



中华人民共和国国家标准

GB/T 39104.2—2020

纺织品 抗真菌性能的测定 第2部分：平皿计数法

Textiles—Determination of antifungal activity of textile products—
Part 2: Plate count method

(ISO 13629-2:2014, MOD)

2020-10-21 发布

2021-05-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

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2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 13629-2:2014《纺织品 抗真菌性能的测定 第2部分：平皿计数法》。

本部分与 ISO 13629-2:2014 相比在结构上调整如下：

——将 ISO 13629-2:2014 第8章的悬置段内容更改为本部分的8.1,其后条号顺延；

——将 ISO 13629-2:2014 中 10.6.1 前的悬置段内容更改为本部分的10.6.1,其后条号顺延。

本部分与 ISO 13629-2:2014 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 和 ISO 7218；
- 增加引用了 GB/T 20944.2—2007(见第2章)；

——补充了3.1注2中对照样洗涤方法,删除了注1的内容；

——将7.26中“冷冻柜：一个可调节至 -70°C 以下,另一个可调节至 -20°C 以下”调整为“冷冻柜：可调节至 -80°C 以下”；

——将8.3标题修改为“含阴离子表面活性剂的无菌水”,并补充了含阴离子表面活性剂无菌水的配制方法；

——将10.5.3中“在10.5.2中加入5 mL表面活性剂”更正为“在10.5.2中加入5 mL含阴离子表面活性剂的无菌水”；

——将孢子悬液浓度单位由“mL”更正为“CFU/mL”；

——补充了孢子悬液的冷藏温度条件(见10.7.4)；

——将11.1.2.1和11.1.3.1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”；

——补充了抗真菌效果评价(见12.3)；

——试验报告中增加“e) 真菌菌株描述:菌株保藏号和菌株保藏机构;”其后列项编号顺延(见第13章)。

——增加了对应真菌菌株的国内保藏机构(见附录A)。

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:深圳市康益保健用品有限公司、福建凤竹纺织科技股份有限公司、广东省微生物分析检测中心、东莞市中鼎检测技术有限公司、福建省晋江市华宇织造有限公司、中纺标检验认证股份有限公司、百事基材料(青岛)股份有限公司、晋江中纺标检测有限公司、联润翔(青岛)纺织科技有限公司、上海爱丽纺织技术检验有限公司。

本部分主要起草人:吕静、樊蓉、商成杰、谢小保、康宁、王海洋、黄效华、吴大伟、苏成喻、吕莱、姚玲、李亚。

引 言

GB/T 39104 的本部分采用平皿计数法作为抗真菌性能的定量分析方法。

平皿计数法的特点如下：

- 属于实验室容易操作的常规方法；
- 无需使用特殊设备，如荧光光度计；
- 历史悠久且程序通用。

纺织品 抗真菌性能的测定

第2部分：平皿计数法

1 范围

GB/T 39104 的本部分规定了采用平皿计数法对纺织品抗真菌性能进行定量测定的方法。
本部分适用于各类纺织品,如纤维、纱线、织物、服饰、床上用品、家居装饰用品等。

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10min,漂洗2次共5min。

3.2

抗真菌剂 antifungal agent

抑制或缓和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减少真菌数量的整理。

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

平皿计数法 plate count method

通过十倍稀释法计数菌落数来计算培养后存在的真菌数量的方法。

注:菌落数用菌落形成单位CFU表示。

3.6

中和剂 neutralizer

用于灭活、中和或抑制抗真菌剂抗真菌性能的化学试剂。

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 30 ℃ 条件下培养 48 h。

通过计数琼脂板上可视菌落的数量(用菌落形成单位 CFU 表示)计算真菌的增长值和抑菌值。

对于吸水性试样,宜使用吸收法。对于不吸水的试样,建议使用转移法。

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 中选择。

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。

真菌菌株保存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。相关器具在使用前进行灭菌。

7.1 纱布:经灭菌处理。

7.2 培养皿:玻璃或塑料材质,内径约 60 mm 或 90 mm。

7.3 高压灭菌锅:温度能保持在 $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$ (压力相当于 103 kPa)。

7.4 铂接种环:环直径为 2 mm~4 mm(或等效的塑料装置)。

7.5 L 型铂接种钩(或等效的塑料装置)。

7.6 培养箱:温度能保持在 25°C ~ 37°C ,允差为 $\pm 2^\circ\text{C}$ 。

7.7 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。应用碱性或中性洗涤剂小心清洗、冲洗并干燥。

7.8 玻璃漏斗。

7.9 移液管:容量为 0.2 mL、1 mL、5 mL 和 10 mL,允差不超过 0.5%,具有玻璃或塑料吸头。

7.10 巴斯德吸管:用于微生物试验(或等效的塑料装置)。

7.11 锥形瓶:容量为 100 mL~500 mL。

7.12 镊子:由可消毒的材质制成。

7.13 离心机:离心加速度约为 $2\,000 \times g$ 。

7.14 离心管:用于离心分离。

7.15 血球计数板:能计测 1×10^6 CFU/mL~ 3×10^6 CFU/mL。

7.16 显微镜:放大倍数为 200 倍。

7.17 超声波清洗机:试验用紧凑型,频率约为 30 kHz~50 kHz。

7.18 pH 计:生化试验用,具有玻璃电极,或用等效的 pH 试纸代替。

7.19 锥形烧瓶:容量为 100 mL。

7.20 裁样器:不锈钢材质,直径为 (3.8 ± 0.1) cm。

- 7.21 不锈钢柱:直径为(3.5±0.1) cm,质量为(200±10) g。
- 7.22 振荡器:具有旋涡振荡功能。
- 7.23 桨式搅拌器(三角型):速度为6 击/s ~ 8 击/s,具有相应的一次性容器。
- 7.24 湿度箱:热带气候箱或可保持较高湿度的其他容器。
- 7.25 冰箱:温度能保持在2℃~8℃,允差为±2℃。
- 7.26 冷冻柜:可调节至-80℃以下,允差为±2℃。
- 7.27 天平:称量能确保可读至0.01 g。
- 7.28 一次性均质袋:适用于收纳食物,洗脱样品时使用。
- 7.29 二级生物安全柜或其他等效设备。
- 7.30 水浴锅:一个温度可保持(46±2)℃,另一个温度可保持70℃~90℃。

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 含阴离子表面活性剂的无菌水

将50 mg 阴离子表面活性剂琥珀辛酯磺酸钠溶解到纯水(8.2)中,定容至1 000 mL,使用高压灭菌锅在121℃条件下灭菌20 min,形成50 mg/L的含阴离子表面活性剂的无菌水。

8.4 培养基

使用按以下步骤制备的培养基。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,应在5℃~10℃环境中储存,保质期1个月。

8.4.1 沙氏葡萄糖肉汤(SDB)

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

8.4.2 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)

马铃薯浸粉	200 g
葡萄糖	20 g
琼脂	15 g
纯水	1 000 mL(最终定容至)
灭菌后 pH	5.6±0.2

本培养基有助于霉菌孢子的培养。
库七七 www.kqgw.com 提供下载

8.4.3 沙氏葡萄糖琼脂(SDA)

肉蛋白胨	10 g
葡萄糖	40 g
琼脂	15 g
纯水	1 000 mL(最终定容至)
灭菌后 pH	5.6±0.2

注：本培养基可能会用于转移法。

8.4.4 斜面培养基

8.4.4.1 将 10 mL 完全溶解并预热后的 PDA (8.4.2)倒入灭菌后的试管中。

8.4.4.2 用棉塞封口并用蒸汽灭菌。

8.4.4.3 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。

8.4.4.4 当固化琼脂中无流动液体时,再次溶解并固化以备使用。

8.4.5 中和液 SCDLP 培养基

吐温 80	30 g
蛋黄卵磷脂	3 g
组氨酸盐酸盐	1 g
肉或酪蛋白胨	1 g
氯化钠	4.3 g
磷酸氢二钾	3.6 g
脱水磷酸二钠	7.2 g
纯水	1 000 mL(最终定容至)
灭菌后 pH	7.2±0.2

如果不能充分中和,可调节吐温 80 或卵磷脂的用量,或加入其他中和剂。商业中和液经试验与 8.4.5 中和液抗真菌效果(参见附录 B)一致时,可代替使用。任何非本标准规定的中和剂的使用应在报告中注明其名称和浓度。

9 真菌的保存与使用

9.1 在二级生物安全柜(7.29)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。

9.2 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。

9.3 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(8.4.4)底部的冷凝水中并涂抹到斜面培养基顶部。

9.4 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(7.4)或 L 型铂接种钩(7.5)进行接种。

9.5 将传代培养斜面培养基在(25±2)℃条件下的培养箱(7.6)中放置至少 8 d,并确认在 5℃~10℃条件下保存前已经产生了足够的孢子。

9.6 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。

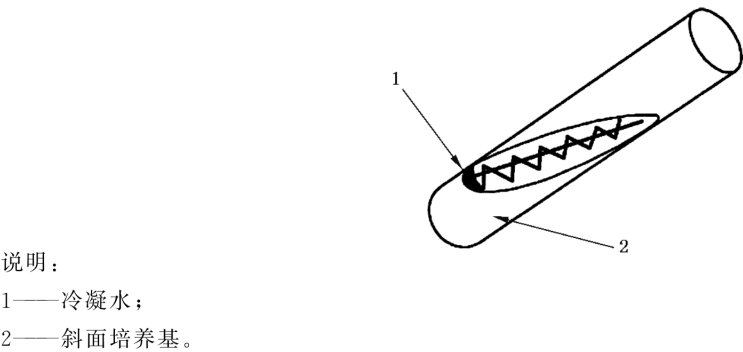
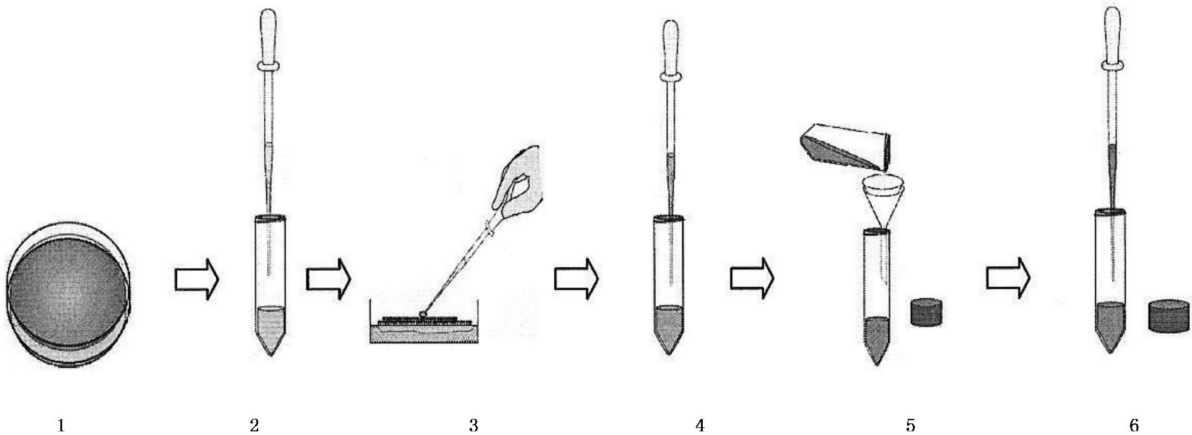


图 1 斜面培养基传代培养示意图

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

10.2.1 用短巴斯德吸管(7.10)或等效装置吸取 0.5 mL 含阴离子表面活性剂的无菌水(8.3)(步骤 1)。

10.2.2 分 5 次将其分散到 PDA 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

10.3.1 用短巴斯德吸管(7.10)或类似装置吸取 10.2 中孢子悬液。

10.3.2 将其移入约 5 mL 含阴离子表面活性剂的无菌水(8.3)中。

10.3.3 吸吹 100 次或用振荡器(7.22)搅拌 3 次共 20 s,或用低超声波清洗 5 min,使孢子充分分散。

10.3.4 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(7.8)或其他装置进行过滤(步骤 4)。

纱布或玻璃棉尺寸可为 5 cm×5 cm,铺设(4±1)层。

10.5 使用离心分离和再悬浮去除上清液

10.5.1 过滤后,在(25±2)℃条件下以 $2\,000\times g$ 加速度离心分离 5 min,当离心机(7.13)无控温装置时可在室温下进行。

10.5.2 移除上清液。

10.5.3 在 10.5.2 中加入 5 mL 含阴离子表面活性剂的无菌水(8.3)。

10.5.4 充分吸吹使孢子分散或使用振荡器(7.22)搅拌 3 次共 20 s,或用低超声波清洗约 5 min,使孢子充分扩散(步骤 5)。

10.6 孢子悬液浓度的确认

10.6.1 用血球计数板检验以下项目。

10.6.2 确保孢子数量为 1×10^6 CFU/mL~ 3×10^6 CFU/mL,且 90%以上为无菌丝单孢子。

10.6.3 当孢子数量较多时:用含阴离子表面活性剂的无菌水(8.3)稀释悬液,使孢子数量降至 1×10^6 CFU/mL~ 3×10^6 CFU/mL,并重新检查孢子数量。

10.6.4 当孢子数量不足时,重复分离去除上清液,用含阴离子表面活性剂的无菌水(8.3)调节孢子数量至 1×10^6 CFU/mL~ 3×10^6 CFU/mL,并重新检查孢子数量。

10.7 试验用孢子悬液的调节

10.7.1 对于吸收法,用含 5% SDB 培养基的阴离子表面活性剂溶液将孢子悬液浓度调至 1×10^5 CFU/mL~ 3×10^5 CFU/mL。

注:100 mL 含 5% SDB 培养基阴离子表面活性剂溶液的制备:在 95 mL 含阴离子表面活性剂的无菌水(8.3)中加入 5 mL 的 SDB。

10.7.2 对于转移法,仅在含阴离子表面活性剂的无菌水(8.3)中制备接种液(不需要 5%的 SDB)。

10.7.3 充分搅拌孢子悬液。

10.7.4 在 3℃~4℃条件下冷藏孢子悬液,并在 4 h 内使用。

10.8 接种液计数

11.2.4 中给出了用阴离子表面活性剂稀释稀释度为 10^{-2} ~ 10^{-3} 的计数示例。

11 试验方法

11.1 试样准备与接种

11.1.1 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。

11.1.2 吸收法

11.1.2.1 样品洗涤

必要时,如需评估抗真菌整理的耐久性,样品按 GB/T 20944.2—2007 的 10.1 方法洗涤,洗涤后,进行漂洗以消除洗涤剂。若使用其他方法应在报告中说明。

11.1.2.2 试样形状和质量

从样品上截取代表性试样,并裁剪为合适尺寸,称取 (0.40 ± 0.05) 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”接触时间测定真菌数。剩余样品用于接种培养结束后的接触时间测定真菌数。

11.1.2.3 试样准备

11.1.2.3.1 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(7.7):

- 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(7.7)的试样上放置一根玻璃棒,或用线将试样两端固定;
- 如果为纱线试样,将纱线捋成一束,并在螺口玻璃瓶(7.7)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(7.7)的试样上放置一根玻璃棒。

11.1.2.3.2 灭菌

必要时,如对于疑似被污染的试样,按以下步骤用高压灭菌锅(7.3)进行灭菌:

- a) 用铝箔包覆装有试样的螺口玻璃瓶(7.7)顶部;
- b) 将覆有铝箔的螺口玻璃瓶(7.7)放入金属篮中以备高压灭菌用;
- c) 用铝箔包覆瓶盖并放入金属篮中;
- d) 将瓶盖和装有试样的螺口玻璃瓶(7.7)放入高压灭菌锅(7.3),于 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ (103 kPa) 灭菌 20 min ;
- e) 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(7.7)放入二级生物安全柜或其他无空气污染风险的地方干燥至少 60 min 。

注 1: 如果高压灭菌锅不适用,可使用环氧乙烷气体、 γ 射线或其他灭菌方法,并在报告中说明。

注 2: 高压灭菌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: 对照样可采用以上方法进行灭菌。

11.1.2.3.3 盖紧瓶盖

在任何处理后盖紧瓶盖,以保持接种前处于洁净条件。

11.1.2.4 接种

11.1.2.4.1 打开瓶盖。

11.1.2.4.2 分别准确移取 0.2 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 11.1.2.3 制备的每个试样上。若试样不能很好地吸收,用一根玻璃棒或其他工具按压。

11.1.2.4.3 使用前确保悬液已混匀,而且被试样充分吸收,盖紧瓶盖,同时确保悬液不沾在瓶壁。

11.1.3 转移法

11.1.3.1 试样准备

用裁样器(7.20)裁剪 6 个直径为 (3.8 ± 0.1) cm 的试样。试样上应无任何接缝、布边、绣花、紧固件等。

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(7.3)、环氧乙烷气体、 γ 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。

11.1.3.2 接种到琼脂平皿

制备 12 个 SDA(8.4.3)平皿,培养皿(7.2)直径为 60 mm,或 6 个 SDA(8.4.3)平皿,培养皿(7.2)直径为 90 mm。

将 1 mL 初始孢子悬液(10.7)接种到琼脂上,浓度范围为 1×10^5 CFU/mL $\sim 3 \times 10^5$ CFU/mL。沿不同方向倾斜平皿使其布满培养皿底部。尽可能吸收多余液体,静置 (300 ± 30) s。

11.1.3.3 转移到试样

11.1.3.3.1 分别制备 6 个对照样和 6 个试样。

11.1.3.3.2 选取两个对照样:一个用于“0”接触时间,一个用于培养 48 h 后。将每个试样分别置于 11.1.3.2 制备的直径为 60 mm 的琼脂平皿或将一对试样同时放入直径为 90 mm 的琼脂平皿(避免两个试样重叠),并在试样上放置一 200 g 不锈钢柱, (60 ± 5) s 后取下不锈钢柱和试样。取一个对照样放入直径为 60 mm 的培养皿,接触面朝上,以备培养。将另一个对照样放入无菌袋或无菌螺口玻璃瓶,按 11.2 进行测试。

11.1.3.3.3 对其余 4 个对照样重复 11.1.3.3.2 操作。最终有 3 个对照样用于“0”接触时间测试,3 个对照样用于培养 48 h 后测试。

11.1.3.3.4 对 6 个试样重复 11.1.3.3.2 操作。其中 3 个试样用于“0”接触时间测试,3 个试样用于培养 48 h 后测试。

11.2 平皿计数法

11.2.1 接种后立即洗脱

对于吸收法,试样接种后立即向 6 个分别装有对照样和试样的螺口玻璃瓶(7.7)中分别加入 20 mL SCDLP 培养基(8.4.5),盖紧瓶盖,按 a)或 b)洗脱。

对于转移法,转移后随即将各试样分别放入装有 20 mL SCDLP 培养基的无菌袋或无菌螺口玻璃瓶中,按 a)、b)或 c)方法洗脱:

- a) 用振荡器振荡 5 个循环,每个循环 1 min;
- b) 手工摇晃,沿弧形轨迹手工摇晃试管或小瓶 5 个循环,每个循环 1 min,摆幅约 30 cm;
- c) 将一次性均质袋(7.28)放入浆式搅拌器(7.23)振荡,均质袋的每面 1 min。

11.2.2 培养 48 h

对于吸收法,将已接种的螺口玻璃瓶(7.7)(3 个对照样和 3 个试样)在 (30 ± 2) °C 条件下培养 (48 ± 2) h。

对于转移法,将已接种的培养皿(7.2)在 (30 ± 2) °C,相对湿度高于 95%条件中培养 (48 ± 2) h。

11.2.3 培养 48 h 后洗脱

对于吸收法,在培养后的各小瓶中分别加入 20 mL SCDLP 培养基,盖紧瓶盖,按 11.2.1 洗脱。

对于转移法,培养结束后,将各试样装入装有 20 mL SCDLP 培养基的无菌袋或无菌螺口玻璃小瓶,按 11.2.1 洗脱。

11.2.4 平皿计数法计数

11.2.4.1 制备稀释系列

11.2.4.1.1 制备 11.2.1 或 11.2.3 悬液作为稀释度为 10^0 的稀释悬液。

11.2.4.1.2 用移液管(7.9)移取 1 mL 11.2.1 或 11.2.3 洗脱液,将其加入装有 (9.0 ± 0.1) mL 含阴离子表面活性剂的无菌水(8.3)的试管中并混匀,作为稀释度为 10^{-1} 的稀释悬液。

11.2.4.1.3 依次重复以上步骤,分别制备稀释度为 10^0 和 10^{-1} 的稀释系列用于“0”接触时间和稀释度为 10^0 至 10^{-4} 的稀释系列用于培养 48 h 后测试。

11.2.4.2 系列稀释悬液的培养

在直径为 90 mm 装有 SDA(8.4.3)的培养皿(7.2)中计数。

11.2.4.2.1 在 SDA 培养基表面进行计数。用塑料或热灭菌移液管将 0.1 mL 洗脱液和 0.1 mL 稀释系列扩散到 SDA 培养基表面(每个培养皿单独计数)。

11.2.4.2.2 在 SDA 培养基内部计数。分别用新的移液管从稀释系列中各取 1 mL 分别注入 2 个培养皿(7.2)中。用水浴锅(7.30)将约 15 mL SDA 加热到 $45\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 46\text{ }^{\circ}\text{C}$,并加入培养皿中混匀。在室温中静置使之凝固。

11.2.4.2.3 将培养皿倒置,并在 $(28 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 24 h~48 h,观察真菌菌落生长。

11.2.4.3 菌落数的测定

11.2.4.3.1 培养后,计数出现 1 CFU~300 CFU 个菌落的稀释系列培养皿(7.2)上的菌落数。

11.2.4.3.2 按式(1)计算液体中的真菌浓度:

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1.1 \times d} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

N ——真菌浓度,单位为个菌落数每毫升(CFU/mL);

$\sum C$ ——两个连续稀释度培养皿上的菌落数之和,至少有一个不小于 5 CFU;

d ——两个连续稀释度中的第一个稀释系数;

1.1 ——两个连续稀释度的关联系数;

V ——每个培养皿接种的溶液体积(0.1mL)。

当所有培养皿中真菌浓度均未达到 5 CFU 时,试验无效。

示例:

第一个稀释度(10^{-2}):168 CFU

第二个稀释度(10^{-3}):14 CFU

$$N = \frac{168 + 14}{0.1 \times 1.1 \times 10^{-2}} = \frac{182}{0.0011} = 165\,454 \text{ (CFU/mL)} = 1.65 \times 10^5 \text{ (CFU/mL)}$$

12 试验结果

12.1 试验效果评价

当满足以下 a)、b) 和 c) 条件时, 试验结果有效(当试验结果无效时应重新进行试验):

- a) 试验接种孢子悬液浓度应为 1×10^5 CFU/mL $\sim 3 \times 10^5$ CFU/mL;
- b) 接种结束时 3 个对照样真菌数极值的常用对数的差值应小于 1。该差值在培养结束后仍应小于 1;
- c) 根据式(2)计算得到的真菌增长值应大于 1.0。

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

式中:

F ——对照样的真菌增长值;

C_t ——3 个对照样接种并培养(48 \pm 2)h 后的真菌数的算术平均值;

C_0 ——3 个对照样接种后“0”接触时间测得的真菌数的算术平均值。

12.2 抑菌值的计算

当符合 12.1 要求时, 试验有效。当试验无效时应重新进行试验。

对于有效试验, 利用式(3)计算抑菌值。

$$A = (\lg C_t - \lg C_0) - (\lg T_t - \lg T_0) = F - G \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

A ——抑菌值;

F ——对照样的增长值, $F = \lg C_t - \lg C_0$;

G ——抗真菌整理试样的增长值, $G = \lg T_t - \lg T_0$;

T_t ——3 个试样接种并培养(48 \pm 2)h 后的真菌数的算术平均值;

T_0 ——3 个试样接种后“0”接触时间测得的真菌数的算术平均值。

12.3 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。

13 试验报告

报告应包含以下内容:

- a) 本部分编号;
- b) 样品描述;
- c) 对照样的类型;
- d) 试验真菌的类型和描述;
- 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) 每个试样的抑菌值 A ;
- j) 如果需要, 给出抗真菌效果评价;
- k) 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	菌株编号	保藏号	菌株保藏机构
黑曲霉 (<i>Aspergillus niger</i>)	WDCM 00144	ATCC 6275	美国模式培养物研究所(美国) (American Type Culture Collection)
			巴斯德研究所(法国) (Pasteur Institute Collection)
		UMIP 2475.98 DSM 1957	德国培养物及细胞保藏联盟(德国) (German Collection of Microorganism and Cell Cultures)
		NBRC 105649	国家技术与评估研究所,生物资源中心(日本) (National Institute of Technology and Evaluation, Biological Resource Center)
		CICC 2475	中国工业微生物菌种保藏管理中心(中国) (China Center of Industrial Culture Collection)
巴西曲霉 (<i>A.brasiLiensis</i>)	WDCM 00053 ^a	ATCC 16404	a
		UMIP 1431.8	
		DSM 1387	
		NBRC 9455	
		CICC 40372	
a 未全部列出。			

注：经验证后可使用其他真菌菌株。

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，即与对照样相比，抗真菌整理织物的真菌生长较慢或无生长。

表 B.1 抗真菌性效果示例

项目	抑菌值 A /培养后真菌数 T_t	抗真菌效果说明
抗真菌效果评价	$A < 1$	无效
	$2 > A \geq 1$	轻微抗真菌
	$3 > A \geq 2$	中等抗真菌
	$A \geq 3$	全效抗真菌
	$T_t = 0$	杀真菌

参 考 文 献

- [1] GB/T 8629 纺织品 试验用家庭洗涤和干燥程序
 - [2] EN 14119:2003 Testing of textiles—Evaluation of the action of microfungi
-

