

ICS 59.140.30  
分类号: Y46  
备案号: 32266-2011

QB

# 中华人民共和国轻工行业标准

QB/T 4199—2011

---

## 皮革 防霉性能测试方法

Leather—Test method for antimould

2011-06-15 发布

2011-10-01 实施

---

中华人民共和国工业和信息化部 发布

返回

# 皮革 防霉性能测试方法

## 1 范围

本标准规定了皮革的防霉性能测试方法。  
本标准适用于各种半成品革、皮革。

## 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 4789.15 食品卫生微生物学检验 霉菌和酵母计数

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法（GB/T 6682—2008，ISO 3696:1987，MOD）

QB/T 2707 皮革 物理和机械试验 试样的准备和调节（QB/T 2707—2005，ISO 2419:2002，MOD）

## 3 原理

将霉菌接种于待测样品上，在规定条件下培养一定时间后，观察样品表面霉菌生长情况，然后判断样品的防霉性能。

## 4 设备和材料

- 4.1 恒温培养箱，可控温度（25±1）℃。
- 4.2 冰箱，可控温度0℃～5℃。
- 4.3 生物安全柜，二级。
- 4.4 光学显微镜，放大倍数5倍～50倍。
- 4.5 压力蒸汽灭菌器，5L。
- 4.6 离心机，2000r/min，能控制温度至-5℃。
- 4.7 振荡器，振荡频率50r/min～150r/min。
- 4.8 电子天平，精度0.01g。
- 4.9 培养皿，三分格，直径100mm。
- 4.10 模刀，圆形，内直径25mm。
- 4.11 医用胶带。

## 5 样品的制备

### 5.1 对照样品

按附录A进行制备，阴性对照样品、阳性对照样品各两个。测试前将对照样品从冰箱中取出，解冻至室温。

- 阴性对照样品，编号A；
- 阳性对照样品，编号B。

### 5.2 测试样品

测试样品，编号C。用模刀（4.10）切取三个样品，其中两个为测试样品，另一个为备用样品，按QB/T 2707进行空气调节。

6 培养基和试剂

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和符合GB/T 6682规定的三级水。

6.1 格林氏溶液

按表1规定进行配制。

表1 格林氏溶液的组分

组 分	用 量
水（新煮沸后冷却至室温）	1000mL
NaCl	6.5g~7.5g
KCl	0.09g~0.14g
CaCl <sub>2</sub>	0.11g~0.12g
NaHCO <sub>3</sub>	0.20g~0.22g

6.2 培养基的配制

6.2.1 孟加拉红培养基

按表2规定进行配制，加热溶解后，用0.1mol/L NaOH溶液调节pH至7.0~7.2，分装后置于压力蒸汽灭菌器（4.5）内，121℃灭菌15min。

表2 孟加拉红培养基组分

组 分	用 量
水（新煮沸后冷却至室温）	900mL
1/3000孟加拉红溶液	100mL
蛋白胨	5.0g
葡萄糖	10.0g
琼脂	20.0g
氯霉素	0.1g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5g

6.2.2 斜面培养基

取蛋白胨10.0g，牛肉膏3.0g，氯化钠5.0g，琼脂20.0g，加入1000mL蒸馏水，加热溶解并搅拌，煮沸1min，加入到直径15mm的试管中（不超过体积的1/5），置于压力蒸汽灭菌器内，121℃灭菌15min，冷却至60℃时，摆斜面。

6.3 润湿剂

选择 N-甲基乙磺酸、吐温 80、二辛磺化丁二酸钠三种试剂中的任意一种，制成含 0.05%润湿剂的水溶液，调节 pH 至 6.0~6.5，置于压力蒸汽灭菌器内，115℃灭菌 30min。

7 检测用菌种的准备

7.1 检测用菌种

检测用菌种见表3，防霉性能测试应在具有生物安全防护的霉菌实验室进行。

表3 检测用的菌种

序号	菌种 <sup>a</sup> 名称	菌种编号
1	黄曲霉 ( <i>Aspergillus flavus</i> )	ATCC 10836
2	黑曲霉 ( <i>Aspergillus niger</i> )	ATCC 6275
3	大毛霉 ( <i>Mucor mucedo</i> )	ATCC 48559
4	产黄青霉 ( <i>Penicillium chrysogenum</i> )	ATCC 9179
5	桔灰青霉 ( <i>Penicillium aurantiogriseum</i> )	ATCC 16025
6	变幻青霉 ( <i>Penicillium variable</i> )	ATCC 32333
7	马氏拟青霉 ( <i>Paecilomyces marquandii</i> )	ATCC 10525
8	绿色木霉 ( <i>Trichoderma viride</i> )	IFO 31137

<sup>a</sup> 根据产品的使用要求, 可选用其他菌种作为检测菌种, 但选用的菌种应具有相应的标准菌种合格证明。

## 7.2 菌种培养和保藏

准备8个斜面培养基(6.2.2), 将8类菌种分别单独接种, 放入恒温培养箱(4.1), 在温度(25±1)℃下培养7d~14d后, 于2℃~10℃下储藏(不应超过三个月), 作为保藏菌。

## 7.3 孢子悬液的制备

7.3.1 在培养好的菌种(7.2)中加入10mL含有0.05%湿润剂的水溶液(6.3)。

7.3.2 用灭菌接种针轻轻刮取培养物的表面, 使孢子成游离状态, 轻轻摇动孢子悬液, 使其分散开, 然后将悬液轻轻倒入含有玻璃珠的锥形瓶中。

7.3.3 将装有孢子悬液的锥形瓶放在振荡器(4.7)中, 振荡2h~3h, 使孢子群完全分散开, 然后用纱布过滤以除去菌丝, 得到孢子悬液。

按GB/T 4789.15的规定, 用生理盐水调节混合孢子悬浮液密度, 利用血球计数板计数, 使悬浮液中孢子浓度为(5±0.2)×10<sup>5</sup>cfu。

7.3.4 重复7.3.1~7.3.3, 将8种霉菌分别制成孢子悬液, 然后将8种孢子悬液混合在一起, 充分振荡使其均匀分散, 得到混合霉菌孢子悬液。

混合霉菌孢子悬液应当天使用, 若不在当天使用, 应于0℃~10℃下贮存, 4日内使用。

## 7.4 霉菌活性控制

7.4.1 无菌培养皿中注入孟加拉红培养基(6.2.1), 厚度3mm~6mm, 凝固后待用(48h内使用)。

7.4.2 剪取直径25mm的圆形无菌滤纸, 铺在已凝固的培养基上, 用装有新制备的混合霉菌孢子悬液(7.3.4)的喷雾器, 将孢子悬液充分均匀地喷在培养基和滤纸上。在温度28℃、相对湿度90%的条件下培养7d, 滤纸上明显有菌生长, 否则应重新制备混合霉菌孢子悬液。

## 8 样品测试

8.1 取两个三分格培养皿(4.9), 在每个培养皿的三分格外壁分别贴好A、B、C标签, A为阴性对照样品, B为阳性对照样品, C为测试样品, 平行测定。

8.2 将滤纸折叠好, 剪去尖角后放入培养皿中, 用移液管移取少量无菌水使滤纸润湿。

8.3 将两组样品分别放入两个培养皿中对应的分格内, 粒面(使用面)向上。

注: 如果样品表面霉菌生长不明显, 但样品的边缘霉菌生长明显, 则测试样品的另一个面的防霉性能, 并在试验报告中注明。

8.4 从冰箱中取出混合霉菌孢子悬液(7.3.4),温度平衡至室温后,移取约1mL的混合霉菌孢子悬液放入1mL离心试管中,在温度10℃~15℃、转速2000 r/min条件下,离心处理20min。

注:混合霉菌孢子悬液的移取量由离心管的体积决定,通常移取1mL。

8.5 用无菌移液器小心移除上层清液,加入0.25mL格林氏溶液(6.1)稀释、混匀霉菌孢子。

8.6 在培养皿中每个样品的中央部位各加入10μL的混合霉菌孢子悬液(8.5),然后用医用胶带(4.11)密封培养皿,防止污染。

8.7 将培养皿置于(25±2)℃、饱和湿度的培养箱中,连续培养28d。

## 9 等级评价

### 9.1 检查

每隔7d用50倍光学显微镜(4.4)检查霉菌生长情况,检查4次(检查时间共28d)。第一次检查时如果发现阴性测试样品A上无霉菌生长,则该次测试无效,应重新用孢子接种,然后再培养。

### 9.2 等级判定

根据对照样品、测试样品的霉菌生长情况进行判定,应符合表4规定。

表4 等级判定

等级	样品测试表面霉菌生长情况			等级说明
	阴性对照样品A	阳性对照样品B	测试样品C	
1级	霉菌生长明显	无霉菌生长	无霉菌生长	具有防霉性
2级	霉菌生长明显	无霉菌生长	霉菌生长明显,面积≤1/3	防霉性较差
3级*	霉菌生长明显	无霉菌生长	霉菌生长明显,面积>1/3	无防霉性
无效重做	样品A表面无霉菌生长,或样品B表面有霉菌生长,或两个平行样品的等级之差超过1			
* 检查时,如果测试结果达到3级,可随时停止测试。				

## 10 试验报告

试验报告应包含以下内容:

- a) 本标准编号;
- b) 样品名称、编号、类型、厂家(或商标);
- c) 试验条件;
- d) 样品的防霉菌等级;
- e) 试验中出现的异常现象;
- f) 实测方法与本标准不同之处;
- g) 试验人员、日期。

**附 录 A**  
**(规范性附录)**  
**对照样品的制备**

**A.1 阴性对照样品的制备**

A.1.1 选用生黄牛皮，按照常规制革工艺加工至皮革，加工过程所采用的化工材料均不含杀菌剂及防霉剂成分。

A.1.2 用模刀(4.10)取样，样品经40W紫外灯照射30min后密封，冷冻保存备用(-10℃~-20℃)，得到阴性对照样品。

**A.2 阳性对照样品的制备**

称取A.1中的阴性对照样品，浸泡于5倍量的含苯噻唑(TCMTB)水溶液中(苯噻唑的质量浓度为0.5%)，24h后取出，水平放置于生物安全柜(4.3)中，自然晾干。用模刀(4.10)取样，密封，冷冻保存备用(-10℃~-20℃)，得到阳性对照样品，阳性对照样品中苯噻唑(TCMTB)的含量在250mg/kg~350mg/kg之间。