



中华人民共和国林业行业标准

LY/T 1926—2020
代替 LY/T 1926—2010

人造板与木(竹)制品 抗菌性能检测与分级

Test method for evaluating the antibacterial performance of wood
(bamboo)-based panels and products

2020-12-29 发布

2021-06-01 实施

国家林业和草原局 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 LY/T 1926—2010《抗菌木(竹)质地板 抗菌性能检验方法与抗菌效果》。与 LY/T 1926—2010 相比,除编辑性修改外,主要技术内容变化如下:

- a) 文件名称修改为“人造板与木(竹)制品抗菌性能检测与分级”;
- b) 修改了适用范围(见第1章);
- c) 修改 3.1; 增加 3.2(见第3章);
- d) 在 4.1 条款中明确了细菌测试方法为贴膜法(见 4.1);
- e) 增加了 4.2 要求“细菌测试实验室”应符合 GB 19489 的规定(见 4.2);
- f) 增加了“菌种 ATCC 代码说明”(见表1);
- g) 4.8.1 阴性对照样(A)的操作是不接种细菌仅滴加无菌水的(见 4.9.4);
- h) 样本数量从“5”改为“3”(重复一次,则共有 6 块样本)(见 4.9.4);
- i) 4.10.1 检测结果要求条款中增加了“对阴性对照的作用要求”(见 4.10.1);
- j) 去掉“霉菌相关测试”内容;
- k) 增加了第5章的内容(见第5章);
- l) 增加第6章的内容(见第6章)。

本文件由全国人造板标准化技术委员会(SAC/TC 198)提出并归口。

本文件起草单位:中国林业科学研究院木材工业研究所、国家人造板与木竹制品质量监督检验中心、浙江农林大学、德华兔宝宝装饰新材股份有限公司、巴洛克木业(中山)有限公司、肇庆市现代筑美家居有限公司、瑞通高分子科技(浙江)有限公司、圣象集团有限公司、天津市盛世德新材料科技有限公司、广东天元汇邦新材料股份有限公司、德尔未来科技控股集团股份有限公司、书香门地集团股份有限公司、广州市巢派木业有限公司。

本文件主要起草人:马星霞、吕斌、付跃进、孙芳利、张斌、张晓伟、林德英、钟耀灿、淳华、范文明、李振、戴炎梅、姚红鹏、卜立新、梁发国。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为:

——2010 年首次发布为 LY/T 1926—2010;

——本次为第一次修订。

人造板与木(竹)制品 抗菌性能检测与分级

1 范围

本文件规定了人造板与木(竹)制品的抗菌性能检测方法和分级的术语和定义、抗菌性能检测方法和分级。

本文件适用于抗菌处理的人造板和各种抗菌木(竹)制品的抗菌性能检测和分级。本文件不涉及抗菌产品的安全性评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 4789.2—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

WS/T 650—2019 抗菌和抑菌效果评价方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

抗菌处理 antibacterial treatment

采用机械、物理或化学的方法来干扰、抑制细菌的生长和繁殖,减少其数量或直接杀灭细菌的过程。

3.2

抗菌率 antibacterial rate

测试样品与对照样品接种受试菌一定时间后,其平均回收菌数之差与对照样品平均回收菌数的百分比。

4 检测方法

4.1 原理

参照 WS/T 650—2019 中所用贴膜法,即通过将细菌接种于待测样品表面,然后用塑料薄膜覆盖,使细菌均匀并充分接触被检测样品表面,在规定条件下经过一定时间培养达到一定细菌数后,按平板活菌计数法计算被检样品细菌存活数,通过计算得出抗菌率,评价抗菌效果的方法。

4.2 试验条件

细菌测试实验室应符合 GB 19489 的规定。

4.3 主要仪器和设备

- 4.3.1 恒温培养箱:温度能保持在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 4.3.2 冷藏箱:温度能保持在 $0\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 4.3.3 超净工作台:洁净等级不低于 100 级。
- 4.3.4 生物光学显微镜:200 $\times$ ~400 $\times$ 。
- 4.3.5 压力蒸汽灭菌器:能保持 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的温度和 103 kPa 的压力。
- 4.3.6 电热干燥箱:温度能保持在 $160\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 180\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 4.3.7 接种环:直径不大于 4 mm。

4.4 覆盖膜

聚乙烯薄膜,尺寸为 40 mm $\times$ 40 mm $\times$ 0.05 mm,用 75%乙醇溶液浸泡 1 min,再用无菌水或洗脱液冲洗,自然干燥后备用。

4.5 培养基

4.5.1 液体 LB 培养基

酵母提取物 5.0 g;
胰蛋白胨 10.0 g;
氯化钠 5.0 g。

制法:取上述成分一次加入 1 000 mL 蒸馏水中,加热溶解后,用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.0~7.2,分装后置于压力蒸汽灭菌器中 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌 30 min。

4.5.2 固体 LB 培养基

1 000 mL 液体 LB 培养基中加入 15 g 琼脂,加热熔化,用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.0~7.2,分装后置于压力蒸汽灭菌器中 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌 30 min。

4.6 试剂

4.6.1 消毒液

75%乙醇消毒液。

4.6.2 洗脱液

含 0.85%氯化钠的生理盐水,用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液或 0.1 mol/L 的盐酸溶液调节 pH 至 7.0~7.2,分装后置于压力蒸汽灭菌器中 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌 30 min。

4.6.3 培养液

液体 LB 培养基/生理盐水溶液,用于大肠杆菌接种液的浓度为 1/500(体积比),金黄色葡萄球菌接种液的浓度为 1/100(体积比)。为便于细菌分散可加入 0.2%的无菌表面活性剂(如吐温 80)。用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液或 0.1 mol/L 的盐酸溶液调节 pH,使其在 $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 时为 7.0~7.2,分装后置于压力蒸汽灭菌器中 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌 30 min。

4.7 检测菌种

检测菌种应符合表 1 的规定。

表 1 抗菌性能检测菌种

序号	菌种名称	对应美国典型菌种保藏中心代码
1	金黄色葡萄球菌(<i>Staphylococcus aureus</i>)	ATCC 6538
2	大肠杆菌(<i>Escherichia coli</i> form)	ATCC 25922
注：根据用户要求,可以增加其他菌种作为检测用菌种,但所用菌种需由国家级菌种保藏管理中心提供。		

4.8 试件准备和处理

4.8.1 阴性对照试样

直径 90 mm 的灭菌培养皿,编号为 A。

4.8.2 空白对照试样

采用与受检样品相同的材料、相同的加工工艺制成的未经抗菌处理的人造板或木(竹)制品,裁制成尺寸为(50±1)mm×(50±1)mm 的试样,编号为 B。

4.8.3 抗菌处理人造板或木(竹)制品试样

选取经过抗菌处理的各种人造板或木(竹)制品,裁制成尺寸为(50±1)mm×(50±1)mm 的试样,编号为 C。

4.8.4 试样数量

以上阴性、空白对照、抗菌处理的每类试样数量均应不少于 6 个。检测前应进行表面消毒,用 75%乙醇溶液擦拭样品表面,1 min 后用无菌水冲洗,自然晾干备用。

4.9 检测步骤

4.9.1 菌种保藏

菌株接种于营养培养基斜面上,在 37℃±2℃下培养 24 h,在 0℃~5℃下保藏(不超过 1 个月),作为斜面保存菌。

4.9.2 菌种活化

将斜面保藏菌种转接到平板培养基上,在 37℃±2℃下培养 24 h,每天转接一次,不超过 2 周。试验时应采用 24 h 内转接的新鲜细菌培养物。

4.9.3 菌悬液的制备

用接种环从 4.9.2 培养基上取少量(刮 1 环~2 环)新鲜细菌加入接种液中,培养 24 h 后,依次做 10 倍递增稀释液,选择菌液浓度为 5.0×10⁵ CFU/mL~10.0×10⁵ CFU/mL 的稀释液作为检测菌液,按照 GB/T 4789.2—2016 规定的方法操作。

4.9.4 样品试验

分别取 0.2 mL 检测菌液 4.9.3 滴加在空白对照样(B)和抗菌处理人造板或木(竹)制品试样(C)上,

同时取 0.2 mL 无菌水滴加在阴性对照样(A)上,用灭菌镊子夹起灭菌覆盖膜分别覆盖在样 A、样 B 和样 C 上,一定要铺平,使菌均匀接触样品;置灭菌皿中,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 $>90\%$ 条件下培养 24 h。每个样品做 3 个平行。

取出培养 24 h 的样品,每片分别加入 20 mL 洗脱液,反复清洗样 A、样 B、样 C 及覆盖膜(最好用镊子夹起薄膜冲洗),充分摇匀后,取 0.5 mL 该洗液于灭菌皿内,倾注入 15 mL~20 mL 冷至 $45\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的固体培养基里,摇匀凝固后,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养 24 h~48 h 后计算活菌数,按照 GB/T 4789.2—2016 规定的方法操作。

以上试验重复一次。

4.10 检测结果要求与计算

4.10.1 检测结果要求

将以上测定的活菌数结果,根据稀释倍数分别计算出样品 A、B 和 C 培养 24h 后的实际回收活菌数值,数值分别记为 N_a 、 N_b 、 N_c ,保证试验结果同时满足以下要求,否则试验无效:

- 阴性对照应无菌生长(N_a 为 0);
- 对照样本的 3 个平行活菌数值要符合以下要求:
(最高值—最低值)/平均数 ≤ 0.3 ;
- 对照样本不应有明显的抗菌作用,实际回收菌落数值 N_b 应不小于 1.0×10^4 CFU/片。

4.10.2 抗菌率计算

抗菌率计算见式(1)。

$$R = \frac{N_b - N_c}{N_b} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

R ——抗菌率,%;

N_b ——空白对照样平均回收菌数,单位为 CFU/片;

N_c ——抗菌处理人造板或木(竹)制品平均回收菌数,单位为 CFU/片。

5 抗菌性能分级

5.1 两个菌种测试计算出来试样的抗菌率不一致的情况下,以低的为判定标准。

5.2 抗菌性能分级标准

抗菌性能分级标准按表 2 的规定进行。

表 2 抗菌性能分级

抗菌性能指标	抗菌等级
抗菌率 $\geq 99\%$	I 级 强抗菌级
$90\% \leq$ 抗菌率 $< 99\%$	II 级 抗菌级
抗菌率 $< 90\%$	不抗菌

6 检测报告

检测报告至少应包括以下几个方面的内容：

- 试验菌种、细菌保藏号、接种菌液浓度；
 - 试样和对照样情况；
 - 依据的标准；
 - 结果：抗菌率及抗菌性能分级；
 - 与基本步骤的差异、观察到的异常现象记载；
 - 试验单位、试验人；
 - 试验日期。
-