



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3840.2—2014

---

## 鞋类和鞋材 抗真菌性能测试方法

Footwear and footwear components—  
Test methods to assess anti-epiphyte activity

2014-01-13 发布

2014-08-01 实施

---

中 华 人 民 共 和 国  
国家质量监督检验检疫总局 发 布

## 前 言

SN/T 3840《鞋类和鞋材》共分为 2 部分：

——第 1 部分：抗细菌性能测试方法；

——第 2 部分：抗真菌性能测试方法。

本部分为 SN/T 3840 的第 2 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分起草单位：中华人民共和国福建出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：陈学灿、郑晶、郑麟毅、黄晓蓉、吴谦、董健、郑洁、陈彬、林杰。

## 鞋类和鞋材 抗真菌性能测试方法

### 1 范围

SN/T 3840 的本部分规定了鞋类及鞋材抗真菌能力的测试方法。  
本部分适用于抗菌鞋用材料和鞋类产品。

### 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。

SN/T 1538.1 培养基制备指南 第1部分:实验室培养基制备质量保证通则

SN/T 1538.2 培养基制备指南 第2部分:培养基性能测试实用指南

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**抗真菌性能 anti-epiphyte activity**  
产品所具有的抑制真菌繁殖的性能。

#### 3.2

**对照样 contrast samples**  
用于确认测试真菌生长条件的鞋类材料。  
注:等同于未经抗菌处理的材料样品。

### 4 设备和材料

- 4.1 恒温恒湿培养箱:温度能保持在 $(28\pm 2)^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度能保持在 $90\%\pm 5\%$ 。
- 4.2 二级生物安全柜。
- 4.3 天平:感量 0.001 g。
- 4.4 冰箱:维持温度在 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 之间。
- 4.5 高压灭菌器:温度能保持在 $121^{\circ}\text{C}$ ,压力保持在 103 kPa。
- 4.6 培养皿:直径 90 mm。
- 4.7 移液器:适合每次使用的量程,带塑料吸嘴,误差不高于 0.5%。
- 4.8 离心机:转速 4 000 r/min。
- 4.9 三角瓶、试管、玻璃棒、玻璃珠等玻璃器皿。
- 4.10 喷雾器:粒径小于 50  $\mu\text{m}$ 。
- 4.11 pH 计:读数精度 0.1。
- 4.12 试验箱:塑料、玻璃等材质制成的密闭箱,尺寸不小于 200 mm $\times$ 100 mm $\times$ 100 mm。

## 5 培养基和试剂

- 5.1 无机盐培养液,培养基和试剂的配制方法见附录 A。
- 5.2 无机盐琼脂培养基。
- 5.3 马铃薯-蔗糖培养基。
- 5.4 吐温 80。
- 5.5 无菌水。

## 6 试验菌种

试验菌种如下:

- a) 黑曲霉(*Aspergillus niger*) CGMCC 3.5487ak ATCC 16404;
- b) 球毛壳霉(*Chaetomium globosum*) CGMCC 3.3601 或 ATCC 6205;
- c) 绳状青霉(*Penicillium funiculosum*) CGMCC 3.3875 或 ATCC 10509;
- d) 绿色木霉(*Trichoderma viride*) CGMCC 3.2941 或 ATCC 28020。

## 7 试验菌孢子液的制备

- 7.1 将霉菌孢子接种于马铃薯-蔗糖培养基斜面,在 $(28\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 培养至斜面长满霉菌孢子(7 d~12 d)。
- 7.2 取 10 mL 无菌水导入培养好的斜面中,用无菌接种环轻刮菌种表面洗出孢子,把洗出的孢子液倒入含玻璃珠的三角瓶中。
- 7.3 振荡三角瓶以充分混匀孢子液,并使成团的孢子分散。孢子液用快速定性滤纸过滤,除去菌丝碎片、琼脂块和孢子团。
- 7.4 以 4 000 r/min 的速度离心已过滤的孢子液,去掉上层清液。用 50 mL 无菌水洗涤沉淀,再离心。如此重复清洗孢子 3 次。孢子液用无机盐培养液(5.1)稀释,用血细胞计数板测定孢子含量,制备的孢子液应含有孢子 $(1\times 10^6)$ 个/mL~ $(5\times 10^6)$ 个/mL。最后将各种霉菌的孢子液以等体积混合,这样获取的孢子悬液即为试验用孢子液。也可采用活菌计数法等其他适当的计数方法测定孢子含量。

## 8 测试样制备

### 8.1 鞋垫

从鞋垫或相同材料中制备边长为 $(38\pm 5)$ mm 正方形测试样,共 6 片,用高压蒸汽( $121^{\circ}\text{C}$ , 103 kPa)灭菌 15 min,或选择其他适合的灭菌方法进行灭菌处理。测试面为与脚接触的一面。

如果鞋垫的材料不只一种,应对不同材料分别进行取样。

### 8.2 衬里

从成鞋衬里或相同材料中制取边长为 $(38\pm 5)$ mm 正方形测试样,共 6 片,用高压蒸汽( $121^{\circ}\text{C}$ , 103 kPa)灭菌 15 min,或选择其他适合的灭菌方法进行灭菌处理。测试面为与脚接触的一面。

如果衬里材料不只一种,应对不同材料分别进行取样。

### 8.3 对照样的制备

对照样可从未经抗菌处理的相同材料中制备。若上述材料不可获得,可采用未经抗菌处理的

100%棉织物。可采用色牢度试验用的棉标准贴衬织物,经高温蒸煮并用蒸馏水洗涤作为对照样。对照样的其他制备要求与测试样相同。

## 9 检测方法

### 9.1 培养皿法

#### 9.1.1 培养基平皿的准备

加热融化无机盐琼脂培养基,冷却至 50℃~60℃,倒入 20 mL~25 mL 培养基于灭菌培养皿中,室温下冷却凝固。

#### 9.1.2 接种

##### 9.1.2.1 测试样接种

在培养基表面放上一片测试样,用吸取 1 mL 孢子液均匀分配接种到整个测试样的表面。对于薄的测试样,应尽可能保留孢子液于测试样内,必要时可多块拼凑来达到吸入菌液量的要求。待试样表面水分稍干后盖好皿盖。每个样品做 3 个平行测试样。

如果样品有涂层,宜在孢子液内加入 0.05%~0.5%吐温 80。

##### 9.1.2.2 对照样接种

按 9.1.2.1 的方法接种 3 个对照样品。

##### 9.1.2.3 空白试验

取 3 片测试样作为空白测试样,分别平放在无菌的无机盐琼脂培养基上,接种 1 mL 无菌水到每个测试样上,待测试样表面水分稍干后盖好皿盖。

### 9.1.3 培养

把已接种的测试样、对照样和空白试验样放在恒温恒湿培养箱中,在 $(28\pm 2)^\circ\text{C}$ 和相对湿度 $90\%\pm 5\%$ 的条件下培养 28 d。

## 9.2 悬挂法

### 9.2.1 试验箱要求

试验箱的大小与形状应能保证放置的样品有足够的空间,不互相干扰,并保持试验箱内相对湿度为 $90\%\pm 5\%$ 。

### 9.2.2 接种

#### 9.2.2.1 测试样接种

用喷壶采用喷洒方式将 1 mL 孢子液均匀分布于试样的两面,雾粒喷洒到测试样表面不应形成明显液滴。每个样品做 3 个平行测试样。

如果测试样无法吸收 1 mL 孢子液,只要将试样整个表面均匀喷洒孢子液,不滴落即可。

#### 9.2.2.2 对照样接种

按 9.2.2.1 的方法接种 3 个对照样。

SN/T 3840.2—2014

9.2.2.3 空白测试样接种

取 1 mL 无菌水代替孢子液,按 9.2.2.1 的方法接种于测试样表面,作为空白试验样,每种样品做 3 个平行测试样。

9.2.3 试样的放置

测试样、对照样和空白测度样稍微晾干后,分别悬挂于 3 个不同的试验箱中,注意试样放置时不得互相接触。

9.2.4 培养

把放置了测度样、对照样和空白测试样的试验箱放在恒温恒湿培养箱中,在(28±2)℃和相对湿度 90%±5%的条件下培养 28 d。

10 结果评价

10.1 试验结果的观察

培养结束后,将测试样、对照样和空白测试样从恒温恒湿培养箱中取出,直接从正面或侧面观察试样表面霉菌生长情况。先用肉眼观察,如有必要,再用显微镜(放大倍数约为 50 倍)进行检查。

10.2 试验有效性的判定

当霉菌在对照样表面的覆盖面积大于 60%,空白测试样表面肉眼观察不到霉菌生长时,该试验被判定有效,否则试验无效,应重新进行试验。

10.3 抗真菌性能评价

按表 1 评价样品的抗真菌等级,并以 3 个平行试验样品的防霉等级中数字最大的结果作为该样品的等级评价结果。

表 1 抗真菌效果评价

霉菌生长情况	抗真菌等级
在放大镜下无明显长霉	0
霉菌生长稀少或局部生长,在样品表面的覆盖面积小于 10%	1
霉菌在样品表面的面积覆盖率为 10%~30%	2
霉菌在样品表面的面积覆盖率 30%~60%	3
霉菌在样品表面的面积覆盖率达到或超过 60%	4

11 检测报告

检测报告必须至少包含下列信息:

- a) 检测标准名称;
- b) 样品和对照样的描述;
- c) 样品的预处理(例如,灭菌方法等);

- d) 试验菌种名称、编号、代数及接种菌浓度；
- e) 试验方法(培养皿法或悬挂法)；
- f) 试验温湿度和试验周期；
- g) 霉菌生长情况和抗真菌效果的评价；
- h) 任何偏离本方法的情况；
- i) 试验人员和试验日期。

SN/T 3840.2—2014

附 录 A  
(规范性附录)  
培养基及试剂

按 SN/T 1538.1、SN/T 1538.2 进行培养基的制备与性能测试。本实验所用试剂级别均为化学纯。

A.1 无机盐营养液

A.1.1 成分

磷酸二氢钾(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	2.5 g
硫酸镁(MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O)	0.2 g
硝酸铵(NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> )	3.0 g
硫酸亚铁(FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O)	0.1 g
磷酸氢二钾(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.1.2 制法

将上述无机盐加水溶解后,用 3.2 g/L NaOH 调节 pH 值至 6.0~6.5,分装三角瓶,于 121 ℃、103 kPa 蒸汽压力下灭菌 20 min。

A.2 无机盐琼脂培养基

A.2.1 成分

无机盐营养液(A.1)	1 000 mL
琼脂	20.0 g

A.2.2 制法

将琼脂加入无机盐营养液中,加热溶解定容,分装三角瓶,于 121 ℃、103 kPa 蒸汽压力下灭菌 20 min。

A.3 马铃薯-蔗糖培养基

A.3.1 成分

马铃薯	200 g
蔗糖	20 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

A.3.2 制法

将马铃薯去皮切块,加蒸馏水加热煮沸,20 min 后过滤,取汁。加入其他成分,定容至 1 000 mL,加热完全溶化后分装入试管,于 121 ℃、103 kPa 蒸汽压力下灭菌 20 min,趁热取出试管,分开斜放,待其



自然凝固成斜面后备用。

#### A.4 分散剂

聚山梨醇酯 80(吐温 80)。

#### A.5 无菌水

用 100 mL 蒸馏水加 0.05 g 分散剂,充分混匀后,按每支 10 mL 分装到无色玻璃试管中,于 121 ℃、103 kPa 蒸汽压力下灭菌 20 min 后备用。

---