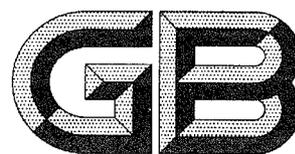


ICS 59.080.30
W 04



中华人民共和国国家标准

GB/T 20944.2—2007

上海若祎新材料科技有限公司 扫描
仅供参考 严禁将文档用于商业收费活动

纺织品 抗菌性能的评价 第2部分：吸收法

Textiles—Evaluation for antibacterial activity—
Part 2: Absorption method

2007-06-14 发布

2008-01-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

前 言

GB/T 20944《纺织品 抗菌性能的评价》包括如下 3 个部分：

——第 1 部分：琼脂平皿扩散法；

——第 2 部分：吸收法；

——第 3 部分：振荡法。

本部分为 GB/T 20944 的第 2 部分。

本部分中试验方法参考了国际标准草案 ISO/DIS 20743:2005《纺织品——抗菌整理产品抗菌活性的测定》中的吸收法。

本部分由中国纺织工业协会提出。

本部分由全国纺织品标准化技术委员会基础分会(SAC/TC 209/SC 1)归口。

本部分主要起草单位：国家棉纺织产品质量监督检验中心、深圳市北岳海威化工有限公司、北京洁尔爽高科技有限公司、波司登股份有限公司、江苏 AB 集团有限责任公司、上海市纺织科学研究院南测中心、苏州市纤维检验所和纺织工业标准化研究所。

本部分主要起草人：郑宇英、商成杰、邹海清、高德康、张华、姜建英、刘晨、薛正元。

纺织品 抗菌性能的评价

第2部分:吸收法

1 范围

GB/T 20944 的本部分规定了采用吸收法测定纺织品抗菌性能的定量试验和评价方法。
本部分适用于羽绒、纤维、纱线、织物和制品等各类纺织产品。
本部分不涉及抗菌产品安全性的评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 20944 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB/T 12490—1990 纺织品耐家庭和商业洗涤色牢度试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于 GB/T 20944 的本部分。

3.1

抗菌性能 antibacterial activity
产品所具有的抑制细菌繁殖的性能。

3.2

对照样 control fabric

用于验证试验细菌生长条件的、不经任何处理的 100 % 棉织物。

注 1: 已被证明采用色牢度试验用的棉标准贴衬织物,经高温蒸煮和蒸馏水洗涤后作为对照样是合适的。

注 2: 如果需要,也可采用与试样材质相同但未经抗菌整理的材料作为对照样。

4 安全预防措施

本方法需要使用细菌,并且具有促进细菌繁殖的条件,所以应在规定的试验环境下由经过培训的人员进行试验。

5 原理

将试样与对照样分别用试验菌液接种。分别进行立即洗脱和培养后洗脱,测定洗脱液中的细菌数并计算抑菌值或抑菌率,以此评价试样的抗菌效果。

6 设备

- 6.1 分光光度计:检测波长 660 nm。
- 6.2 恒温培养箱:温度能保持在 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.3 水浴锅:温度能保持在 $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.4 恒温调速摇瓶柜。
- 6.5 冰箱:温度能保持在 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 。

GB/T 20944.2—2007

- 6.6 高压灭菌锅:温度能保持在 121℃,压力能保持在 103 kPa。
- 6.7 玻璃小瓶:平底圆柱,容量约为 30 mL,带有瓶盖。
- 6.8 玻璃或聚苯乙烯制平皿:直径 90 mm~100 mm 或 55 mm~60 mm。
- 6.9 旋涡式振荡器。
- 6.10 二级生物安全柜。
- 6.11 试管、烧瓶等实验室常用器具。

7 培养基和试剂

试验所用试剂应是分析纯的或适用于微生物试验用的。试验用水应是用于制备微生物培养基的分析级的纯水,可用蒸馏、离子交换或用反渗透装置过滤等方法制取,应无毒和无抑菌物质。

注:建议使用现有商业化的脱水原料制备培养基,并严格按照相关产品制造商的使用说明操作。

7.1 大豆蛋白胨肉汤(TSB)

胰蛋白胨	15 g
大豆蛋白胨	5 g
氯化钠	5 g
水	(最终定容至)1 000 mL

灭菌后,pH 值为 7.2±0.2。

7.2 大豆蛋白胨琼脂培养基(TSA)

胰蛋白胨	15 g
大豆蛋白胨	5 g
氯化钠	5 g
琼脂粉	15 g
水	(最终定容至)1 000 mL

灭菌后,pH 值为 7.2±0.2。

7.3 营养肉汤(NB)

牛肉膏	3 g
蛋白胨	5 g
水	(最终定容至)1 000 mL

灭菌后,pH 值为 7.0±0.2。

7.4 SCDLP 液体培养基

酪蛋白胨	17 g
大豆蛋白胨	3 g
氯化钠	5 g
磷酸氢二钾	2.5 g
葡萄糖	2.5 g
卵磷脂	1 g
聚山梨醇酯 80(吐温 80)	7 g
水	(最终定容至)1 000 mL

灭菌后,pH 值为 7.0±0.2。

7.5 稀释液

胰蛋白胨	1 g
氯化钠	8.5 g
蒸馏水	(最终定容至)1 000 mL

灭菌后,pH 值为 7.0 ± 0.2 。

7.6 计数培养基 (EA)

脱水酵母膏	2.5 g
胰酪蛋白胨	5.0 g
葡萄糖	1.0 g
琼脂粉	12 g ~ 18 g (根据产品的凝胶度决定)
水	(最终定容至)1 000 mL

灭菌后,pH 值为 7.2 ± 0.2 。

8 试验细菌

8.1 菌种

应使用下列革兰氏阳性和其中一种革兰氏阴性菌种。

——金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) 革兰氏阳性；

——肺炎克雷白氏菌 *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352) 革兰氏阴性；

——大肠杆菌 *Escherichia coli* (8099 或 ATCC 11229) 革兰氏阴性。

注 1: 可使用加入世界菌种保藏联合会(WFCC)的菌种保藏机构提供的、与上述菌种等效的试验细菌。

注 2: 根据需要,可采用其他的试验菌种,培养基成分、培养温度和培养方法可根据需要调整。

8.2 冻干菌的活化

将冻干菌融化分散在 5 mL 的 TSB(7.1)中成悬浮状,在 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 下培养 18 h~24 h。

用接种环取菌悬液以划线法接种到 TSA(7.2)平皿上,在 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 下培养 18 h~24 h。

从培养皿上取典型菌落接种在 TSA(7.2)斜面试管内,在 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 下培养 18 h~24 h。

将斜面试管贮存于冰箱内($5^{\circ}\text{C} \sim 10^{\circ}\text{C}$),作为保存菌,保存期不超过一个月,每月传代一次,传代次数不超过 10 代。

8.3 标识

对每个试验细菌应标注如下信息:

- 供应冻干菌的菌种保藏机构名称;
- 冻干菌的名称和编号;
- 冻干菌的批号;
- 冻干菌激活日期;
- 保存菌的贮藏日期;
- 保存菌的实验室编号。

9 试验菌液的培养和制备

9.1 培养 A

用接种环取保存菌(8.2),以划线法接种 EA(7.6)平皿上, $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 下培养 $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ 。

注:该平皿在 $5^{\circ}\text{C} \sim 10^{\circ}\text{C}$ 条件下保存,在 1 周内使用。

9.2 培养 B

取肉汤 NB(7.3)或 TSB(7.1) 20 mL 放入 100 mL 的锥形烧瓶内,用接种环取培养 A(9.1)的典型菌落接种在肉汤内培养,培养条件为温度 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,振动频率 110 min^{-1} ,时间 18 h~24 h。

最后用 NB(7.3)调节菌液浓度为 $1 \times 10^8 \text{ CFU/mL} \sim 3 \times 10^8 \text{ CFU/mL}$ 。

9.3 培养 C

取肉汤 NB(7.3)或 TSB(7.1) 20 mL 放入 100 mL 的锥形烧瓶内,从培养 B(9.2)取 0.4 mL 菌液加入瓶内培养,培养后的菌浓度为 10^7 CFU/mL 。培养条件为:温度 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,振动频率 110 min^{-1} ,

时间 $3\text{ h} \pm 1\text{ h}$ 。

注：该培养液冰冷($3^{\circ}\text{C} \sim 4^{\circ}\text{C}$)保存，在 8 h 内使用。

9.4 试验菌液的制备

用水对肉汤 NB(7.3)进行 20 倍稀释，调节培养 C(9.3)的菌液浓度为 $1 \times 10^5\text{ CFU/mL} \sim 3 \times 10^5\text{ CFU/mL}$ ，作为试验菌液。采用分光光度计或适当的方法测定菌液浓度。

注：该试验菌液冰冷($3^{\circ}\text{C} \sim 4^{\circ}\text{C}$)保存，在 4 h 内使用。

10 试样的准备

10.1 样品洗涤

如果考核抗菌耐洗性能，从每个大样中取 3 个小样(每个尺寸 $10\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ ，剪成 2 块)，按 GB/T 12490—1990 中的试验条件 A1M 进行洗涤，采用 ECE 标准洗涤剂，清洗结束作为 5 次洗涤(相当于 5 次洗涤的具体操作条件和步骤： 40°C ，150 mL 溶液，钢珠 10 粒，洗 45 min，洗涤后取出试样，在 40°C 和 100 mL 的水中清洗两次，每次 1 min)。达到规定的洗涤次数后，用水充分清洗样品，晾干。

10.2 试样质量

从每个样品上选取有代表性的试样，剪成适当大小，称取 $0.40\text{ g} \pm 0.05\text{ g}$ 作为一个试样。分别取 3 个待测抗菌性能试样和 6 个对照样。

注：3 个对照样用于接种细菌后立即测定细菌数，其余 3 个对照样和 3 个待测抗菌性能试样用于细菌接种并培养后的测定细菌数。

10.3 试样放置

将每一个试样分别放置在小玻璃瓶内。

- 易卷曲的织物试样，在其上压一玻璃棒，或用线将其两边固定。
- 纱线试样宜两头扎成束状，在其上压一玻璃棒。
- 对于地毯或类似结构样品，剪取样品上的起绒部分作为试样，在其上压一玻璃棒。
- 羽绒、纤维、絮片等蓬松试样上压一玻璃棒。

10.4 试样灭菌

根据试样的纤维和整理类型选择灭菌方法。一般采用高压锅灭菌法。用适当的材料将装入试样的小玻璃瓶和瓶盖分别包覆后放入高压消毒锅内消毒(121°C ，103 kPa，15 min)。从高压消毒锅取出小瓶和瓶盖，去掉包覆材料，放在干净工作台上干燥 60 min 后盖上瓶盖。

如果高压锅法不适用，可采用环氧乙烷或其他合适方法对试样进行灭菌，并在试验报告中说明。

11 试验步骤

11.1 试样的接种

分别用移液器准确取试验菌液(9.4)0.2 mL，分散接种在每个小瓶内的试样(10.3 或 10.4)上，确保菌液不要沾在瓶壁，盖紧瓶盖。

注：为使菌液在试样上浸透，也可使用含有 0.05% 的非离子表面活性剂的试验菌液，但应在试验报告中注明。

11.2 接种后立即洗脱

在已接种试验菌液的 3 个对照样小瓶(11.1)中，分别加入 SCDLP 培养基(7.4)20 mL，盖紧瓶盖，用手摇晃 30 s(摆幅约 30 cm)，或用振荡器振荡 5 次(每次 5 s)，将细菌洗下。

11.3 培养

将接种试验菌液的其余 6 个小瓶(3 个对照样和 3 个试样)在 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 下培养 18 h~24 h。

11.4 培养后洗脱

在培养后(11.3)的各小瓶中，分别加入 SCDLP 培养基(7.4)20 mL，盖紧瓶盖，用手摇晃 30 s(摆幅约 30 cm)，或用振荡器振荡 5 次(每次 5 s)，将细菌洗下。

11.5 菌落数的测定

用一移液器取 1 mL 的洗脱液(11.2 或 11.4),注入装有 9 mL 稀释液(7.5)的试管内充分振荡。用一新移液器从该试管中取 1 mL 溶液,注入另一个装有 9 mL 稀释液(7.5)的试管内充分振荡。以此程序操作,对 11.2 和 11.4 的洗脱液分别制作 10 倍稀释系列。

分别用新的移液器从稀释系列的各试管取 1 mL 溶液注入平皿内,再加入 45℃~46℃ 的 EA(7.6) 约 15 mL,盖好盖子,在室温下放置。一个稀释液制作 2 个平皿。待培养基凝固后,将平皿倒置,37℃±2℃ 下培养 24 h~48 h。

培养后,计数出现 30 个~300 个菌落平皿上的菌落数(CFU)。若最小稀释倍数的菌落数<30,则按实际数量记录;若无菌落生长,则菌落数记为“<1”。

分别记录 3 个对对照样接种后立即洗脱的菌落数,以及 3 个待测抗菌性能试样和 3 个对对照样培养后洗脱液的菌落数。

12 结果的计算和评价

12.1 细菌数的计算

根据两个平皿得到的菌落数,按式(1)计算细菌数。

$$M = Z \times R \times 20 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

M ——每个试样的细菌数;

Z ——二个平皿菌落数(CFU)的平均值;

R ——稀释倍数;

20——洗脱液的用量,单位为毫升(mL)。

12.2 试验有效性的判定

根据式(2)计算细菌增长值 F ,当 F 大于或等于 1.5 时,试验判断为有效;否则试验无效,重新进行试验。

$$F = \lg C_1 - \lg C_0 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

F ——对照样的细菌增长值;

C_1 ——3 个对对照样接种并培养 18 h~24 h 后测得的细菌数的平均值;

C_0 ——3 个对对照样接种后立即测得的细菌数的平均值。

12.3 抑菌值的计算

对于试验有效的,按式(3)计算抑菌值,修约至小数点后一位。

$$A = \lg C_1 - \lg T_1 \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

A ——抑菌值;

T_1 ——3 个试样接种并培养 18 h~24 h 后测得的细菌数的平均值。

12.4 抑菌率的计算

如果需要,按式(4)计算抑菌率,数值以百分率(%)计,修约至整数位。

$$\text{抑菌率} = \frac{C_1 - T_1}{C_1} \times 100 \quad \dots\dots\dots(4)$$

12.5 结果的表达

以抑菌值或抑菌率的计算值作为结果。当抑菌值或抑菌率计算值为负数时,表示为“0”;当抑菌率计算值>99%时,表示为“>99%”。

12.6 抗菌效果的评价

当抑菌值 ≥ 1 或抑菌率 $\geq 90\%$,样品具有抗菌效果。当抑菌值 ≥ 2 或抑菌率 $\geq 99\%$,样品具有良好的抗菌效果。

13 试验报告

报告应包括下列内容:

- a) 试验是按本部分进行的;
 - b) 样品和对照样的描述;
 - c) 样品的预处理(例如,灭菌方法、洗涤次数);
 - d) 试验菌种名称、编号及接种菌浓度;
 - e) 对照样的增长值 F ,包括 C_1 和 C_0 ;
 - f) 试样的 T_1 ;
 - g) 抑菌值和(或)抑菌率;
 - h) 抗菌效果的评价;
 - i) 试验人员和试验日期;
 - j) 试验菌液中添加的表面活性剂名称和浓度;
 - k) 任何偏离本部分的情况。
-

