为“control fabric”,与国内外其他抗菌标准保持一致；

——将 7.18 中离心机的离心加速度表述形式由“2 000 g”调整为“2 000×g”；

——明确了 7.5 中生物安全柜的等级；

——明确了 7.20 中血球计数板的计数单位为“CFU/mL”；

——将 8.4.2 中腺嘌呤核苷-5'-三磷酸酯二钠盐三水合物的分子式调整为“ $C_{10}H_{14}N_5Na_2O_{13}P_3 \cdot 3H_2O$ ”；

——明确了第 10 章、12.1.2.3 中孢子数量单位为“CFU/mL”；

——对 10.7 中的注进行了修改。

本部分由中国纺织工业联合会提出。

本部分由全国纺织品标准化技术委员会(SAC/TC 209)归口。

本部分起草单位：中纺标检验认证股份有限公司、河南平心台健康科技有限公司、中山海关技术中心、广东省微生物分析检测中心、浙江安吉华逸化纤有限公司、浙江汇隆新材料股份有限公司、北京洁尔爽高科技有限公司、深圳市贝格曼纺织品有限公司、百事基材料(青岛)股份有限公司、联润翔(青岛)纺

织科技有限公司、奥谱天成(厦门)光电有限公司、上海爱丽纺织技术检验有限公司、晋江中纺标检测有限公司。

本部分主要起草人:吕静、谢小保、王京力、商成杰、刘亚和、魏婷、姚玲、徐雪峰、张井东、黄效华、吴大伟、梅志生、刘鸿飞、李亚。



## 引 言

由抗菌整理纺织品制成的特殊产品在各领域中的应用逐年增加,而且这些纺织品无疑有助于防止纺织材料变质,并改善环境和生活质量。

基于以上因素,ISO/TC 38/WG 23 在 2007 年制定了 ISO 20743,并继续开展纺织产品抗真菌性能测试方法系列国际标准的研究。

本部分采用 ATP 荧光法作为抗真菌性能的定量分析方法。

荧光法的特点如下:

- 与菌落计数法相比误差极小;
- 消除了菌落形成的培养时间,缩短了试验时间;
- 简化了试验操作。

GB/T 39104 的其他部分为:

- 第 2 部分:平皿计数法。



# 纺织品 抗真菌性能的测定

## 第 1 部分：荧光法

### 1 范围

GB/T 39104 的本部分规定了通过检测酶反应[三磷酸腺苷(ATP)法]所产生的荧光强度测定纺织品抗真菌性能的定量试验方法。

本部分适用于各类纺织品,如纤维、纱线、织物、服饰、床上用品、家居装饰用品及其他纺织产品。

### 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 20944.2—2007 纺织品 抗菌性能的评价 第 2 部分:吸收法

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**对照样 control fabric**

用于验证试验真菌生长条件的织物。

注:对照样可采用与试样材质相同但未经过抗真菌整理的纺织品。如果无法获得上述试样,用不含荧光增白剂及未经整理的 100%棉织物作为对照样,使用前按 GB/T 8629 规定在 60 ℃、不添加任何洗涤剂或增白剂的条件  
下循环洗涤 10 次,每个循环洗涤 10 min,漂洗 2 次共 5 min。

#### 3.2

**抗真菌剂 antifungal agent**

抑制或减缓真菌生长或减少真菌数量的助剂。

#### 3.3

**抗真菌整理 antifungal treatment**

抑制或缓和真菌生长或降低真菌数量的整理。

#### 3.4

**孢子悬液 spore suspension**

在含阴离子表面活性剂的无菌水中均匀分散有真菌孢子的液体。

#### 3.5

**三磷酸腺苷 adenosine triphosphate; ATP**

活真菌中存在的一种多功能核苷酸。

#### 3.6

**抗真菌性 antifungal activity**

抑制或减缓真菌生长的性能,用对照样和试样中 ATP 的对数所表示的增长值之差来表征。

### 3.7

#### 荧光法 luminescence method

测定真菌细胞中 ATP 数量的方法。

注：结果用 ATP 的摩尔数来表示。

## 4 原理

将试样和对照样分别用试验真菌孢子悬液接种，并在 25 °C 条件下培养 42 h。通过比较试样与对照样上真菌细胞内 ATP 荧光强度的测定结果，对真菌增长值或抗真菌性能进行定量测定。

## 5 安全措施

本方法需要使用真菌，应由经过微生物学技术培训和具有经验的人员进行试验。应遵循国家有关的法规、条例以及与适当的安全预防措施相关的推荐性规范。

## 6 试验真菌

试验用真菌菌株应从附录 A 的表 A.1 中选取。

经有关方同意后可使用加入世界菌种保藏联合会(WFCC)的其他菌种保藏机构提供的等效真菌菌株代替。

真菌菌株保藏编号和来源应在报告中说明。

## 7 仪器设备

实验室常规器具及下列仪器。

- 7.1 纱布：生化试验用或玻璃棉(FR 规格)。
- 7.2 培养皿：内径约 90 mm 和 55 mm~60 mm。
- 7.3 干燥灭菌器：温度能保持在 160 °C~180 °C。
- 7.4 高压灭菌锅：温度能保持在(121±2)°C(压强相当于 103 kPa)。
- 7.5 二级生物安全柜：或其他等效设备。
- 7.6 铂接种环：环直径为 2 mm~4 mm。
- 7.7 L 型铂接种钩。
- 7.8 培养箱：温度能保持在 20 °C~37 °C，允差为±2 °C。
- 7.9 螺口玻璃瓶：容量为 30 mL，带有聚四氟乙烯或硅橡胶垫片和聚丙烯盖。
- 7.10 玻璃棒：直径为 5 mm~18 mm，质量为 1 g~50 g。
- 7.11 玻璃漏斗。
- 7.12 移液管：容量为 0.05 mL、0.1 mL、0.2 mL、1 mL、5 mL 和 10 mL，允差为 5.0%。
- 7.13 巴斯德吸管：用于微生物试验。
- 7.14 锥形瓶：容量为 100 mL~500 mL。
- 7.15 镊子。
- 7.16 塑料试管：用于光度计。
- 7.17 试管振荡器。
- 7.18 离心机：离心加速度约为  $2\,000\times g$ 。

- 7.19 离心管:用于离心分离。
- 7.20 血球计数板:能计测  $1 \times 10^6$  CFU/mL  $\sim 3 \times 10^6$  CFU/mL。
- 7.21 显微镜:放大倍数为 200 倍。
- 7.22 超声波清洗机:试验用紧凑型,频率约为 30 kHz $\sim$ 50 kHz。
- 7.23 光度计:测试波长为 300 nm $\sim$ 650 nm,在 8.4 和第 11 章规定的分析条件下能测定浓度为  $1 \times 10^{-8}$  mol/L $\sim 1 \times 10^{-5}$  mol/L 的 ATP。
- 7.24 pH 计:在 25 ℃时,精度为 $\pm 0.1$ 。
- 7.25 冰箱:温度能保持在 2 ℃ $\sim$ 10 ℃。
- 7.26 冷冻柜:一个可调节至 $-80$  ℃以下,另一个可调节至 $-20$  ℃以下。

试管、玻璃瓶、烧瓶、移液管以及镊子应用碱性或中性洗涤剂小心清洗、冲洗并干燥,并在使用前用干燥灭菌器或高压蒸汽灭菌器进行处理。

## 8 试剂和培养基

### 8.1 通用

试验所用试剂应是分析纯的和/或是适用于微生物试验用的。

宜使用现有商业化的脱水产品制备培养基,并严格按照相关产品制造商的使用说明进行操作。

### 8.2 纯水

用于制备微生物培养基和试剂的分析级纯水,用蒸馏、离子交换、超滤和/或反渗透(RO)装置过滤的方法制取,应无毒或无抑菌物质。

### 8.3 阴离子表面活性剂

琥珀辛酯磺酸钠,用于制备孢子悬液。

### 8.4 荧光剂、试剂和缓冲液

#### 8.4.1 通用

按 8.4.2 $\sim$ 8.4.8 规定配制试剂和缓冲液。可用经过适当验证的商业试剂代替。

#### 8.4.2 ATP 标准储备溶液( $1 \times 10^{-3}$ mol/L),以下简称标准 ATP 溶液

腺嘌呤核苷-5'-三磷酸酯二钠盐三水合物 60.5 mg

( $C_{10}H_{14}N_5Na_2O_{13}P_3 \cdot 3H_2O$ )

纯水(8.2) 100 mL(最终定容至)

将配制好的标准原液放入密封装置中并在不高于 $-20$  ℃的条件下冷藏,保质期 6 个月。

注:不宜复冻和/或重复使用融化后的原液。

#### 8.4.3 ATP 荧光剂缓冲液

N-[三(羟甲基)甲基]甘氨酸 1 117 mg

乙二醇四乙酸二钠盐 183 mg

乙酸镁(四合水) 808 mg

DL-二硫苏糖醇 6.7 mg

糊精 25 000 mg

蔗糖	925 mg
纯水	250 mL(最终定容至)
pH	7.5±0.2

#### 8.4.4 ATP 荧光剂

在 8.4 和第 11 章规定的试验条件下,ATP 荧光剂应能使光度计(7.23)检测浓度为  $1 \times 10^{-8}$  mol/L~ $1 \times 10^{-5}$  mol/L 的 ATP。

荧光素酶	0.7 mg
D-荧光素	12.6 mg
牛血清白蛋白	56 mg
缓冲液(见 8.4.3)	30 mL

一次完全溶解,在使用前置于室温中 15 min。制备后在 3 h 内使用。

#### 8.4.5 ATP 萃取剂

ATP 萃取剂应具有从培养真菌中萃取细胞内的 ATP 的能力,萃取率不低于 80%。

N-[三(羟甲基)甲基]甘氨酸	45 mg
苯扎氯铵,10%水溶液	0.2 mL
纯水	9.8 mL
pH(使用氢氧化钠调节 pH)	12.0±0.5

如果在萃取液中使用除上述成分的其他试剂应在报告中记录。

#### 8.4.6 ATP 消除剂

当在 SDB(8.5.2)中加入其 1/10 体积的 ATP 消除剂时,应在 15 min 内将培养基中的 ATP 浓度降低到  $10^{-11}$  mol/L 以下。制备后在 8 h 内使用。

成分如下:

三磷酸腺苷双磷酸酶(EC:3.6.1.5)	4.6 IU/mL
腺苷酸脱氨酶(EC:3.5.4.6 或 3.5.4.17)	46 IU/mL
蔗糖	37 mg
牛血清白蛋白	20 mg
0.05 mol/L 2-吗啉乙磺酸一水合物缓冲液	10 mL
pH	6.0±0.5

如果使用其他消除剂,应在报告中记录其成分。

#### 8.4.7 生理盐水溶液

将 8.5 g 氯化钠加入盛有 1 000 mL 纯水的烧瓶中。使其完全溶解并根据蒸汽压力灭菌的需要分装到试管中。

#### 8.4.8 含阴离子表面活性剂的无菌水

将 50 mg 阴离子表面活性剂溶解到纯水中,定容至 1 000 mL,并根据高压蒸汽灭菌的需要分装到试管中。

### 8.5 培养基

#### 8.5.1 通用

使用按 8.5.2~8.5.5 制备的培养基。经验证后可用商业培养基代替。

对于制备后不立即使用的培养基,宜在 5℃~10℃ 条件中储存,保质期 1 个月。

8.5.2 沙氏葡萄糖肉汤(SDB)

蛋白胨	10 g
葡萄糖	20 g~40 g
纯水	1 000 mL(最终定容至)
灭菌后 pH	5.6±0.2

8.5.3 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)

将马铃薯洗净去皮,去除每个芽周围约 10 mm 的部分,尽量减少瑕疵,并将其切成 10 mm 的块状。取 200 g 马铃薯在 1 000 mL 纯水中煮沸 1 h。用多层纱布(7.1)过滤,取滤液加入纯水,定容至 1 000 mL。加入 20 g 葡萄糖和 15 g~20 g 琼脂,待固体充分溶解后放入高压灭菌锅(7.4)中灭菌。

8.5.4 斜面培养基

将 10 mL 完全溶解并预热后的 PDA (8.5.3)倒入试管中。用棉塞封口并用蒸汽灭菌。将灭菌后的试管放置在与试验台平面呈 15°倾角的斜面上,并使试管内的物体凝固。当固化琼脂中无流动液体时,再次溶解并固化以备使用。

8.5.5 沙氏葡萄糖琼脂(SDA)

肉蛋白胨	10 g
葡萄糖	35 g
琼脂	15 g
纯水	1 000 mL(最终定容至)
按照供应商说明进行。	
灭菌后 pH	5.6±0.2

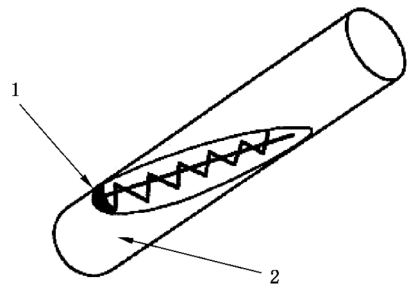
注:本培养基可能会用于转移法。

9 真菌的保存与使用

9.1 真菌的保存

- 在二级生物安全柜(7.5)或其他等效设备中对试验真菌与孢子进行传代培养和操作:
- 在传代培养前后对棉塞及试管颈部进行火焰灭菌或化学灭菌。
  - 刮取原始菌上的一部分菌,以直线或曲线的形式(见图 1)将孢子分散在斜面培养基底部的冷凝水中并涂抹到斜面培养基顶部。
  - 每次对不同类型的真菌进行传代培养时,使用经火焰灭菌后的铂接种环(7.6)或 L 型铂接种钩(7.7)进行接种。
  - 将传代培养斜面培养基在 25℃±2℃ 条件下的培养箱(7.8)中放置至少 8 d,并确认在 5℃~10℃ 条件下保存前已经产生足够的孢子。
  - 在 3 个月内,将传代培养的真菌转移到新斜面培养基中,以便进一步培养和保存。
  - 每 3 个月传代一次。传代培养的真菌菌落传代次数最多应不超过 5 次。不要使用超过 3 个月的真菌做进一步传代培养。

注:在-80℃ 冷冻干燥条件下可进行长期保存。



说明：  
1——冷凝水；  
2——斜面培养基。

图 1 斜面培养基传代培养示意图

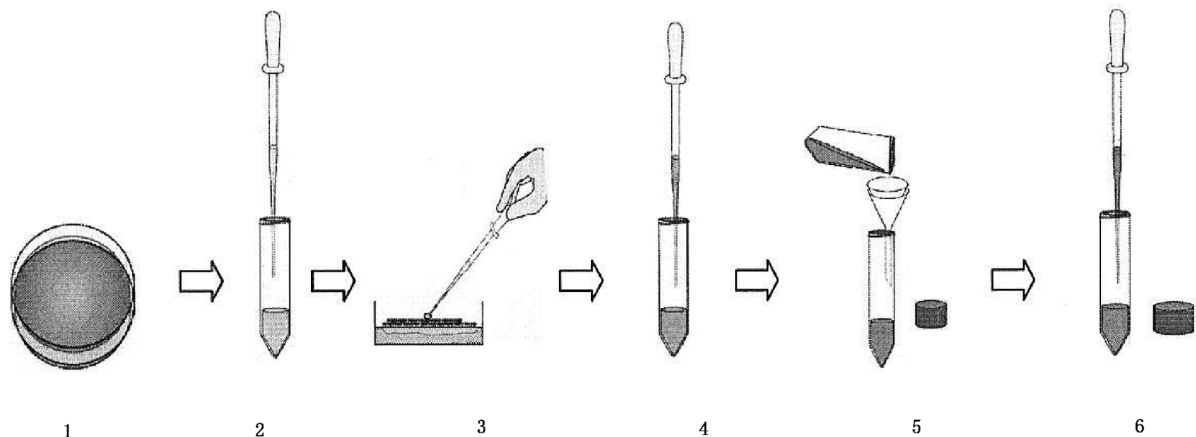
9.2 真菌的使用

为制备第 10 章中规定的孢子悬液中的真菌，将 9.1 中保藏的真菌转移到平板培养基上，在  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下培养至少 8 d。当培养后的真菌不立即使用时，将其放置在  $5\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 10\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下保存并在 7 d 内使用。

10 孢子悬液

10.1 通用

孢子悬液的制备和调节过程见图 2。



说明：  
1——在 PDA 平板上预培养；  
2——步骤 1；  
3——步骤 2；  
4——步骤 3；  
5——步骤 4；  
6——步骤 5。

图 2 孢子悬液的调节步骤



## 10.2 在培养基中悬浮孢子

步骤如下：

- 用短巴斯德吸管(7.13)或等效装置吸取 0.5 mL 含阴离子表面活性剂的无菌水(8.4.8)(步骤 1)；
- 分 5 次将其分散到琼脂平板中心的孢子中,缓慢清洗表面(步骤 2)。

注：微小的调整是可接受的,如增加洗涤水的用量。在这种情况下,保留对所有条件的记录。

## 10.3 从培养基中收集和分散孢子悬液

步骤如下：

- 用短巴斯德吸管(7.13)或类似装置吸取 10.2 中孢子悬液；
- 将其移入约 5 mL 含阴离子表面活性剂的无菌水(8.4.8)中；
- 吸吹 100 次或用试管振荡器搅拌或用低超声波清洗 5 min,以便孢子能充分分散；
- 目测悬液出现轻微浑浊(步骤 3)。

## 10.4 过滤去除菌丝和孢子丝

用带有纱布(7.1)或玻璃棉的漏斗或其他装置进行过滤(步骤 4)。

注：纱布(7.1)或玻璃棉尺寸可为 5 cm×5 cm,铺设 4 层±1 层。

## 10.5 使用离心分离和再悬浮去除上清液

步骤如下：

- 过滤后,在 25 °C±2 °C 条件下以 2 000×g 加速度离心分离 5 min,当离心机(7.18)无控温装置时可在室温下进行；
- 移除上清液；
- 加入 5 mL 含阴离子表面活性剂的无菌水(8.4.8)；
- 充分吸吹使孢子分散或使用试管振荡器搅拌,或用低超声波清洗 5 min,以便于孢子能充分分散(步骤 5)。

## 10.6 孢子悬液浓度的确认

用血球计数板检验以下项目：

- a) 孢子数量及形态:确保孢子数量为  $1 \times 10^6$  CFU/mL~ $3 \times 10^6$  CFU/mL,且 90% 以上为无菌丝单孢子；
- b) 当孢子数量较多时:用含阴离子表面活性剂的无菌水(8.4.8)稀释悬液,使孢子数量降至  $1 \times 10^6$  CFU/mL~ $3 \times 10^6$  CFU/mL,并再次检查孢子数量；
- c) 当孢子数量不足时:重复离心分离去除上清液,并用含阴离子表面活性剂的无菌水(8.4.8)调节孢子数量至  $1 \times 10^6$  CFU/mL~ $3 \times 10^6$  CFU/mL,再次检查孢子数量；
- d) 对于 12.1.3 中的转移法,孢子数量应调节至  $1 \times 10^8$  CFU/mL~ $3 \times 10^8$  CFU/mL,该浓度的孢子悬液应用于试验。

## 10.7 试验用孢子悬液的调节

步骤如下：

- 用含 5% SDB 的阴离子表面活性剂溶液将孢子悬液浓度调至  $1 \times 10^5$  CFU/mL~ $3 \times 10^5$  CFU/mL 以备试验；

注：如制备 100 mL 含 5% SDB 的阴离子表面活性剂溶液:在 95 mL 按 8.4.8 制备的含阴离子表面活性剂的无菌水

- 中加入 5 mL 按 8.5.2 制备的 SDB 培养基。
- 稀释时充分搅拌孢子悬液；
- 在 3℃~4℃ 条件下冷藏孢子悬液，并在 4 h 内使用。

## 11 制作 ATP 校准曲线

ATP 校准曲线的制作过程如下(曲线应在试验当天绘制)：

- a) 用纯水稀释 8.4.2 中的 ATP 标准储备溶液，以制备准确浓度分别为  $1 \times 10^{-8}$  mol/L、 $1 \times 10^{-7}$  mol/L 和  $1 \times 10^{-6}$  mol/L 的 3 个稀释度；
- b) 按以下步骤制备初次稀释 ATP 试剂：从每个稀释原液中取 0.1 mL 转移到不同的塑料试管，随后在每个塑料试管中加入 0.05 mL 纯水和 0.35 mL 生理盐水溶液并摇匀；
- c) 按以下步骤制备二次稀释 ATP 试剂：从初次稀释 ATP 试剂中取 0.1 mL 加入试管，并加入 0.4 mL 生理盐水溶液并摇匀；
- d) ATP 稀释样的测试准备：从二次稀释 ATP 试剂中取 0.1 mL 加入到两个塑料试管中以备 ATP 稀释样检测用；
- e) 按以下步骤制备空白样 1：将 0.1 mL 含阴离子表面活性剂的无菌水(8.4.8)、0.35 mL 生理盐水和 0.05 mL ATP 消除剂加入塑料试管。摇匀并静置 10 min~20 min；
- f) 按以下步骤制备空白样 2：取 0.1 mL 空白样 1 转移到试管中，加入 0.4 mL 生理盐水并摇匀；
- g) 空白试验的准备：将 0.1 mL 空白样 2 转移到 2 个塑料试管中以备空白试验用；
- h) 将 0.1 mL ATP 萃取剂分别加入 g) 制备的 2 个盛有空白样 2 的塑料试管中并摇匀；
- i) 加入 0.1 mL ATP 荧光剂并用试管振荡器搅拌 5 s；
- j) 空白样 2 的荧光强度：立即用光度计(7.23)测定两个空白样的荧光强度；
- k) 按照样液从最低浓度到最高浓度的顺序，将 0.1 mL ATP 萃取剂加入到二次稀释 ATP 样 d) 中并摇匀；
- l) 加入 0.1 mL ATP 荧光剂并用试管振荡器搅拌 5 s；
- m) 二次稀释 ATP 样的荧光强度：立即用光度计(7.23)测定两个二次稀释 ATP 样的荧光强度；
- n) 按式(1)计算系数 A 和 B，以此建立校准曲线：
  - 系数 A 可由 m) 中所测得的二次稀释 ATP 试剂荧光强度的均值除以相应的 ATP 浓度(mol/L)所得 3 个数值的平均值获得；
  - 系数 B 通过式(1)在  $Y=0$  时，代入系数 A 并将空白样 2 荧光强度的均值代入 X 计算获得。

$$Y = AX + B \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中：

Y——ATP 浓度，单位为摩尔每升(mol/L)；

X——荧光强度(RLU 为相对光单位)。

当平均荧光强度和 ATP 浓度的相关系数低于 0.99 时，应重新制作 ATP 校准曲线。

## 12 试验方法

### 12.1 试样准备与接种

#### 12.1.1 通用

可用吸收法和转移法进行接种。转移法适用于不吸水的纺织品。

## 12.1.2 吸收法

### 12.1.2.1 样品洗涤

必要时,按 GB/T 20944.2—2007 的 10.1 方法洗涤试样,洗涤后,用水漂洗试样以去除洗涤剂。若使用其他未提及的方法应在报告中说明。

### 12.1.2.2 试样形状和质量

从样品上裁取代表性试样,并裁剪为合适尺寸,称取  $0.20\text{ g} \pm 0.03\text{ g}$  作为 1 个试样。分别取 6 个对照样和 6 个试样。

注:其中 3 个对照样和 3 个试样用于接种结束时的“0”接触时间测定荧光强度。剩余样品用于接种培养结束后的接触时间测定荧光强度。

### 12.1.2.3 试样放置

根据试样的特性选取下列方法之一将各试样分别放入不同的螺口玻璃瓶(7.9):

- 如果试样是易卷曲的纺织品,或具有絮片、羽绒,在螺口玻璃瓶(7.9)的试样上放置一根玻璃棒,或用线将其两边固定;
- 如果为纱线试样,将纱线捋成一束,并在螺口玻璃瓶(7.9)的试样上放置一根玻璃棒;
- 如果为地毯或具有类似结构的样品,剪取样品上的起绒部分作为试样,并在螺口玻璃瓶(7.9)的试样上放置一根玻璃棒。

### 12.1.2.4 试样灭菌

必要时,如对于被污染的试样,按以下步骤用高压灭菌锅(7.4)进行灭菌:

- 用铝箔包裹装有试样的螺口玻璃瓶(7.9)顶部;
- 将覆有铝箔的螺口玻璃瓶(7.9)放入金属篮中以备高压灭菌用;
- 用铝箔包裹瓶盖并放入金属篮中;
- 将瓶盖和装有试样的螺口玻璃瓶(7.9)放入高压灭菌锅(7.4),于  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $103\text{ kPa}$ ) 灭菌  $15\text{ min} \sim 20\text{ min}$ ;
- 灭菌后,在无菌实验室内取掉铝箔,将装有试样的螺口玻璃瓶(7.9)放入二级生物安全柜(7.5)或其他无空气污染风险的地方干燥至少  $60\text{ min}$ ;
- 盖紧瓶盖。

注 1:如果使用高压灭菌锅(7.4)或其他灭菌方法,在报告中说明,如使用环氧乙烷气体或  $\gamma$  射线。

注 2:某些灭菌方法能使某些抗菌剂失活或增加释放从而得出错误结果。

注 3:对照样用灭菌方法可与试样保持一致。

### 12.1.2.5 接种

分别准确移取  $0.2\text{ mL}$  10.7 中制备的  $1 \times 10^5\text{ CFU/mL} \sim 3 \times 10^5\text{ CFU/mL}$  的孢子悬液,分散接种在 12.1.2.2 制备的每个试样上。

注 1:孢子悬液移取至试样上之前,使其混匀。

确保孢子悬液均匀分布在试样上的不同部位,用玻璃棒按压使孢子悬液被充分吸收。接种完成后立即按第 13 章规定测定试样的荧光强度。

注 2:对于不易吸收孢子悬液的试样,选用转移法。

### 12.1.3 转移法

#### 12.1.3.1 试样准备

用裁样器裁剪直径约为 3.8 cm 的对照样和试样各 6 块。试样上应无任何接缝、布边、绣花、紧固件等。样品宜足够大(至少  $0.5 \text{ m}^2$ )以满足重复性试验的需求。试样宜取自同一批且避开布边或起梗部位。

分别称量并记录每个试样和对照样的质量( $m_A$ )。

必要时按 GB/T 20944.2—2007 的 10.1 方法洗涤试样,洗涤后,用水漂洗试样以去除洗涤剂。若使用其他方法应在报告中说明。

必要时可使用高压灭菌锅(7.4)、环氧乙烷气体、 $\gamma$  射线或其他方法对试样进行灭菌。若使用其他方法应在报告中说明。

#### 12.1.3.2 接种到琼脂平皿

制备 12 个 SDA 琼脂平皿,培养皿(7.2)直径为 55 mm~60 mm。将 1 mL 初始孢子悬液接种到琼脂上,沿不同方向倾斜平皿使其布满整个平皿表面。尽可能吸收多余液体,静置  $300 \text{ s} \pm 30 \text{ s}$ 。

#### 12.1.3.3 转移到试样

制备 6 个对照样和 6 个试样,其中 3 个用于转移后立即使用,3 个用于接种培养后。将每个试样放置在琼脂表面并用 200 g 不锈钢圆柱体压  $60 \text{ s} \pm 5 \text{ s}$ 。取下不锈钢圆柱体和试样并将每个试样分别放入直径为 55 mm~60 mm 的培养皿(7.2)中,接触面朝上。

称量并记录培养皿(7.2)的质量( $m_B$ )及培养后试样和培养皿的总质量( $m_C$ )。

按下式计算试样中液体的质量( $m_D$ ):

$$m_D = m_C - (m_A + m_B)$$

## 12.2 培养

### 12.2.1 吸收法

按 12.1.2.5 中规定将孢子悬液接种到试样上,在  $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  条件中培养  $42 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ 。

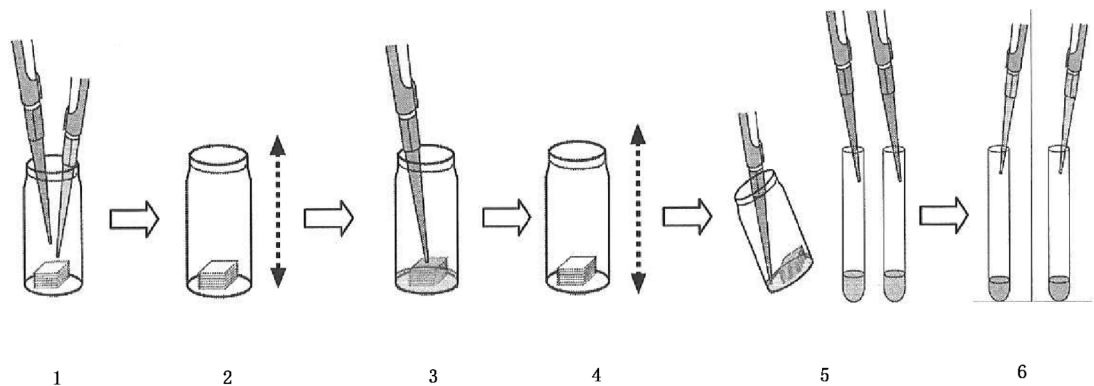
### 12.2.2 转移法

按 12.1.3.3 转移后,在  $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  的湿度箱中培养  $42 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ 。

## 13 荧光强度的测定

### 13.1 吸收法

荧光强度测定的准备过程如下(见图 3):



说明：

- 1——步骤 6；
- 2——步骤 7；
- 3——步骤 8；
- 4——步骤 9；
- 5——步骤 10；
- 6——步骤 11。

图 3 荧光强度测定准备过程

- a) 将 0.1 mL ATP 消除剂加入 12.2.1 制备的试样中,并加入 4.7 mL 生理盐水(步骤 6)；
- b) 盖紧瓶盖并混匀。手工摇晃 30 次或使用试管振荡器振荡 5 次,每次 5 s。在室温中静置 20 min (步骤 7)；
- 注 1: 若试样漂浮在真菌悬液上,用玻璃棒按压使试样充分沉浸。
- c) 加入 5.0 mL ATP 萃取剂(步骤 8)；
- d) 盖紧瓶盖并混匀。手工摇晃 30 次或使用试管振荡器振荡 5 次,每次 5 s。在室温中静置 10 min (步骤 9)；
- 注 2: 若试样漂浮在真菌悬液上,用玻璃棒按压使试样充分沉浸。
- e) 摇匀,将 0.2 mL d)中制备的溶液分别转移到两个塑料试管中(步骤 10)；
- f) 将 0.1 mL ATP 荧光剂分别加入到 e)中制备的样液中,用试管振荡器搅拌 5 s,随后立即用光度计(7.23)测定荧光强度(步骤 11)；
- g) 测定两个试样的荧光强度。

### 13.2 转移法

具体过程如下：

- a) 将 0.1 mL ATP 消除剂加入 12.2.2 制备的试样中,并加入 $(4.9-m_D)$ mL 生理盐水(见 12.1.3.3)；
- b) 用吸管吸吹约 30 次使其混匀,倾斜培养皿以便于移液,在室温中静置 20 min；
- 注 1: 若试样漂浮在真菌悬液上,用玻璃棒按压使试样充分沉浸。
- c) 加入 5.0 mL ATP 萃取剂；
- d) 用吸管吸吹约 30 次使其混匀,倾斜培养皿以便于移液,在室温中静置 10 min；
- 注 2: 若试样漂浮在真菌悬液上,用玻璃棒按压使试样充分沉浸。
- e) 通过吸吹的方式混匀,吸取 0.2 mL d)溶液分别转移到两个塑料试管中；

- f) 将 0.1 mL 荧光剂加入到 e) 样液中,在振荡器中振荡 5 s,使用光度计测定荧光强度;
- g) 测定两个试样的荧光强度。

## 14 计算

### 14.1 试验有效性的判定

当增长值符合 b) 中要求时,试验判为有效,否则试验无效,应重新进行试验:

- a) 根据式(2)计算对照样的增长值  $F$ ;
- b) 由式(2)计算获得的生长值  $F$  应  $\geq 1.5$ 。

结果四舍五入至两位有效数字。

当所用对照样的真菌增长值小于 1.5 时,宜使用 100% 棉织物进行重复试验。

$$F = \lg C_t - \lg C_0 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- $F$  ——对照样的真菌增长值;
- $\lg C_0$  ——3 个对照样接种后立即测得的 ATP 量均值的对数;
- $\lg C_t$  ——3 个对照样接种并培养  $42 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  后的 ATP 量均值的对数。

### 14.2 抑菌值的计算

对于有效试验,按式(3)计算抑菌值。结果四舍五入至 2 位有效数字。

$$A_a = (\lg C_t - \lg C_0) - (\lg T_t - \lg T_0) \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

- $A_a$  ——抑菌值;
- $\lg C_0$  ——3 个对照样接种后立即测得的 ATP 量均值的对数;
- $\lg C_t$  ——3 个对照样接种并培养  $42 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  后的 ATP 量均值的对数;
- $\lg T_0$  ——3 个试样接种后立即测得的 ATP 量均值的对数;
- $\lg T_t$  ——3 个试样接种并培养  $42 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  后的 ATP 量均值的对数。

### 14.3 抗真菌效果评价

如果需要,参照附录 B 对试样的抗真菌性能进行评价。

## 15 试验报告

试验报告应包含以下内容:

- a) 本部分的编号;
- b) 样品描述;
- c) 对照样的类型;
- d) 试验真菌的类型;
- e) 真菌菌株描述:菌株保藏号和菌株保藏机构;
- f) 孢子悬液浓度;
- g) 接种方式;
- h) 式(2)中的增长值  $F$ ;

- i) 每块试样的抑菌值  $A_a$ ;
- j) 如果需要, 给出抗真菌效果评价;
- k) 实验室名称、试验日期、操作者姓名及签名;
- l) 任何偏离本部分的细节。

附 录 A  
(规范性附录)  
试验真菌菌株

A.1 总则

试验用真菌菌株应与表 A.1 中一致,由世界菌种保藏联合会(WFCC)成员提供。

A.2 菌株列表

表 A.1 真菌菌株由世界菌种保藏联合会(WFCC)成员提供。

表 A.1 试验用真菌菌株

菌株类型	拉丁名	菌株编号	国内保藏号
黑曲霉	<i>Aspergillus niger</i>	WDCM 00144 <a href="http://refs.wdcm.org/getinfo.htm?sid=WDCM%2000144">http://refs.wdcm.org/getinfo.htm? sid= WDCM 00144</a>	CICC 2475
桔青霉	<i>Penicillium citrinum</i>	WDCM 00189 <a href="http://refs.wdcm.org/getinfo.htm?sid=WDCM%2000189">http://refs.wdcm.org/getinfo.htm? sid= WDCM 00189</a>	CICC 2478
芽枝状枝孢菌	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	WDCM 00190 <a href="http://refs.wdcm.org/getinfo.htm?sid=WDCM%2000190">http://refs.wdcm.org/getinfo.htm? sid= WDCM 00190</a>	CICC 41697
须癣毛癣菌	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	WDCM 00191 <a href="http://refs.wdcm.org/getinfo.htm?sid=WDCM%2000191">http://refs.wdcm.org/getinfo.htm? sid= WDCM 00191</a>	
<p>注 1: 经验证后可使用其他真菌菌株。 注 2: 参考 WDCM 及其网址:<a href="http://refs.wdcm.org/search.htm">http://refs.wdcm.org/search.htm</a>。(WDCM 代表世界微生物数据中心) 注 3: CICC 为中国工业微生物菌种保藏管理中心的英文简称,其网址为:<a href="http://www.china-cicc.org">http://www.china-cicc.org</a>.</p>			



附 录 B  
(资料性附录)  
抗真菌效果

表 B.1 给出了抗真菌效果的评价示例。

注：评价标准并不保证无真菌生长，即与对照织物相比，抗真菌整理织物的真菌生长较慢或无生长。

表 B.1 抗真菌效果示例

抑菌值 $A_a$	抗真菌效果说明
$1.0 > A_a$	无效
$2.0 > A_a \geq 1.0$	轻微抗真菌
$3.0 > A_a \geq 2.0$	中等抗真菌
$A_a \geq 3.0$	全效抗真菌

## 参 考 文 献

- [1] GB/T 8629 纺织品 试验用家庭洗涤和干燥程序
- [2] IEC 60068-2-10:2005 Environmental testing—Part 2-10: Tests—Test J and guidance: Mould growth
- [3] ISO 846:1997 Plastics—Evaluation of the action of microorganisms
- [4] ISO 3801:1977 Textiles—Woven fabrics—Determination of mass per unit length and mass per unit area
- [5] ISO 7218:2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs—General requirements and guidance for microbiological examinations
- [6] ISO 9022-11:1994 Optics and optical instruments—Environmental test methods—Part 11: Mould growth
- [7] ISO 11721-1:2001 Textiles—Determination of resistance of cellulose-containing textiles to microorganisms—Soil burial test—Part 1: Assessment of rot-retardant finishing
- [8] ISO 11721-2:2003 Textiles—Determination of resistance of cellulose-containing textiles to microorganisms—Soil burial test—Part 2: Identification of long-term resistance of a rot retardant finish
- [9] ISO 16869:2008 Plastics—Assessment of the effectiveness of fungistatic compounds in plastics formulations
- [10] ISO 20743:2007 Textiles—Determination of antibacterial activity of antibacterial finished products
- [11] AATCC Test Method 30:2004 Antifungal activity, assessment on textile materials: Mildew and rot resistance of textile materials
- [12] AATCC Test Method 174:2007 Antimicrobial activity assessment of carpets
- [13] AS 1157.2—1999 Australian standard—Methods of testing materials for resistance to fungal growth—Part 2: Resistance of textiles to fungal growth. Section 1—Resistance to surface mould growth
- [14] AS 1157.3—1999 Australian standard—Methods of testing materials for resistance to fungal growth—Part 3: Resistance of cordage and yarns to fungal growth
- [15] AS 1157.4—1999 Australian standard—Methods of testing materials for resistance to fungal growth—Part 4: Resistance of textiles to fungal growth. Section 2—Resistance to cellulolytic fungi
- [16] ASTM Designation G21-96:2002 Standard practice for determining resistance of synthetic polymeric materials to fungi
- [17] BS 2011:Part 2.1J (IEC 68-2-10) Basic environmental testing procedures
- [18] BS 6085:1992 Methods for determination of the resistance of textiles to microbiological deterioration
- [19] DIN 53931 Testing of textiles—Determination of resistance of textiles to mildew—Growth test
- [20] EN 12225:2000 Geotextiles and geotextile-related products—Method for determining the microbiological resistance by a soil burial test
- [21] EN 12353:2006 Chemical disinfectants and antiseptics—Preservation of test organisms

used for the determination of bactericidal, mycobactericidal, sporicidal and fungicidal activity

- [22] EN 14119:2003 Testing of textiles—Evaluation of the action of microfungi
  - [23] Federal Test Method Standard, No.311, 5041-1975 Mildew resistance, tropical chamber method
  - [24] JIS A 6922:2003 Adhesives for wallpaper and wall coverings for decorative finish and TAT-EGU
  - [25] JIS R 1705:2008 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics)—Test method for antifungal activity of photocatalytic products under photoirradiation
  - [26] JIS W 0812:2004 Airborne equipment—Environmental conditions and test procedures
  - [27] JIS Z 2911:2000 Method of test for fungus resistance
  - [28] JIS Z 2911:2006 Method of test for fungus resistance (Amendment 1)
  - [29] MIL STD 810F-508.5:2003 Department of defense test method standard for environmental engineering consideration and laboratory tests—Method 508.5:Fungus
-