

HG

中华人民共和国化工行业标准

HG/T XXXXX—XXXX

水处理用生物药剂 脱硫菌剂

Biological agents for water treatment—Desulfurizing microbial agents

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

中华人民共和国工业和信息化部 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。

本文件由中国石油和化学工业联合会提出。

本文件由全国化学标准化技术委员会水处理剂分技术委员会（SAC/TC 63/SC 5）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

# 水处理用生物药剂 脱硫菌剂

## 1 范围

本文件规定了水处理用生物药剂中的脱硫菌剂产品的要求、试验方法、检验规则、标志、包装、运输和贮存。

本文件适用于工业废污水的生化处理用及生态修复用的脱硫菌剂。

## 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/T 191—2008 包装储运图示标志
- GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备
- GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备
- GB/T 6678 化工产品采样总则
- GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法
- GB/T 8170—2008 数值修约规则与极限数值的表示和判定
- GB 20287-2006 农用微生物菌剂
- HJ/T 60 水质 硫化物的测定 碘量法
- HJ/T 415 环保用微生物菌剂环境安全评价导则

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

脱硫菌剂 desulfurizing microbial agents

有效菌（一种或者两种及两种以上）经过工业化生产扩繁后加工制成的活菌制剂，能高效氧化硫离子为硫单质或更高价态硫的化合物，主要用于环境治理。

## 4 要求

4.1 外观：液体产品为无色至淡黄色透明液体；固体产品为类白色至淡黄色粉末。

4.2 脱硫菌剂的技术指标应满足表 1 要求。

表1 要求

项目		指标	
		液体	固体
理化指标	水分/% ≤	—	20.0
	pH 值	6.5~8.5（原液）	6.5~8.5（500g/L）
	菌量/（CFU/mL 或 CFU/g） ≥	5.0×10 <sup>8</sup>	1.0×10 <sup>9</sup>
	杂菌率（以霉菌计）/% ≤	10	10

性能指标	硫化物氧化性能/mg/（L·d）或/mg/（g·d） ≥	200	200
------	------------------------------	-----	-----

## 5 试验方法

### 5.1 通则

本标准所用的试剂和水，除非另有规定，应使用分析纯试剂和GB/T 6682—2008中规定的三级水。试验中所需标准滴定溶液、制剂及制品，除非另有规定，均按GB/T 601、GB/T 603的规定制备。

### 5.2 外观检验

在自然光下，于白色衬底的表面皿或白瓷板上用目视法判定外观。

### 5.3 水分的测定

#### 5.3.1 方法提要

在一定温度下，将试样置于电热干燥箱内烘干至恒量，根据干燥前后的试样质量差值测得水分含量。

#### 5.3.2 仪器设备

5.3.2.1 电热干燥箱：温度可控制在  $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。

5.3.2.2 称量瓶： $d$  60mm×30mm。

#### 5.3.3 试验步骤

使用预先于  $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  下干燥恒量的称量瓶称取约1g试样，精确至0.2mg，置于电热干燥箱中。在  $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  下干燥至恒量。

#### 5.3.4 结果计算

水分含量以质量分数  $w_1$  计，数值以%表示，按式（1）计算：

$$w = \frac{m - (m_1 - m_0)}{m} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$m_1$ ——干燥后试样与称量瓶质量的数值，单位为克（g）；

$m_0$ ——称量瓶质量的数值，单位为克（g）；

$m$ ——试料的质量的数值，单位为克（g）。

计算结果表示到小数点后两位。

#### 5.3.5 允许差

取平行测定结果的算术平均值为测定结果。两次平行测定结果的绝对差值不大于 0.05%。

### 5.4 pH 值的测定

#### 5.4.1 方法提要

将已定位的酸度计浸入待测溶液中，读出溶液的 pH 值。

#### 5.4.2 仪器设备

酸度计：精度为 0.02pH 单位，配有玻璃测量电极和饱和甘汞参比电极或复合电极。

#### 5.4.3 试验步骤

称取 25g 固体样品，精确至 0.01g，用无二氧化碳的水溶解并转移至 50mL 容量瓶中，摇匀。静置 30min 后，将溶液倒入 50mL 烧杯中，置于电磁搅拌器上，将电极浸入溶液，开动搅拌。在已定位的酸度计上读出 pH 值。此读书至少稳定 1min。

液体产品量取原液直接测定。

## 5.5 菌量

### 5.5.1 原理

每个活菌在适宜的培养基和良好的生长条件下可以通过生长形成菌落，培养基内部及表面生长的一个菌落来源于样品稀释液中的一个活菌。将脱硫菌在一定条件下培养后，通过测定每克或每毫升样品中的具有硫氧化能力的微生物菌落总数计算菌量。

### 5.5.2 试剂或材料

- 5.5.2.1 葡萄糖。
- 5.5.2.2 蛋白胨。
- 5.5.2.3 酵母浸粉。
- 5.5.2.4 琼脂。
- 5.5.2.5 氢氧化钠溶液：40g/L。
- 5.5.2.6 盐酸溶液：1+12。

### 5.5.3 仪器设备

- 5.5.3.1 高压蒸汽灭菌锅：温度能够控制在  $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。
- 5.5.3.2 恒温培养箱。
- 5.5.3.3 旋转式摇床。

### 5.5.4 试验步骤

#### 5.5.4.1 无菌水的制备

将水装入三角瓶中，用组培封口膜封口，于  $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，高压蒸汽灭菌 30 min，冷却后备用。

#### 5.5.4.2 培养基的制备

通过称量的方式配制培养基，使其中各物质浓度为：葡萄糖 20g/L，蛋白胨 20g/L，酵母浸粉 10g/L，琼脂 15 g/L ~ 20 g/L，用氢氧化钠溶液或盐酸溶液调节 pH 值至 6.5~7.0。于  $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，高压蒸汽灭菌 20 min。

#### 5.5.4.3 样品稀释

称取 10 g 固体样品，精确到 0.01 g，或移取 10.00 mL 液体样品，加入 90mL 无菌生理盐水并投入玻璃珠数粒。在旋转式摇床上 200 r/min 充分振荡 30min，即成  $10^{-1}$  菌悬液；用移液枪吸取 1.00 mL 菌悬液加入装有 9mL 无菌水的试管中，充分混匀即成  $10^{-2}$  菌悬液；以此类推，连续稀释，制成  $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  等一系列稀释度菌悬液，供平板涂布使用。（每个稀释梯度更换无菌枪头）

#### 5.5.4.4 涂布及培养

将 20mL~30 mL 灭菌后冷却至  $50^{\circ}\text{C}$  左右的培养基倾注于涂布完成的平皿中。待培养基凝固后，每个样品选取 3 个适宜的稀释度，每个稀释度移取 0.10 mL 加至预先制备好的固体平板培养基上，用涂布棒涂布均匀，每个稀释度平行涂布 3 个。同时以无菌水作为空白对照。

将平板倒置于  $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  的恒温培养箱中培养 48 h。

#### 5.5.4.5 菌落计数

以出现30个~300个菌落数的稀释度的平板为计数标准。当只有一个稀释度，其平均菌落数在30个~300个之间时，以该平均菌落数计算。若有两个稀释度，其平均菌落数均在30个~300个之间时，应按两者菌落总数之比值决定。若比值小于等于2，应计算两者的平均数；若大于2，则以稀释度小的菌落平均数计算。

若空白培养皿出现菌落，表明测定过程中有污染，本次测定无效。

### 5.5.5 结果计算

菌量以 $X$ 表示，单位为CFU/mL（液体试样）或CFU/g（固体试样），按式（2）计算：

$$X = \frac{Nf}{V} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$N$ ——菌落平均数的数值，单位为CFU；

$f$ ——稀释度；

$V$ ——涂布的稀释菌液的体积的数值，单位为毫升（mL）（ $V=0.1$ ）

### 5.6 杂菌率的测定

样品中的杂菌以霉菌计，按照GB 20287-2006 的6.3.3~6.3.4的规定进行。

### 5.7 硫化物氧化性能的测定

#### 5.7.1 方法提要

脱硫菌剂在一定浓度硫化物含量的溶液中，在合适条件下经过一定时间将水中的硫离子氧化为硫单质或更高价态硫的化合物。培养一段时间后通过对比前后溶液中硫化物含量的变化得出菌剂的硫化物氧化性能。

#### 5.7.2 试剂或材料

5.7.2.1 九水硫化钠： $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 。

5.7.2.2 盐酸溶液：1+1。

5.7.2.3 氢氧化钠溶液：40g/L。

5.7.2.4 乙酸锌溶液：1mol/L。称取 220 g 二水乙酸锌 $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ 溶于水并稀释至 1000mL，若浑浊需过滤后使用。

5.7.2.5 硫代硫酸钠标准滴定溶液： $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$ 约为 0.1mol/L。

5.7.2.6 碘标准溶液： $c(1/2\text{I}_2)$ 约为 0.1 mol/L。棕色瓶保存。

5.7.2.7 重铬酸钾标准溶液：0.1 mol/L。

5.7.2.8 淀粉指示液：10g/L。

#### 5.7.3 仪器、设备

恒温摇床。

#### 5.7.4 分析步骤

5.7.4.1 取 1L 烧杯，加入约 800mL 水，快速加入 3.76g 九水硫化钠，搅拌溶解，加水稀释至 1000mL，调节 pH 至 8.0-8.5。此溶液为试液 A。

5.7.4.2 称取 0.2 g 固体样品，精确至 0.2mg，或使用移液枪移取 0.2mL 液体样品，置于 500 mL 锥形瓶中，迅速加入 200 mL 的试液 A，封口以防杂菌进入及硫化物的挥发。将锥形瓶放入 28℃恒温摇床，在 150 r/min 条件下培养 24 h，此溶液为试液 B。同时以水做参比。

5.7.4.3 移取 2mL 乙酸锌至 250mL 碘量瓶中，加入 10mL 试液 B，加入 1mL 氢氧化钠溶液，混匀。过滤碘量瓶中的试液，将沉淀连同滤纸一块转移回 250mL 碘量瓶中，加入 50mL 水和 10mL 碘标准溶液，加入 5mL 盐酸溶液后立即盖上瓶塞，水封，缓缓摇匀后，暗处放置 10min。用硫代硫酸钠标准滴定

溶液滴定至溶液呈淡黄色时，加入 1mL 淀粉指示液，继续滴定至蓝色刚好消失即为终点。同时做空白试验。

### 5.7.5 结果计算

5.7.5.1 测定中硫化物的含量以  $m$  计，数值以 mg 表示，按式（1）计算：

$$m = \frac{(V_0 - V)c \frac{M}{2}}{\frac{V_B}{V_A}} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$V_0$ ——空白试验消耗的硫代硫酸钠标准滴定溶液的体积的数值，单位为毫升（mL）；

$V$ ——试样消耗硫代硫酸钠标准滴定溶液的体积的数值，单位为毫升（mL）；

$c$ ——硫代硫酸钠标准滴定溶液实际浓度的准确数值，单位为摩尔每升（mol/L）；

$M$ ——硫的摩尔质量的数值，单位为克每摩尔（g/mol）（ $M=32.06$ ）；

$V_A$ ——移取试液A的体积的数值，单位为毫升（mL）（ $V_A=200$ ）；

$V_B$ ——移取试液B的体积的数值，单位为毫升（mL）（ $V_B=10$ ）。

5.7.5.2 固体脱硫菌剂的硫化物氧化性能以  $P$  计，单位为  $\text{mg S}^{2-}/(\text{g}\cdot\text{d})$ ，按式（2）计算：

$$P_1 = \frac{(m_0 - m_1)}{mt} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$m_0$ ——24h生化反应后空白组培养基中硫化物的质量，单位为（mg）；

$m_1$ ——24h生化反应后样品组培养基中硫化物的质量，单位为（mg）；

$m$ ——称取固体脱硫菌剂的质量的数值，单位为克（g）；

$t$ ——菌剂生化反应时间，单位为天（d）（ $d=1$ ）。

5.7.5.3 液体脱硫菌剂的硫化物氧化性能以  $P$  计，单位为  $\text{mg S}^{2-}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ，按式（3）计算：

$$P_2 = \frac{(m_0 - m_1)}{Vt} * 1000 \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$m_0$ ——24h生化反应后空白组培养基中硫化物的质量，单位为（mg）；

$m_1$ ——24h生化反应后样品组培养基中硫化物的质量，单位为（mg）；

$V$ ——移取液体脱硫菌剂的体积的数值，单位为毫升（mL）（ $V=2$ ）；

$t$ ——菌剂生化反应时间，单位为天（d）（ $d=1$ ）。

## 6 检验规则

6.1 本文件规定的硫化物氧化性能指标为型式检验，其他指标为出厂检验项目。

6.2 按每一发酵罐菌液(或每批固体发酵)加工成的产品为一批。

6.3 按 GB 20287—2006 中 7.1 的规定进行采样，总量不少于 1000g（或 1000 mL）。将样品混匀，分装于两个无菌、干燥的聚乙烯瓶或采样袋中，密封。瓶（袋）上贴标签，注明：生产厂名、产品名称、批号、采样日期和采样者姓名。一瓶供检验用，另一瓶保存三个月备查。

6.4 采用 GB/T 8170—2008 规定的修约值比较法判定检验结果是否符合要求。

6.5 检验结果如有指标不符合本文件要求时，应重新自两倍量的包装中采样进行核验。核验结果即使只有一项指标不符合本文件要求时，则整批产品为不合格。

## 7 标志、包装、运输、贮存

- 7.1 菌剂产品包装袋或桶上应有牢固清晰的标志，内容包括：生产厂名称、产品名称、商标、净质量、批号、生产日期、本标准编号以及 GB/T 191 规定的“怕雨”、“怕晒”和“向上”标志。
- 7.2 每批出厂的菌剂产品都应附有质量合格证。
- 7.3 液体菌剂采用聚乙烯或聚丙烯塑料桶包装。每桶净质量 5kg 或 25kg，也可根据用户要求确定。采用双层桶盖，内盖扣严，外盖旋紧。用户需要时，液体菌剂也可用贮罐装运。
- 7.4 固体菌剂采用铝箔袋或聚乙烯、聚丙烯袋密封包装。每袋净质量 5kg 或 25kg，或根据客户要求确定。
- 7.5 脱硫菌剂产品在运输过程中，应有防日晒及防雨淋措施，并保持包装完整、标志清晰。装卸时应轻搬轻放，防止交叉污染，防止包装破损。
- 7.6 脱硫菌剂产品应贮存在通风、阴凉、干燥的库房中，不得与有毒、有害物质共同存放，防止交叉污染。
- 7.7 在符合本文件规定的运输和贮存条件下，且包装完整、未开启封口，液体产品贮存期为六个月，固体产品贮存期为十二个月。

## 8 安全要求

按照 HJ/T 415 的技术要求对脱硫菌剂进行环境安全评价，应不存在安全风险。

---