###

GB/T XXXXX—201X

中华人民共和国国家标准

ICS 07.080

A 21

生物产品降解酚类污染物功效评价

技术规范

Technical specification of evaluation for degradation of phenol pollutants in biologic products

（征求意见稿）



发布

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

201X-XX-XX 发布

201X-XX-XX实施

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由中国标准化研究院提出并归口。

本标准起草单位：。

本标准主要起草人：。

生物产品降解酚类污染物功效评价技术规范

**警告——本标准的使用可能涉及某些有危险的材料、操作和设备,但并未对与此有关的所有安全问题都提出建议。使用者在应用本标准之前有责任制定相应的安全和保护措施,并确定相关规章限制的适用性。**

1 范围

本标准规定了生物产品降解酚类污染物效果评价试验原理、仪器设备及器具、试剂与材料、试验步骤、结果分析。

本标准适用于微生物和酶生物产品降解酚类污染物效果评价。

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，仅所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 2601 酚类产品组成的气相色谱测定方法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

3 术语和定义

3.1

生物产品 biological products

利用生物技术获得的产品。

3.2

酚类化合物 phenolic compound

芳香烃中苯环上的氢原子被羟基取代所生成的化合物，是芳烃的含羟基衍生物，根据其分子所含的羟基数目可分为一元酚和多元酚。

**警告：此类化合物可以吸入、食入或透过皮肤吸收而致中毒，低剂量摄入就严重中毒，也是引致恶性肿瘤的物质。**

4 原理

一定条件下生物产品使表面活性剂发生降解后，剩余酚类物质经离心，过滤后，用气相色谱法测定，通过比较降解前后酚类化合物浓度变化，来判定该生物产品的功效。

5 仪器与设备

5.1 分析天平： 精确到0.0001 g。

5.3 pH计：精度±0.01pH。

5.4 高速冷冻离心机。

6 试剂与材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，实验用水均为GB/T 6882规定的二级水。

6.1 酚类化合物

纯度应大于等于95%。

6.2 100 g/L酚类化合物储备溶液

分别称取各种酚类化合物标准品1.000 g，用丙酮或无水乙醇溶解并定容至10 mL容量瓶中，配制成浓度为100g/L的储备溶液，于冰箱冷冻室中保存。

6.3 基础营养基溶液

按照GB/T 15818要求进行配制。

7 试验步骤

7.1 试验设计

不同类型生物产品降解酚类污染物效果试验设计应符合表1要求。

表1 生物产品降解酚类污染物效果试验设计

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 | 产品种类 |
| 微生物产品 | 酶产品 |
| 处理设计 | 1.供试样品2.失活样品3.空白对照 |
| 重复次数 | 不少于3次 |
| 反应条件 | 按正交试验结果确定 |

7.2 待测微生物试验实施

7.2.1 供试样品处理

固体产品应进行研磨处理，制成粉末状供试样品。

7.2.2 失活样品处理

取供试的固体或液体微生物样品进行121 ºC，30 min杀菌处理。

7.2.3 最佳反应体系确定

250 ml三角瓶中加入100 ml基础营养基溶液，121 ℃，20 min灭菌，冷却。设计正交实验，按照供试样品的影响因素宜选取反应温度、反应转速、底物浓度、反应时间等，确定最佳反应体系条件。

7.2.4 降解处理试验

取250 mL三角瓶9个，空白样3个，供试样品瓶3个，失活样品瓶3个。分别向9个瓶中加入100 mL基础营养基溶液，进行灭菌处理后备用。按照最佳反应体系条件进行降解试验。

7.3 待测酶试验实施

7.3.1 供试样品处理

固体产品应用缓冲溶液溶解。

7.3.2 失活样品处理

用缓冲溶液溶解后的固体样品或液体酶样品在100 ºC环境下进行15 min去酶活处理。

7.3.3 最佳反应体系确定

250 ml三角瓶中加入100 ml缓冲溶液，设计正交实验，影响因素宜选取酶量、底物浓度、pH值、反应时间等，确定最佳反应体系条件。

7.3.4 降解处理试验

取250 mL三角瓶9个，空白样品瓶3个，供试样品瓶3个，失活样品瓶3个。分别向9个瓶中加入100 mL缓冲溶液。按照最佳反应体系进行降解试验。

7.4 浓度测定

正交实验结束后，将菌液在12000 r/min，离心10 min，取上清液，真空冷冻干燥后，用丙酮或无水乙醇溶解，经0.45 μm膜过滤后，按照GB/T 2601中的方法测定酚类化合物浓度。

8 结果分析

8.1 结果计算

降解率按照式（1）计算：

$D=\frac{\left(ρ\_{0}-ρ1\right)-\left(ρ\_{0}-ρ2\right)-\left(ρ\_{0}-ρ^{'}\right)}{ρ\_{0}}×100\%$$D=\frac{ρ\_{0}-（ρ\_{t}+ρ^{'}）}{ρ\_{0}}×100\%$ …………………………..（1）

式中：

*D*——底物的降解率（%）；

*ρ0*——为反应开始时的起始底物浓度（mg/L）；

*ρ1*——为供试样品反应后的残留底物浓度（mg/L）；

*ρ2*——为失活样品反应后的残留底物浓度（mg/L）；

*ρ′*——为空白样品反应后的残留底物浓度（mg/L）。

以平行样的平均值为最终的降解率值，计算结果保留到小数点后两位。

8.2 结果判定

以降解率的大小评价被测试生物产品的降解功效：降解率大于等于80%，小于100%时，降解效果为好；降解率大于等于60%，小于80%时，降解效果为良好；降解率大于等于40%，小于60%时，降解效果为较好；降解率大于等于20%，小于40%时，降解效果为一般；降解率小于20%时，降解效果为差。

8.3 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_