《皮革 环境安全评价试验 发光细菌法》编制说明

（征求意见稿）

一、工作简况

1、任务来源

根据中国皮革协会团体标准工作安排，由四川大学、中国皮革制鞋研究院有限公司、四川亭江新材料股份有限公司、成都产品质量检验研究院有限责任公司等单位作为起草单位，负责起草《皮革 环境安全评价试验 发光细菌法》）团体标准。

本项目源自国家重点研发项目“生态皮革鞣制染整关键材料及技术”，为评估项目开发材料皮革的生态性，项目研究团队一方面开展相关法规和标准中限量有害物质的检测，另一方面研究了以发光细菌为受试生物的综合生态性评价方法，并建立了相应的技术规范和方法标准。

2、目的、意义

天然皮革具有良好的卫生舒适性、化学稳定性和一定的力学性能，已经成为常用的生产原料和生活消费品。皮革固废目前主要的处置方式是填埋，由于鞣制后皮革耐微生物，生物降解速率低，可能因雨水淋滤等造成沥出液对环境的污染。皮革生产过程中会加入多种、大量的化工材料，并且皮革用化工原料多为复杂的混合物，可能带入和衍生的化学品种类繁多，因此，沥出液是组分复杂的混合物，对其中的有害物质进行逐一排查是一项被动、繁琐且成本高昂的工作，目前几乎难以实现。实际上，从皮革中释放的化学物质不仅各有其毒性，而且各种化学物质混合、相互作用后也会引起毒性变化，但目前国内外均无针对皮革综合毒性检测的方法标准发布。随着人们对皮革产品潜在生态风险的日益关注，迫切需要建立客观全面的皮革环境生态性能检测方法，该标准的制定对完善皮革生态性能的检测体系，加快皮革产品生态性能的标准化建设进程具有重要意义。

我国是皮革及其制品生产、消费的大国，多年来其进出口总额以绝对优势位居行业世界第一，是我国重要的出口创汇行业。但是，由欧美等皮革制品主要进口国家倡导并执行的有害物质限量，多是基于各纯净物的毒理试验为确保健康效应而设置，在很大程度上对我国皮革及其制品的出口造成了“技术壁垒”，但缺乏皮革这类商品的环境安全性评价方法和标准。而从皮革中释放出的可能是多种物质的混合物，因此建立针对混合物的生态性能检测方法，不仅能够主动应对潜在有害物质的预防性检测，还可为国内的生产贸易、质

量监督、市场交易等活动提供参考依据。此外，随着全世界皮革产业整体的发展，“一带一路”沿线国家如越南、印度等在国际皮革市场的比重正逐渐增加，我国制革企业出海发展的需求日益提升，急需相应的标准为市场开拓保驾护航，以规范市场交易行为，降低可能的贸易风险。

3、主要工作过程

起草阶段：2020 年 6 月，中国皮革协会组织四川大学、中国皮革制鞋研究院有限公司、四川亭江新材料股份有限公司、成都产品质量检验研究院有限责任公司等相关单位成立了标准起草小组，整合了我国该领域科研实力最强的高校、科研机构、皮革化工企业、制革企业、裘皮企业和革制品企业，形成了覆盖全产业链、互补性强、相关研究工作积累丰富的研发团队，讨论确定了标准制定原则和标准框架，并对收集到的国内外相关资料进行了全部系统的梳理和比对分析。

2020 年 7 月，标准起草小组在对现有相关资料梳理和比对分析的基础上，初步形成了对发光细菌法评价皮革生态性能方法的理论研究，同时标准起草小组从市场上收集了具有代表性的皮革产品进行了实际的样品检测和分析，在试验验证的基础上形成了标准草案。

2020 年 10 月 23 日，《皮革 生态性能评价方法 发光细菌法》团体标准专家论证会在四川大学制革清洁技术国家工程实验室召开。会议由中国皮革协会陈占光秘书长（教授级高工）主持，与会专家有广州检验检测认证集团覃芳芳教授、兴业皮革科技股份有限公司孙辉永总经理、焦作隆丰皮草企业有限公司仲济德副总经理、中国皮革协会赵立国教授级高级工程师。四川大学标准研制团队的张文华教授、周建飞教授、王亚楠副教授、曾运航副教授，以及相关博硕士研究生，参加了论证会。

会议就皮革生态性能评价方法的科学性、可操作性、标准的定位和范围、标准实施可能对产业和社会发展的影响，进行了详细、热烈的讨论和质询，提出了具体的修改意见。

标准起草小组根据专家意见，重新调整了工作思路，对标准文本的内容、编制说明进行了修改，2020 年 5 月形成标准征求意见稿草案。

二、标准编制原则及确定标准主要内容的依据说明

1、标准编制原则

标准编制过程中充分依据 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则第 1 部分：标准的结构和编

写规则》中的各项规定，力求符合规范化和标准化。同时按照先进性、科学性和实用性相结合的原则进行编制的。本标准结合我国的实际情况，参考最新科研成果和目前正在实施的有关标准的同时，密切联系皮革行业实际情况，注重科学性和可操作性的结合，以利标准颁布后的推广应用。

2、标准的主要内容和论据

本标准规定了发光细菌法评价皮革生态性能的方法，标准共分为 9 章。第 1 章规定了标准的适用范围，第 2 章规范性引用文件，第 3 章原理，第 4 章试剂，第 5 章设备，第 6 章样品与明亮发光细菌准备，第 7 章生态毒性测定，第 8 章结表示，第 9 章方法的精密度，附录 A 为发光细菌法实验记录。

（1）范围

本标准规定了皮革环境安全评价的试验方法。

本标准适用于皮革（坯革）的环境安全性评价。

（2）规范性引用文件

对于本标准需要使用的标准，直接列出了与本标准相关的国家标准、行业标准，如GB/T 6682《分析实验室用水规格和试验方法》、QB/T 2706《皮革 化学、物理、机械和色牢度试验 取样部位》、QB/T 2707《皮革 物理和机械试验 试样的准备和调节》、QB/T 2716《皮革 化学试验样品的准备》。

（3）原理

本方法采用蒸馏水萃取样品，然后采用明亮发光杆菌，测定萃取液的生物毒性。

将皮革样品剪碎，然后用蒸馏水在液固比为20:1（mL:g），25℃±2℃，100 r/min条件下萃取24h±5min，萃取液过滤后，调节pH 7±0.1，用明亮发光杆菌进行生态性测试。发光细菌的酶催化发光反应受外界有毒物质抑制，其相对发光强度与浸提液毒性组分总浓度呈显著负相关（P≤0.05）。

报告结果按相对发光强度或 EC50（半数有效浓度---以 mg/kg 为单位）来表征。

（4）试剂

本标准使用的试剂、材料的规格和纯度均有标识，且易购置。

（5）设备

本标准所用设备，除生物毒性测试仪外，均为日常设备。生物毒性测试仪需有恒温装置或置于恒温实验室。

（6）取样及试样制备

本标准的取样和制备参考QB/T 2707《皮革 物理和机械试验 试样的准备和调节》、QB/T 2706《皮革 化学、物理、机械和色牢度试验 取样部位》和QB/T 2716《皮革 化学试验样品的准备》，对皮革或者坯革样品进行破碎以及调节。

（7）实验步骤

首先，萃取皮革或坯革样品，萃取条件通过系统研究萃取参数（液固比、pH、接触时间、转速、温度）对皮革/坯革中可萃取金属和有机物的量、以及萃取液生物毒性的影响而确定；调节萃取液的pH以及渗透压参考GB/T 15441《水质 急性毒性的测定 发光细菌法》；明亮发光杆菌新鲜菌液的培养，参考朱文杰专著《发光细菌与环境毒性检测》中的培养方法；萃取液生态性评价方法主要参考GB/T 15441《水质 急性毒性的测定 发光细菌法》。

（9）结果的计算和表示

本标准根据萃取液毒性大小，规定了三种结果表达方式。对于毒性相对较小，即细菌相对发光强度大于50%以上的萃取液,采用相对发光强度T(%)表示皮革/坯革的生态性。对于相对发光强度小于20%的萃取液，宜采用EC50值表示坯革/皮革的生态性；对于相对发光强度大于20%而小于50%的萃取液，可采用相对发光强度T（%）或EC_{50}值表示。以相对发光强度T（%）为纵坐标、试样萃取液的体积百分浓度C（%）为横坐标，绘制曲线，拟合曲线方程，将T＝50%代入曲线方程，得到试样萃取液的对应体积百分浓度，即EC_{50}值。该体积百分浓度可以转换为与皮革固体样品质量相关的浓度，EC_{50}(mg/kg)。

（9）方法的精密度

发光细菌的活性及每次测试的活性菌量影响实验结果的重现性。为获得活性高、发光稳定的新鲜菌液，本标准规定经二次优化接种、培养至生长对数期中期的菌液用于测试。为确保每次测试活性菌量一致，本标准以0.1mg/L氯化汞溶液为阳性对照组，其相对发光强度T在（50±10）%范围，可用于后续实验。相对发光强度T (%)与体积百分浓度C（%）的关系曲线的相关系数应大于等于0.95。试样至少应进行3次平行实验，且平行测定结果的相对偏差不大于15%。满足以上条件，方能保证实验结果的准确性。

（10）试验报告

试验报告主要记录了试验阳性对照测定结果，样品取样制备的详细信息，实验室温度、样品调节条件，生态性测定时间以及试验结果，以保证试验的真实有效性。

3、解决的主要问题

目前国内外对皮革生态性能的检测，仅局限于皮革中部分有害物质的逐一检测，但这些有害物质的限量要求多是基于各纯净物的毒理试验确定的；而皮革作为固态生物质基质，释放到环境中的是混合物，各有害物质之间的相互作用可能会导致其毒性变化，故建立皮革释放的混合物的生态毒性评价方法，对评价皮革生态性能是非常必要的。

据统计，1t牛皮在制革过程产生近200kg鞣制固废和200kg成革，而成革生产的革制品在其使用价值耗尽时也最终成为市政固废，这类固废目前主要的处置方式为填埋。由于鞣制赋予胶原纤维耐热、耐化学腐蚀和微生物降解的特性，这类固废的渗滤特性及其生态毒性，对于其规范管理是十分必要的。

本标准的制定，填补了目前行业内在皮革生态性能检测方法上的标准空白，对皮革中潜在有害物质的预防性检测和国内外皮革产品的生产贸易、质量监督、市场交易等活动提供了参考依据，为我国皮革产品在国际市场上的开拓保驾护航，以规范现有的市场交易行为，降低可能的贸易风险。

三、主要试验（或验证）情况

本标准方法首先需要对皮革试样进行萃取，然后对其萃取液进行生态性能测试，所用化学试剂为分析纯或更高纯度。本标准选用的受试生物为明亮发光杆菌新鲜菌液，通过冻干粉复苏后，经两次优化培养获得。

1、皮革试样的萃取

皮革试样需要萃取后测定其生态性能。样品粒度需控制在一定范围内（4mm×4mm）。以铬鞣革为对象，通过试验研究了不同萃取条件（液固比、pH、接触时间、转速、温度）下，铬鞣革中铬、有机物萃取规律及其对生态性能测试的影响。萃取剂 pH 调节使用 NaOH 或 HNO_3。

表 1 萃取条件批量实验参数

序号	因素	变量	固定条件
1	液固比/（mL/g）	70:1, 60:1, 50:1, 40:1, 30:1, 20:1, 10:1	时间 2h;转速 60 r/min;温度 20°C
2	pH	2, 4, 6, 7, 8, 9, 11	液固比 20:1 mL/g;时间 2h;转速 60 r/min;温度 20°C
3	时间/h	1, 2, 4, 8, 24	液固比 20:1 mL/g;转速 60 r/min;温度 20°C

4	转速 r/min	30, 60, 100, 150, 200	液固比 20:1 mL/g;时间 2h;温度 20°C
5	温度/°C	20, 25, 30, 35, 40	液固比 20:1 mL/g;时间 2h;转速 60 r/min

液固比对萃取液浓度及毒性的影响结果见图 1。随液固比降低，萃取液中铬和有机物浓度增加，生物毒性也增加，但毒性与可萃取物浓度并不呈简单的线性关系。当液固比从 40:1 降低到 20:1mL/g，萃取液中铬、有机物浓度分别增加约 75 mg/L 和 50 mg/L，但萃取液 EC_{50} 在 5.04%波动。虽然液固比 10:1mL/g 时萃取物浓度最高，萃取液毒性也最大，但粉碎后的皮纤维较为蓬松，溶胀性和吸水性高，在低萃取剂条件下会影响萃取传质作用。因此，选择液固比 20:1 mL/g 作为萃取液固比条件。

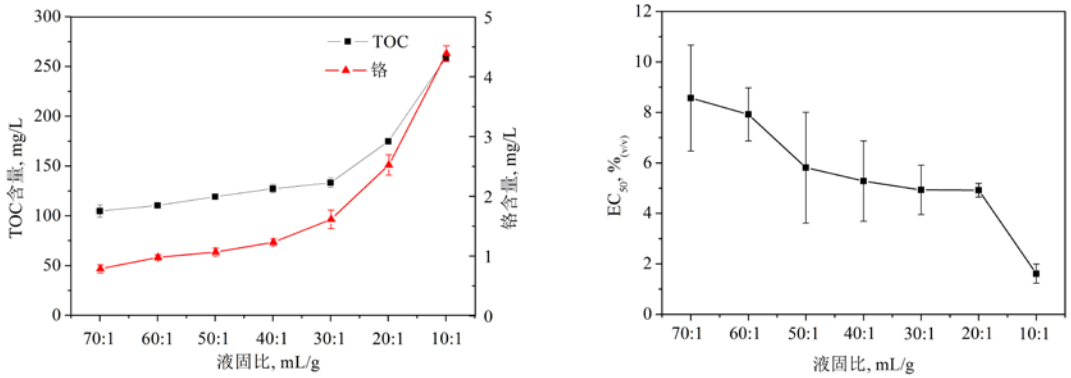

图 1 液固比对可萃取铬、有机物浓度以及萃取液生物毒性的影响

萃取剂 pH 对萃取的影响见图 2。在萃取剂 pH4.0~11.0 范围内，萃取剂 pH 对萃取液中铬和有机物的浓度没有太大影响，但是对萃取液组分的存在形态有一定的影响，从而导致萃取液的生物毒性也有一定的差别。 因此，生物毒性测定需要严格控制萃取剂及萃取液 pH，选择未调节 pH 的蒸馏水作为萃取剂，毒性测试时再控制测所有试样 pH 为 7.0±0.5，此 pH 为发光细菌的生理生长优势 pH。

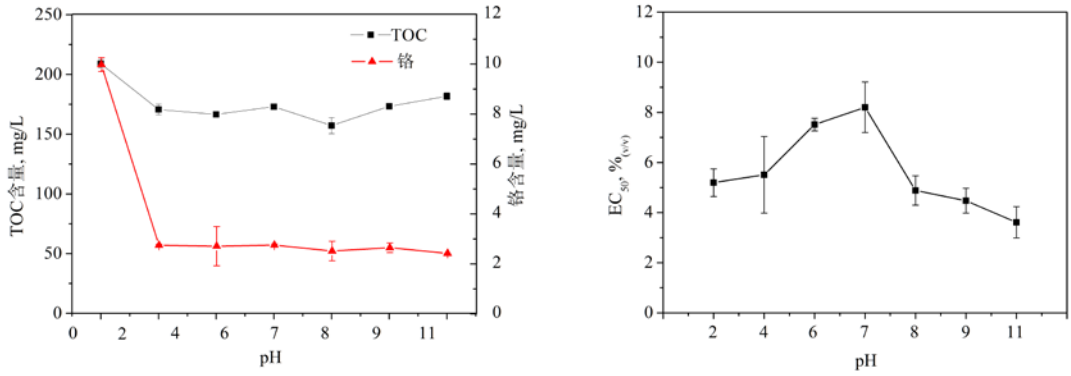

图 2 pH 对可萃取铬、有机物浓度以及萃取液生物毒性的影响

萃取时间的影响见图 3。萃取时间越长，萃取的物质越多，萃取液的生物毒性也越大。但 8 小时后，萃取物质和萃取液生物毒性变化不大，考虑到检测机构工作时间的可行性，萃取时间 24 小时较为合适。

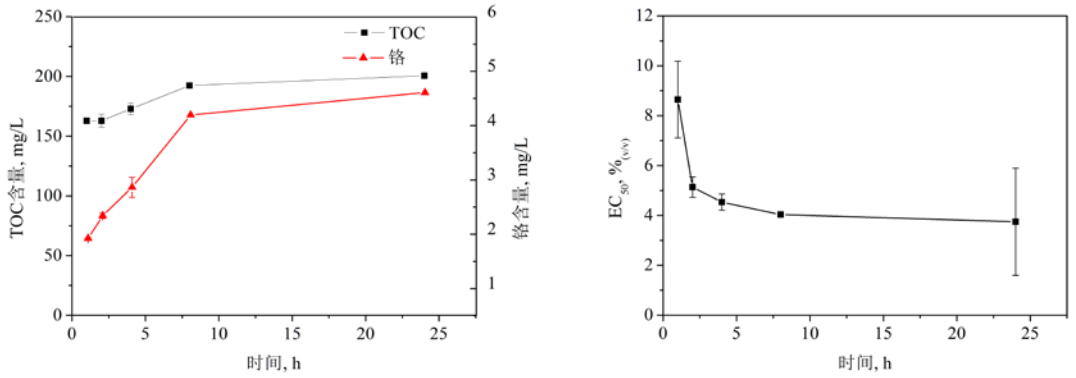

图 3 萃取时间对可萃取铬、有机物浓度以及萃取液生物毒性的影响

转速的影响见图 4。转速对萃取液中铬和有机物的浓度以及生物毒性均没有太大的影

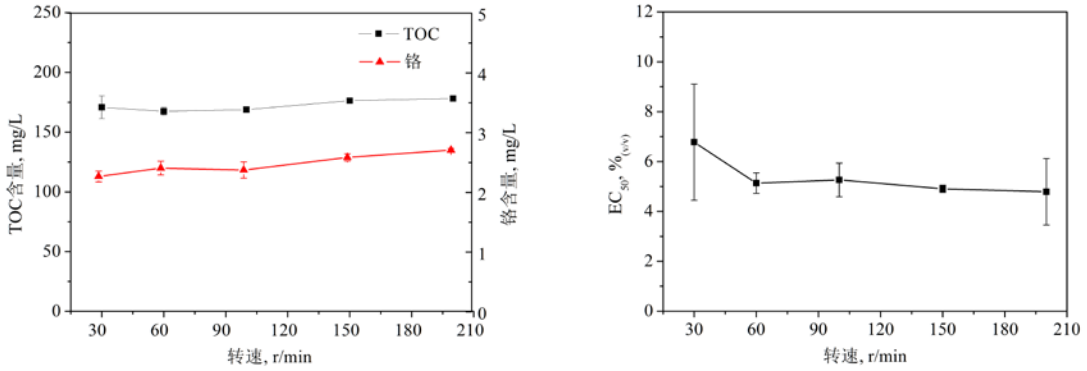

图 4 转速对可萃取铬、有机物浓度以及萃取液生物毒性的影响

响。因此，最后选择处于中间的 100 r/min 作为萃取转速。

温度对萃取的影响见图 5。随着温度升高，萃取液中的铬以及有机物浓度都略有增加，生物毒性增加较显著，这可能跟温度影响萃取物种的存在形态有关。为避免高温引起的物种多样性，选择萃取温度为 25℃。

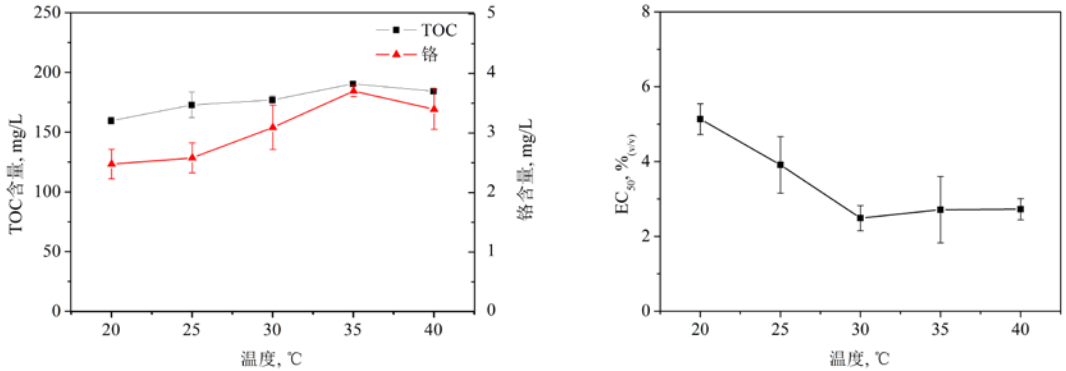

图 5 温度对可萃取铬、有机物浓度以及萃取液生物毒性的影响

综上所述，最终确定皮革样品的萃取条件为：蒸馏水为萃取剂，液固比为 20:1，25 ℃恒温 100 r/min 水平振荡 24.0h。

2、新鲜菌液的培养

所有操作应在超净工作台进行。分别称取 5.0g 胰蛋白胨(4.5)、5.0g 酵母浸粉(4.6)、5.0g Na_2HPO_4(4.3)、1.0g K_2HPO_4(4.4)、30.0g NaCl(4.2)、3.0g 甘油(4.8)，加入蒸馏水(4.1)溶解，用 0.1mol/L 的 HCl 溶液调节 pH 为 6.5，配制 1L 培养基。将明亮发光细菌复苏后置于培养基中培养，在此培养条件下明亮发光细菌的生长曲线和发光强度如图 6 所示：随着培养时间的增加，菌密度（OD600）逐渐增加后趋于平稳，菌活性（发光强度）在（17~19）h 范围内达到最大值，适合用于生态性能测试。为保证试验效果，选择活性较好的杆菌至关重要，综合考虑后，确定将复苏后的明亮发光杆菌先在培养基中培养（17~19）h，然后选择长势及发光强度高的杆菌进行二次接种培养，在同样培养条件下培养（17~19）h 后用于测试。

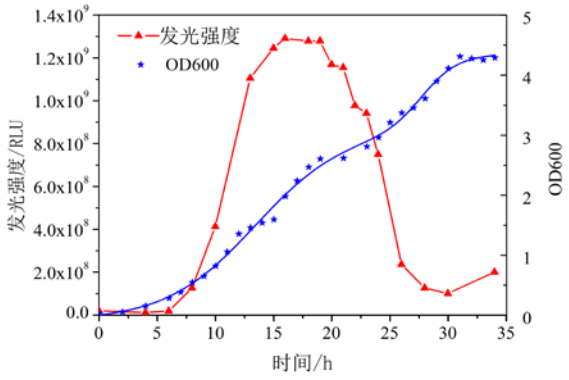

图 6 明亮发光杆菌生长曲线及相应发光强度

3. 毒性测试

3.1. 发光细菌对皮革中潜在有害物质的敏感性

针对皮革中限量有害物质，如六价铬、甲醛等，采用发光细菌（明亮发光杆菌和费氏弧菌）为受试生物的毒性测定已有国内外文献报道，EC_{50}值见表2， 其中HCHO和Cr^{6+}数据为自测。如表所示，重金属对发光细菌的毒性:Hg(As)> Pb> Cu> Co> Cd> Cr^{6+}, 限量酚类物质>HCHO, 致癌芳香胺>偶氮染料，可见，发光细菌对目前皮革限量的有害物质，都表现出了敏感性。

表 2 发光细菌对皮革限量有害物质的生物毒性

化学品		暴露时间（min）	EC_{50} （mg/L）
甲醛		15	25.96
六价铬		15	14.04
邻苯基苯酚 [1]		5	2.0
邻苯基苯酚钠 [1]		15	1.9
五氯苯酚 [2]		15	0.88
四氯苯酚 [2]		15	1.54
致癌芳香胺	对氯苯胺 [3]	15	13.00
	2,4-二氨基苯甲醚 [4]	30	21.42
	2,4-二氨基甲苯 [5]	30	100.90
	2-氨基-4-硝基甲苯 [5]	30	21.84
偶氮染料 [6]	C.I. Reactive Red 22	15	118.08

	RP_2B	15	113.32
	V_2RP	15	117.99
	C.I. Direct Blue 15	15	215.11
	C.I. Direct Violet 9	15	110.35
	Leather dye	15	115.53
	C.I. Direct Black 22	15	79.43
重金属	Cd[7]	15	11.72
	Cu[7]	15	1.04
	Hg[7]	15	0.11
	Pb[7]	15	0.13
	As[8]	15	0.11
	Co[9]	15	2.90

注：1 Davoren, M., Fogarty, A.M., 2005. Ecotoxicological evaluation of the biocidal agents sodium o-phenylphenol, sodium o-benzyl-p-chlorophenol, and sodium p-tertiary amylphenol. Ecotoxicology and Environmental Safety 60, 203-212;

2 Makinen, P.M., Theno, T.J., Ferguson, J.F., Ongerth, J.E., Puhakka, J.A., 1993. Chlorophenol toxicity removal and monitoring in aerobic treatment: recovery from process upsets. Environmental Science & Technology 27, 1434-1439;

3 Sihtmae, M., Mortimer, M., Kahru, A., Blinova, I., 2010. Toxicity of five anilines to crustaceans, protozoa and bacteria. Journal of the Serbian Chemical Society 75, 1291-1302.

4 Liang, J., Olivares, C., Field, J.A., Sierra-Alvarez, R., 2013. Microbial toxicity of the insensitive munitions compound, 2,4-dinitroanisole (DNAN), and its aromatic amine metabolites. Journal of Hazardous Materials 262, 281-287.

5 Drzyzga, O., Gorontzy, T., Schmidt, A., Blotevogel, K.H., 1995. Toxicity of explosives and related-compounds to the luminescent bacterium Vibrio-fischeri NRRL-B-11177. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 28, 229-235.

6Hu, T.L., 2001. Kinetics of azoreductase and assessment of toxicity of metabolic products from azo dyes by Pseudomonas luteola. Water Science and Technology 43, 261-269.

7 钱骁. 2013 工业废水中有害物质的发光细菌法检测研究.青岛理工大学,

8 韩冬梅. 2020 冶炼厂周围环境中重金属污染特征及生物毒性研究.河北大学.

9 方贵桢,胡立新,黄国勇,赵建亮,应光,2020.基因重组发光菌应用于环境样品毒性的测试.华南师范大学学报(自然科学版) 52,60-67.

不同生物对同一种污染物的敏感性有较大差异，为验证发光菌与其它常用生物对主要限量有害物质毒性效应的灵敏度水平，我们将文献及美国 EPA 公布的鱼类、虾蟹类和蚤类的毒性试验结果，与相同条件下发光菌毒性试验所得数据进行比较。参照保护水生生物水质基准推导方法，根据各物种急性毒性数据，分别计算种急性毒性平均值和属急性毒性平均值(SMAV、GMAV)(二者均为几何平均值)，假设各毒性数据符合一定的概率函数，将 GMAV 按照大小排序，并统一编号为R(R=1，2，3…N)，其中，R为急性毒性数据的个

数，计算每个毒性数据的毒性百分数 P(累积概率)，P= R /(N+1)，以 GMAV 为纵坐标作图，构建的物种敏感度分布曲线如图 7 所示。

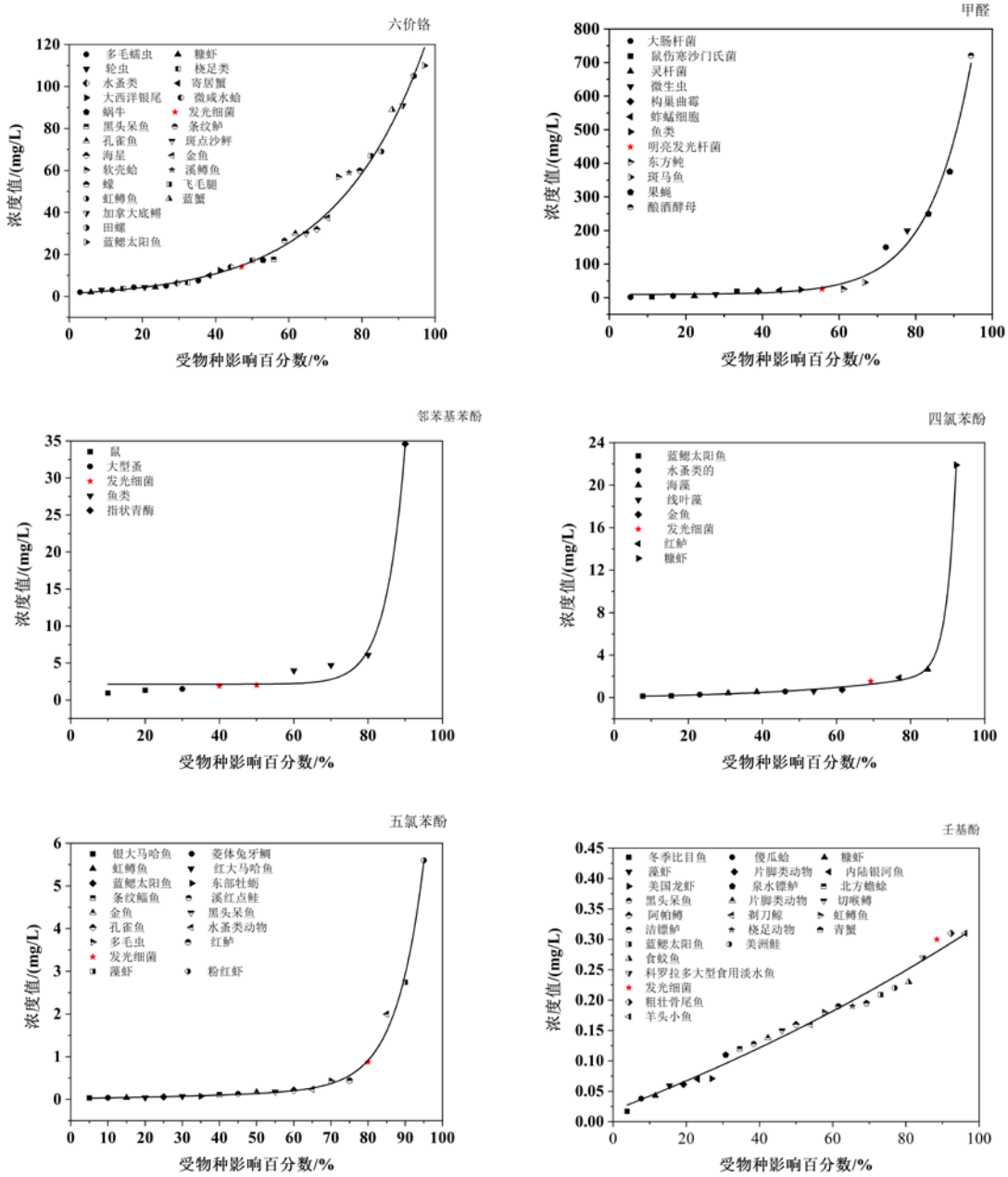

图 7 限量物质毒性测定的物种敏感度

对于皮革行业高度关注的六价铬，本标准采用的发光细菌与糠虾、寄居蟹、水蚤、咸水蛤等敏感度相似，远高于蓝鳃太阳鱼、鳟鱼、金鱼等；而发光细菌对甲醛的敏感度与其它细菌如灵杆菌等、构巢曲霉、以及鱼类类似，远高于果蝇和酿酒酵母。其它限量有害物质，除壬基酚外，本标准采用的发光细菌均对其具有较高的敏感度。

3.2 常用皮化材料生物毒性

3.2.1 鞣剂

我们采用发光细菌测试了金属、植物单宁和典型有机鞣剂的生态毒性，结果见表3。由于金属离子在不同pH的水溶液中，存在形态差异较大，而毒性与形态相关，表中仅列出pH=5.0的毒性值，而其它鞣剂调整pH为7.0。三价铝对发光细菌的毒性远高于三价铬，水解类单宁的毒性高于缩合类，而有机鞣剂对发光细菌的毒性：甲醛>>噁唑烷 > 有机磷 > F-90 > 两性鞣剂T≈戊二醛>>糖基鞣剂OZT。

表3 发光细菌对常见鞣剂的生态性

鞣剂		EC_{50}（mg/L）	拟合相关系数	备注
金属鞣剂	铬（硫酸铬）	261.75±4.78	0.9862	pH=5.0
	铬（铬粉）	423.14±9.41	0.9693	pH=5.0
	铝（硫酸铝）	1.39±0.01	0.9971	pH=5.0
植物鞣剂	塔拉	257.97±5.48	0. 9813	–
	橡椀	704.86±22.35	0. 9981	–
	荆树皮	1001. 78±9.38	0. 9942	–
	杨梅	1749.24±77.59	0. 9995	–
有机鞣剂	甲醛	25.51±1.79	0. 9945	分析纯
	戊二醛	92.12±5.74	0. 9998	-
	噁唑烷	154.17±3.76	0.9782	游离甲醛：16839.7 mg/L
	有机磷	261.50±14.05	0.9956	游离甲醛：105793 mg/L
	对-[(4,6-二氯-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]苯磺酸钠(F-90)	423.84±10.50	0. 9945	无游离甲醛
	两性鞣剂T	796.31±29.48	0. 9917	游离甲醛：16842.3 mg/L
	糖基鞣剂OZT	1731.32±88.91	0. 9889	游离甲醛:71.99 mg/L

有机鞣剂可能含有游离甲醛，数据见表4，从含游离甲醛的有机鞣剂EC_{50}值对应甲醛浓度可见，噁唑烷和两性鞣剂T中其它组分促进了其中HCHO对发光细菌的毒性，特别是噁唑烷更明显。

表 4 含游离甲醛的有机鞣剂 EC_{50} 值对应甲醛浓度

鞣剂	游离甲醛含量（mg/L）	EC_{50}值对应甲醛浓度（mg/L）
甲醛	分析纯	25.96
有机磷	105793	22.11
两性鞣剂T	16842.3	12.51
噁唑烷	16839.7	2.51
糖基鞣剂OZT	71.99	1734.67

3.2.2 加脂剂

评价了制革生产中常用的阴离子、阳离子和非离子九种表面活性剂，对发光细菌的生态毒性。结果发现，阳离子表面活性剂对发光细菌的生态毒性>>阴离子表面活性剂＞非离子表面活性剂。非离子表面活性剂AEO、Triton X- 100 和Tween80对发光细菌有轻微发光抑制（10%~35%）；磺酸盐型的阴离子表面活性剂中，拉开粉和太古油的光抑制率在浓度达2.0 g/L 时仅分别为15%和45%，生态毒性远小于渗透剂T（EC_{50}=406.81 mg/L）；阳离子表面活性剂毒性为：CTAB（EC_{50}=2.37 mg/L）＞DTAB（EC_{50}=10.68 mg/L）＞SKC（EC_{50}=73.96 mg/L）。

Triton X- 100作为烷基酚与环氧乙烷的缩合物，也是烷基酚聚氧乙烯醚APEO中的一种，根据欧盟2003／53／EC 指令，含量高于0.1％不能用于纺织品和皮革加工，欧洲生态纺织品标准（Oeko Tex Standard 100）也明确规定，所有纺织品服装均不得检出APEO 系列物质。APEO 的禁用是欧盟基于实验室APEO 生物降解及毒性测试的数据得到的。生物降解实验表明，APEO 聚氧乙烯聚合度超过10，初级降解率在40%以下，远低于82 /242 /EEC指令关于环保型表面活性剂最初生物降解率80%以上的阈值；且APEO 对水蚤和藻类毒性随聚氧乙烯聚合度增大而减小， 聚合度超过10 时EC_{50} 值在40~50mg/L，与一般表面活性剂相当，但对鱼类LC50 为4mg/L，毒性高于一般表面活性剂；更重要的是，其降解产物壬基酚（NP）或辛基酚（OP）为EPA 提出的环境激素化合物，在实验室呈现难以降解的特

征。但Carter 等的系列场地研究表明，在实际有氧环境中，APEO 的去除率可达99.8% ，且NP/OP 也可生物降解为CO_2 和H_2O。事实上，美国也并未全面禁用APEO。发光细菌对Triton X- 100的 敏感性极低。

3.3 典型鞣剂鞣制坯革的生态性测试

分别采用铬粉、无铬金属鞣剂TWLZ、甲醛、植物多酚、两性鞣剂T、有机磷和自制糖基OZT鞣剂制备坯革，其中铬鞣、甲醛鞣及OZT鞣坯革为实验室自制。对各坯革生态毒性检测结果见表5。

表 5 典型鞣剂鞣制坯革生态性测定

鞣剂	金属鞣坯革		甲醛	植物多酚 [a]	两性鞣剂 T	有机磷 [b]	糖基 OZT[b]
	铬粉	TWLZ					
拟合相关系数	0.9977	0.9923	0.9991	0.9945	0.9922	-	-
EC_{50}（mg/kg）	15076	19508±3314	20725±952	26765±5684	33809±2893		
或相对光强(%)	±1192					71±13%	80±2%

[a] 为植鞣染整坯革; [b] 表示毒性较低，浸出原液的相对发光强度高于50%，无法测定EC_{50}值。

首先根据西班牙第833/1988号皇家法令，固废浸出液对明亮发光杆菌的EC_{50}值低于3000 mg/kg，将被判定为危险废弃物，而表5所有测定的坯革毒性均远高于该阈值，表明现有鞣剂鞣制坯革具有基本的生态安全性。鞣剂对鞣制皮坯的生态毒性影响极大，由两种含金属的鞣剂鞣制的坯革，对发光细菌的生态毒性，高于有机鞣剂鞣制的坯革。其中，铬鞣剂鞣制的坯革EC_{50}值最低，对发光细菌的相对毒性是所有坯革中最高的。而有机鞣剂鞣制的坯革中，甲醛鞣制坯革的生态毒性最大，以多糖氧化制得的糖基OZT鞣剂、市售有机磷鞣制的坯革生态毒性最低。

3.4 市场坯革生态性抽查

（1）染整坯革生态性测定

对市场部分坯革抽样，包括黑色铬鞣坯革 1（CT）、红色铬鞣鞋面坯革(CTU)、棕色铬鞣沙发坯革（CTS）、棕色铝锆鞣坯革（AZ）、棕色植鞣-凉席坯革（VT）、黑色无铬

鞣鞋面坯革（CF）、红色有机鞣剂 T 鞣服装坯革（TT）和黑色无铬金属-有机结合鞣鞋面坯革（AT）。对坯革中的有害物质和综合生态性进行测定，结果见表 6。

表 6 市场染整坯革中有害物质的测定

样品	CT*	CTS	CTU	AZ	VT	CF	TT*	AT*
颜色-用途	Cr-黑-鞋	Cr-棕-沙发	Cr-红-鞋	M-棕-鞋	棕-凉席	黑-鞋	红-服	黑-鞋
甲醛 [a]	10.03	17.44	8.56	18.80	19.45	8.75	28.51	7.95
Cr^{6+} [a]	——	1.09	0.45	——	——	——	——	——
五氯苯酚 [a]	——	——	——	——	——	——	——	——
四氯苯酚 [a]	——	——	——	——	——	——	——	——
邻苯基苯酚 [a]	0.85	——	——	——	3.92	——	1.22	5.20
24 种芳香胺 [a]	——	——	——	——	——	——	——	——
EC_{50}（mg/kg）或	——	920±95	8810 ±	44446 ±	26765±	4089±	11141±	25707±
相对光强(%)	57%		303	785	5684	633	1037	1279
相关系数	-	0.9991	0.9998	0.9903	0.9984	0.9989	0.9945	

[*] 源自某皮化材料公司打版；[a] mg/kg；/：表示未测定；——：表示未检出。

有害物质的检测结果表明，所有坯革均含有少量的甲醛，铬鞣沙发坯革(CTS)和铬鞣鞋面坯革(CTU)含有少量六价铬。棕色植鞣坯革（VT）、红色有机鞣剂T鞣坯革（TT）和黑色无铬金属-有机结合鞣坯革（AT）含有较高的邻苯基苯酚。

生物毒性测试结果表明，不同鞣剂和用途的染整坯革生态毒性差异可达多个数量级。其中，铬鞣沙发坯革CTS的EC_{50}值920 mg/kg最低，生物毒性大；而源自某皮化材料公司打版的黑色铬鞣革CT毒性极低，以致不能测定出EC_{50}值。可见，对于染整坯革，鞣剂并不是坯革生物毒性的决定因素，染整材料和工艺对坯革生态性影响极大。

（2）成革生态性测定

对市场部分成革进行生态性测定，包括棕色铬鞣沙发成革（CF）、红色铬鞣鞋面成革（CUF）、黑色无铬鞣鞋面成革 1（CFF）、棕色植鞣凉席成革（VF）。对成革中的有害

物质和综合生态性进行测定，结果见表 7。

表 7 市场成革中有害物质的测定

参数	限量			CF	CUF	CFF	VF
	A 类	B 类	C 类				
颜色				Cr-棕-沙发	Cr-红-鞋	黑-鞋	棕-凉席
甲醛/(mg/kg)	≤20.0	≤75.0	≤150.0	41.52	65.05	8.35	12.38
Cr^{6+} /(mg/kg)		≤5.0		1.12	0.70	——	——
五氯苯酚/(mg/kg)[a]	≤0.05	≤0.5		——	——	——	——
四氯苯酚 /(mg/kg)[a]	≤0.05	≤0.5		——	——	——	——
邻苯基苯酚/(mg/kg)[a]	≤0.5	≤1.0		——	——	——	1.48
24 种芳香胺 /(mg/kg)[a]		≤30.0		——	——	——	——
EC_{50}（mg/kg）				1252±103	17097±1105	5434±231	11964±682
相关系数				0.9997	0.9971	0.9988	0.9964

从有害物质测定结果看出，植鞣成革VF中邻苯基苯酚超过了标准限制，其他成革符合B类或A类标准。成革的毒性受鞣剂、染整材料、涂饰材料及相应的工艺影响，不同成革生态毒性相差一个数量级以上，大小顺序为：铬鞣沙发成革CF > 无铬鞣成革CFF > 植鞣成革VF > 铬鞣鞋面成革CUF。可见，从鞣剂-皮坯-坯革-成革，革内物质多样化，鞣剂对革生态性的影响减弱，革的生态性取决于工艺流程的各个工序，生态制革的观念也应基于整个工艺流程。但应注意的是，皮革中的化学物质可浸出量并不高，且受试生物物种对某些物质并不敏感，因此基于浸出液的综合毒性测定，不能替代皮革中有害物质检测，而是互补的一个综合性评价手段。

综上，本标准所采用的发光细菌，对皮革中公认的有害物质（APEO例外），如六价铬、甲醛、四氯苯酚、五氯苯酚、邻苯基苯酚、偶氮染料等极为敏感，毒性测试结果与鱼类、藻类受试生物相当，体现出该方法对纯净物毒性测定的有效性。发光细菌对鞣剂、加脂剂、染料等应用于皮革加工的混合物，也体现出显著的毒性差异，表明该方法适用于混

合物毒性测定。坯/皮革作为固体介质，其生态性与其中释放的物质密切相关，因此本标准系统研究了液固比、温度、转速、pH等因素，对坯/皮革中有机物和金属释放的影响，确定了萃取条件，萃取液用于毒性测定。坯/皮革毒性测定结果表明，对于符合有害物质限量的坯/皮革，对发光细菌呈现出较大的生态性差异，表明该综合生态性评价方法，是对有害物质限量标准的有益补充，以促进制革工艺改进，优化匹配各工序化工材料。同时，对于有害物质超限量的坯/皮革，发光细菌并不一定显示出更高的毒性，这是由于各成分浸出浓度极低，即使发光细菌对该物质敏感度高，也需要一定的效应浓度，这表明有害物质的检测是必不可少的。综合性生态检测与有害物质检测方法一起，才能构成完备的坯/皮革生态性检测标准体系。

本标准经过数据验证、部分单位试用，证明能够满足我国皮革生态性能测定的使用要求，具有较好的效果，能够满足产品的使用需求。

四、标准中涉及专利的情况

本标准未涉及到相关知识产权问题。

五、预期达到的社会效益、对产业发展的作用等情况

我国是皮革及其制品生产、消费的大国，皮革的环境安全性是科学管理、处置废弃皮革商品或加工过程产生的皮革固废的前提，是对现有为确保健康效应而设置的有害物质限量标准的补充和完善，也是对“人与自然是生命共同体”的行业担当和体现。多年来我国皮革进出口总额以绝对优势位居行业世界第一，由欧美等国倡导并执行的有害物质限量，多是基于纯净物的毒理试验为确保健康效应而设置，但缺乏皮革这类商品的环境安全性评价方法和标准。实际上，从皮革中释放出的有害物质不仅各有其毒性，而且各种有害物质混合、相互作用也会引起其毒性变化。因此，建立综合环境生态性评价方法，有利于客观、全面地评价皮革的风险。

为指导我国皮革生产企业开展研发、生产和质量管理等活动，进一步提升皮革产品质量、适应和引领市场的需要、促进贸易交流，迫切需要加快我国皮革产品生态性的标准化建设进程，制定相关标准，完善生态皮革的生态指标要求，为国内的生产贸易、质量监督、市场交易等活动提供参考依据。此外，随着全世界皮革产业整体的发展，“一带一路”沿线国家如越南、印度等在国际皮革市场的比重正逐渐增加，我国制革企业出海发展的需求日益提升，急需相应的标准为市场开拓保驾护航，以规范市场交易行为，降低可能的贸易风险。

本标准为制定项目，充分考虑了团体发展的需要，对促进团体的健康发展、满足市场的需求具有十分重要的意义。

六、与国际、国外标准对比情况

针对皮革的生态性的标准或法规，国际上目前仅限定了皮革中有害成分含量，如六价铬、甲醛等，并没有综合的生态性检测方法，尚未有《皮革 生态性能评价方法 发光细菌法》国际标准发布，也没有国外发达国家的先进标准。本标准根据我国实际情况，并参考了国际上的要求自主制定，技术内容完善，实际操作性强，能够较好地与国际市场对接，满足我国皮革生态性能的测定需求，标准达到了国内先进水平。

本标准制定过程中未查到同类国际、国外标准。

本标准制定过程中未测试国外的样品、样机。

本标准水平为国内先进水平。

七、与现行相关法律、法规、规章及标准，特别是强制性标准的协调性

本标准与现行相关法律、法规、规章和相关标准协调一致，符合国家标准化管理的有关规定。

八、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准在起草过程中尚未出现重大分歧意见，有关单位、专家提出的意见已经得到妥善处理，合理的意见已被采纳，无法采纳的意见给予了相应解释和说明。

九、贯彻标准的要求和措施建议

建议本标准批准发布 6 个月后实施。

本标准发布后，建议由有关部门组织宣贯、培训，一方面可在国内外有关期刊、杂志、报纸上作专题介绍和宣传；另一方面组织开展技术培训，使相关单位尽快熟悉、了解、掌握和应用本标准，以提高我国皮革及其制品的整体质量水平。

十、废止现行相关标准的建议

本标准为首次制定，无废止现行相关标准的建议。

十一、其它应予说明的事项

无。