

团体标准

T/SZS 4096—2024

微生物降解塑料制品降解性能快速检测技术规范

Technical specification for rapid detection of microbial degradable
plastic products degradability

2024-12-27 发布

2024-12-27 实施

深圳市深圳标准促进会 发布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 一般要求 2

5 工作流程 2

6 快速检测技术方法及要求 3

 6.1 样品制备 3

 6.2 菌群检测法 3

 6.3 跟进性测试 6

7 降解性能评判要求 13

附录 A（资料性） 菌株鉴定检测报告示例 14

附录 B（资料性） 堆肥法检测报告 16

参考文献 18

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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由深圳市中集新材科技发展有限公司提出。

本文件由深圳市深圳标准促进会归口。

本文件起草单位：深圳市中集新材科技发展有限公司、东莞愷进塑胶制品有限公司、东莞市金顺包装材料有限公司、深圳市恒得源环保新材料科技有限公司、广东省华微检测股份有限公司、广西骏辉高分子科技有限公司、惠州市雅祥实业有限公司、贵州格林杜尔环保新材料有限公司、深圳市华万彩实业有限公司、东莞市梓俊胶袋制品有限公司、深圳市丰园控股有限公司、通标标准技术服务有限公司、深圳市大二包装制品有限公司、东莞市金宠智能科技有限公司、深圳市善翔环保科技有限公司。

本文件主要起草人：刘松、邓海波、周志林、李小凤、徐立峰、蔡小慧、练晓、文晓翔、廖其明、郝习孟、蔡佳君、李柱成、詹佳莲、张贤江、刘义文、邱彬、冯雪萍、刘敬雯、高上淇、林智明。

微生物降解塑料制品降解性能快速检测技术规范

1 范围

本文件规定了微生物降解塑料制品降解性能快速检测的一般要求、工作流程、快速检测技术方法和降解性能评判等要求。

本文件适用于对微生物降解塑料制品进行降解性能快速检测及其降解性能评判。

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 20197—2006 降解塑料的定义、分类、标识和降解性能要求

GB/T 34224—2017 生物产品中功能性微生物检测

GB/T 41010—2021 生物降解塑料与制品降解性能及标识要求

ISO 14855-1:2012 受控堆肥条件下塑料材料最终需氧生物分解能力的测定 采用测定释放的CO₂的方法 第1部分：通用方法 (Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials under controlled composting conditions—Method by analysis of evolved carbon dioxide—Part 1: General method)

APHA-AWWA-WPCF 2540D 103 °C~105 °C温度下干燥的总悬浮固体测定 (Total Suspended Solids Dried at 103 °C to 105 °C)

APHA-AWWA-WPCF 2540E 550 °C灼烧下的固定与挥发固体测定 (Fixed and Volatile Solids Ignited at 550 °C)

ASTM D1293 水的pH值检测方法 (Standard Test Methods for pH of Water)

ASTM D1888 水中颗粒物和溶解物的测试方法 (Methods of Test for Particulate and Dissolved Matter in Water)

ASTM D2908 采用水注入气相色谱法测定水中挥发性有机物的实践方法 (Standard Practice for Measuring Volatile Organic Matter in Water by Aqueous-injection Gas Chromatography Chromatography)

ASTM D3590 水中总凯氏氮的检测方法 (Standard Test Methods for Total Kjeldahl Nitrogen in Water)

ASTM D5338-15:2021 受控堆肥条件下结合嗜热温度测定塑料材料好氧生物降解的标准检测方法 (Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions, Incorporating Thermophilic Temperatures)

ASTM E260 填充柱气相色谱法操作规程 (Standard Practice for Packed Column Gas Chromatography)

ASTM E355 气相色谱术术语及其相关性的规范 (Standard Practice for Gas Chromatography Terms and Relations)

3 术语和定义

GB/T 20197、GB/T 41010界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

堆肥 compost

由混合物生物分解得到的有机土壤调节剂。该混合物主要由植物残余组成，有时也含有一些有机材料和一定的无机物。

[来源: GB/T 20197—2006, 3.8]

3.2

微生物降解 microbial biodegradation

由于微生物活动引起材料降解, 导致其相对分子质量下降与质量损失、物理性能下降等, 并最终被分解为成分较简单的化合物及所含元素的矿化无机盐、生物死体的一种性质。

[来源: GB/T 41010—2021, 3.1, 有修改]

3.3

微生物降解塑料制品 microbial degradation of plastic products

通过微生物代谢活动而引起降解的塑料制品。

注: 该塑料制品在自然环境或特定条件下(如土壤、沙土、堆肥化条件、厌氧消化条件或水性培养液中), 高聚物逐渐变为低分子化合物, 最终被微生物完全降解成CO₂、水及其所含元素的矿化无机盐等无害物质。

3.4

接种物 inoculum

从正常运行的需氧堆肥装置中产生的, 经过充分曝气处理的堆肥材料。

注: 这种堆肥材料能满足均匀性的要求, 不含有玻璃、石块、金属件等大的惰性物质。在使用前, 通过手工方式去除这些杂质, 并进一步利用孔径范围为0.5 cm~1.0 cm的筛子筛选后所得的堆肥材料。

4 一般要求

4.1 开展检测前, 应明确塑料制品类别, 制定取样策略, 明确流程中的取样与评判要求, 并规范检测方法。

4.2 运用快速检测方法(菌群检测法和跟进性测试)对塑料制品进行检测, 塑料制品分为一次性塑料制品和多次使用塑料制品, 一次性塑料制品包括塑料购物袋、连卷袋、塑料包装袋(含编织袋), 一次性塑料餐盒、塑料餐具(刀、叉、勺)、塑料吸管。

注1: 菌群检测法主要用于微生物降解塑料制品中地衣芽孢杆菌的检测, 通过检测该制品内部地衣芽孢杆菌的种类和数量, 快速判定微生物降解塑料制品具有生物降解性能。

注2: 跟进性测试用于进一步验证微生物降解塑料的生物降解性能, 能够采用ISO 14855-1:2012规定的受控堆肥条件下材料最终需氧生物分解能力的测定方法, 检测周期为45天; 也能够采用ASTM D5338-15:2021规定的在模拟需氧堆肥条件下测定材料最终需氧生物分解的速率和程度的方法, 检测周期至少45天。

4.3 按评判要求对检测结果进行评判, 判定是否为微生物降解塑料制品。

5 工作流程

微生物降解塑料制品降解性能快速检测工作流程见图1。

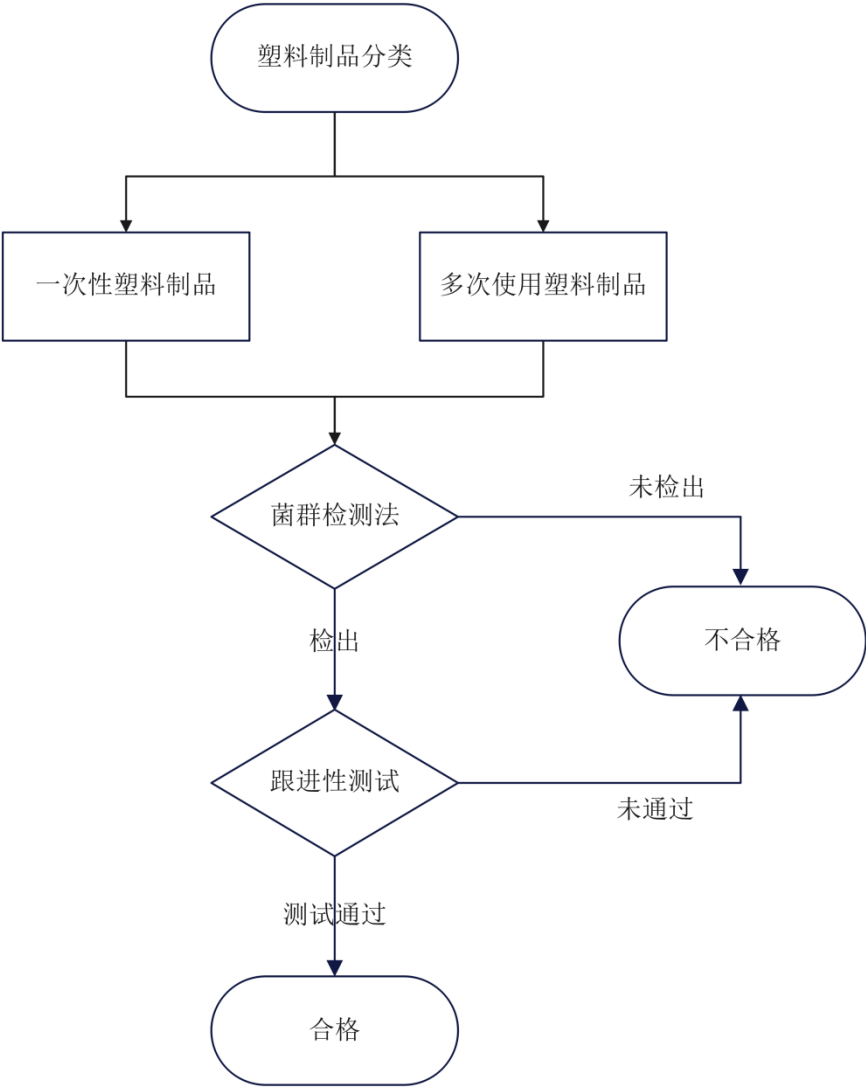


图1 微生物降解塑料制品降解性能快速检测工作流程

6 快速检测技术方法及要求

6.1 样品制备

将塑料制品使用液氮冷却后，用高速破碎机进行破碎，使用筛网筛出粒径不大于0.25 mm的作为实验样品。

6.2 菌群检测法

6.2.1 仪器设备、耗材、培养基及试剂

6.2.1.1 仪器设备及耗材

- 菌群检测的仪器设备及耗材应包括：
- 超净工作台或者生物安全柜；
 - 电子天平：感量为0.01 g；
 - 恒温培养箱：37℃±1℃；
 - 高压灭菌器；
 - 显微镜；
 - 水浴锅；

- 振荡器；
- 无菌锥形瓶：容量 250 mL、500 mL；
- 无菌培养皿：直径 90 mm；
- L 形玻璃棒；
- 无菌吸管：1 mL、10 mL 或微量移液器及吸头。

6.2.1.2 培养基及试剂

- 培养基和试剂应包括：
- 营养琼脂培养基；
 - 无菌生理盐水；
 - 革兰氏染色液；
 - 细菌生化鉴定试剂盒。

6.2.2 检测流程

检测流程见图2。

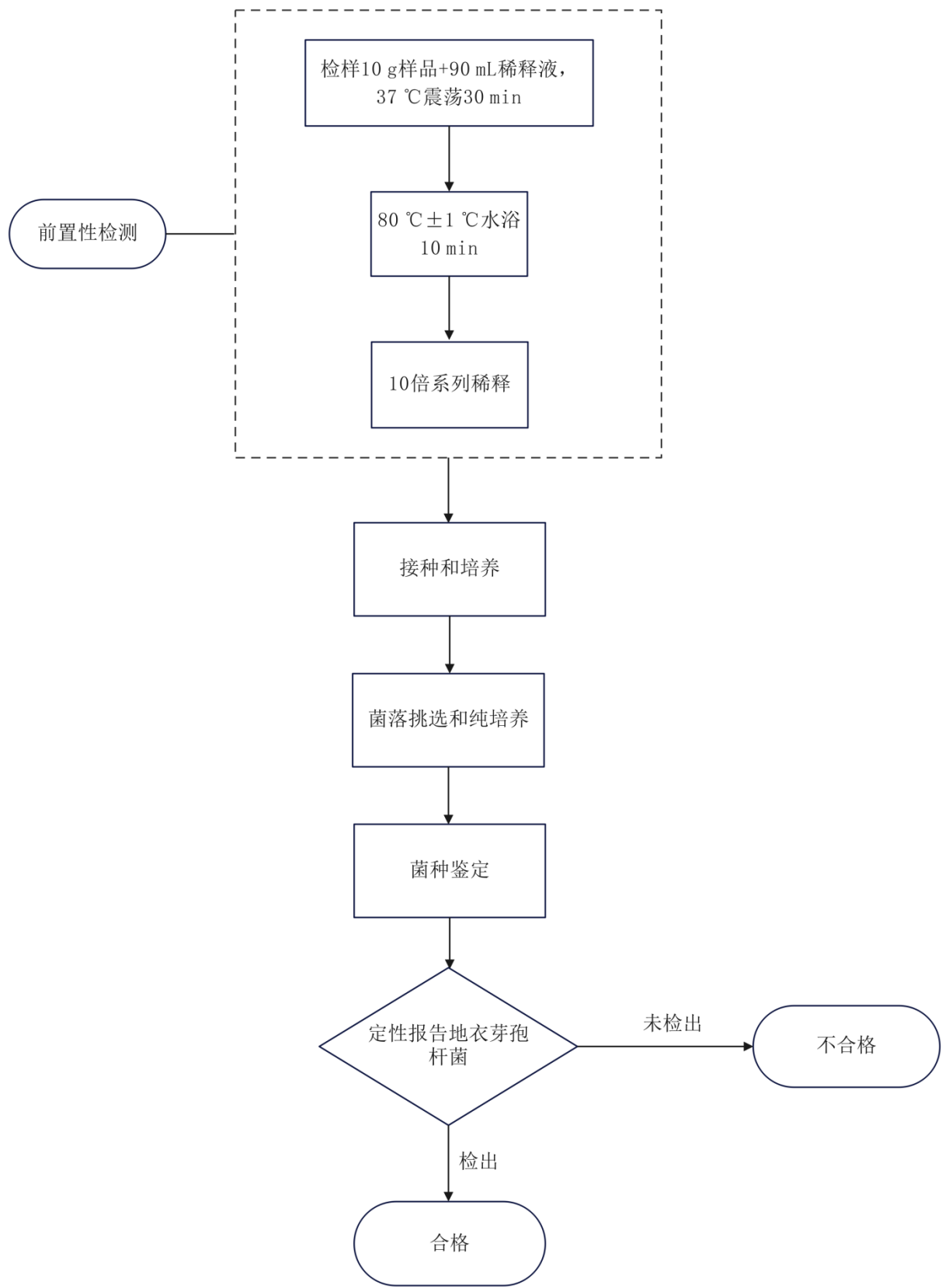


图2 检测流程

6.2.3 前置性检测

无菌操作称取按6.1处理后的样品 $10\text{ g}\pm 1\text{ g}$ ，注入到盛有90 mL稀释液的锥形瓶中，置于振荡器上，于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 震荡30 min，制成1:10的初始样液，水浴 $80\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 维持10 min。取出静置15 min，吸取1:10的初始样液10.0 mL，加入含有90.0 mL生理盐水的稀释瓶中，充分振摇，制成1:100的稀释液，每个稀释度换用一支10.0 mL无菌吸管，按上述操作程序递增十倍稀释至合适浓度。如被检样品含有大量吸水性材料而导致不能吸出足够上清液时，稀释液量可按照每次50 mL递增，直至能吸出满足测试用的上清液。在计算的时候稀释度做相应调整。

6.2.4 检测过程

6.2.4.1 接种和培养

选择2个~3个适宜稀释度，每个梯度2个平行，用无菌移液器分别移取0.2 mL稀释液，接种到营养琼脂培养基上，将涂布好的无菌培养皿盖好，置于室温中放置15 min后，倒置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，培养 $48\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 。

6.2.4.2 菌落挑选和纯培养

从地衣芽孢杆菌计数平板上挑选呈白色，湿润有光泽，表面略有放射状条纹的菌落不少于5个，划线转接至营养琼脂培养基上， $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $48\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 后进行形态学鉴定，再进行生理生化鉴定或者遗传特性鉴定。

6.2.4.3 菌种鉴定

将挑取纯化的单一菌落做革兰氏染色、镜检。革兰氏阳性杆菌，有明显芽孢体存在的菌落，进一步采用细菌生化鉴定试剂盒或者分子生物学方法进行鉴定。其中地衣芽孢杆菌生化鉴定特征见表1。

表1 地衣芽孢杆菌生化鉴定特征

项目	地衣芽孢杆菌	项目	地衣芽孢杆菌
接触酶	+	水解：明胶	+
厌氧生长	+	水解：淀粉	+
V-P测定	+	酪氨酸水解	-
V-P培养物终pH<6	+	硝酸盐还原到亚硝酸盐	+
V-P培养物终pH<7	-	pH6.8生长	+
产酸：葡萄糖	+	pH5.7生长	+
产酸：阿拉伯糖	+	7 %NaCl生长	+
产酸：木糖	+	生长温度范围	$25\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 55\text{ }^{\circ}\text{C}$
产酸：甘露糖	+	卵黄卵磷脂酶	-
利用柠檬酸盐	+	甲级红实验	+
利用丙酸盐	+	过氧化氢酶	+
注：+表示不小于90 %阳性，-表示阴性。			

[来源：GB/T 34224—2017，B.4]

6.2.5 结果与报告

6.2.5.1 结果判定

符合形态学、生理生化鉴定或者遗传特性鉴定符合6.2.4.3，可判定为地衣芽孢杆菌。

6.2.5.2 结果报告

在10g样品中检出或者未检出地衣芽孢杆菌。检测报告见附录A。

6.3 跟进性测试

6.3.1 接种物要求

跟进性测试接种物准备符合以下要求：

——使用城市固体废弃物中有机部分产生的通气良好的堆肥，肥龄宜为2个月~4个月，用小于10 mm的筛网将堆肥进行筛选。若无满足要求的堆肥，则可采用绿色和庭院废料，或采用绿色废料和城市固体废弃物的混合物产生的堆肥。在检测开始的前10天内，堆肥接种物每克

挥发性固体产生 50 mg~150 mg 的 CO_2 ，且灰分含量低于 70%，pH 值在 7~8.2 之间，总干重固体含量应在 50%~55%之间；

- 接种物不含较大的惰性材料（玻璃、石头、金属等），手工去除杂质，使得接种物均匀；
- 为尽可能维持良好的曝气条件，宜加入多孔、惰性或难以生物分解的结构材料，以阻止堆肥在检测期间的粘连和堵塞。

6.3.2 基于 ISO 14855-1:2012 的 45 天堆肥法

6.3.2.1 检测环境、试剂、仪器

检测环境、试剂、仪器应符合 ISO 14855-1:2012 的规定。

6.3.2.2 检测流程

基于 ISO 14855-1:2012 的 45 天堆肥法的生物降解率检测流程见图 3。

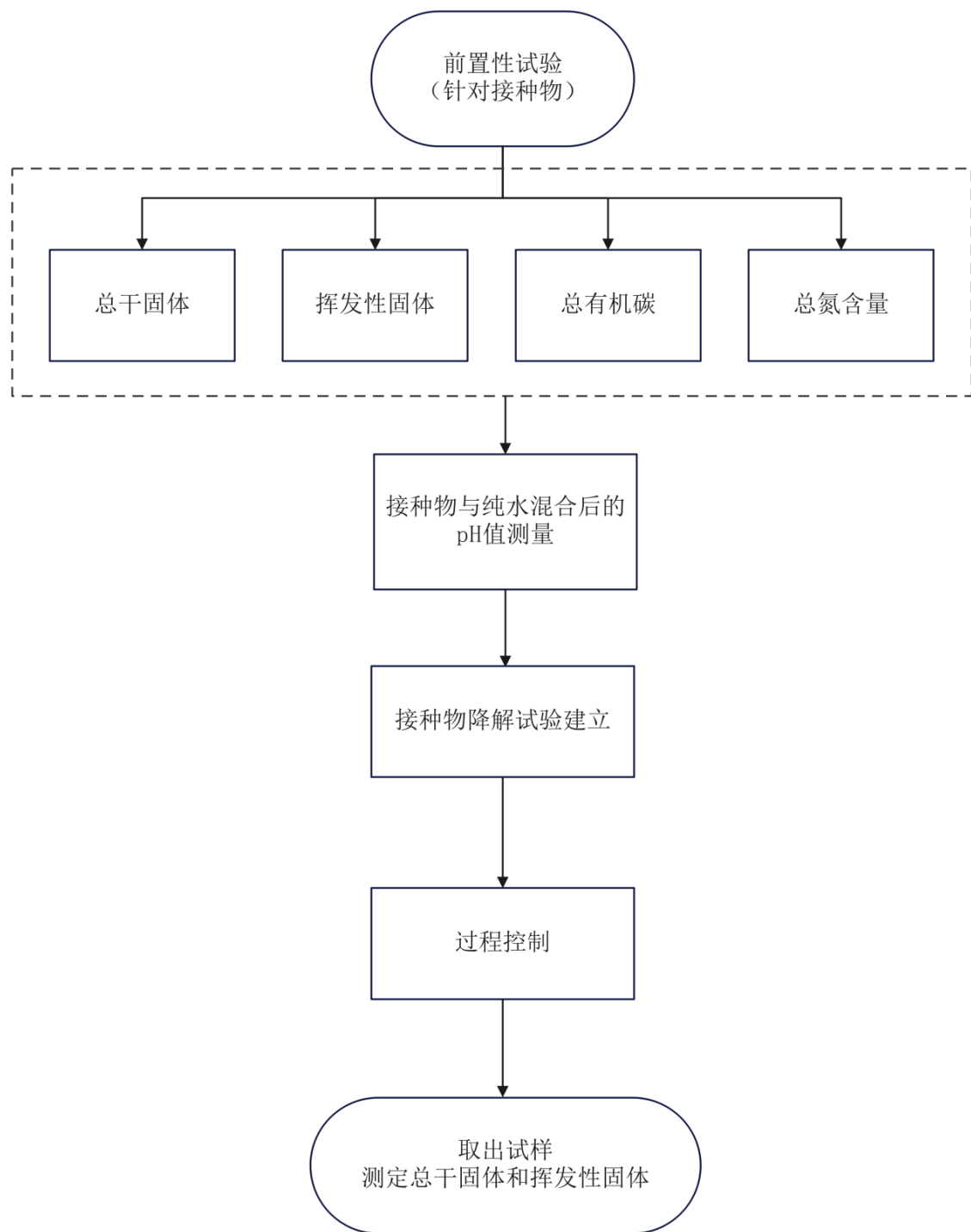


图3 生物降解率检测流程

6.3.2.3 前置性检测

按ISO 14855-1:2012中8.1的方法准备好接种物。测定接种物中的总干固体含量、挥发性固体含量、总有机碳、总氮或脂肪酸含量。总干固体含量应是湿固体量的50 %~55 %，挥发性固体含量应超过湿固体量的15 %（或超过干固体含量的30 %）。按ISO 14855-1:2012中8.2的方法准备检测材料和参比材料，测定准备好的检测材料和参比材料的总有机碳。

6.3.2.4 检测过程

检测操作步骤为：

- a) 准备堆肥容器。至少 3 个装检测材料的容器、3 个装参比材料的容器和 3 个空白容器；
- b) 将检测材料和接种物混合后装入堆肥容器中，方法按照 ISO 14855-1:2012 中 8.3 执行；
- c) 用同样的方法，将参比材料与接种物混合后装入堆肥容器中；
- d) 将接种物装入空白容器。空白容器与检测材料容器中接种物的总干固体的量应当相等；
- e) 把上述堆肥容器放置在 $58\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的检测环境中，在 ISO 14855-1:2012 中 8.3 所述的湿度、氧气浓度等条件下，堆肥 45 天；
- f) 检测开始后，应按 ISO 14855-1:2012 中 8.3 的方法定期测量含检测材料的堆肥 pH 值，控制检测过程中的 pH 值应在 7.0~9.0 之间；
- g) 在检测期间按 ISO 14855-1:2012 中 8.4 的方法定期测量每个堆肥容器排放气体中的 CO_2 的含量。45 天后从每个容器取出检测混合物的试样。测定总干固体和挥发性固体。

6.3.2.5 数据处理

采用 ISO 14855-1:2012 中 9.1、9.2、9.4 的方法计算并表示实验材料和参比材料的生物降解率。

6.3.2.6 结果有效性

检测应符合下列要求，结果为有效：

- a) 45 天后参比材料的生物分解百分率超过 70 %；
- b) 在检测结束时，每个堆肥容器的生物分解百分率之间的相对偏差不超过 20 %；
- c) 在培养前 10 天内，空白容器中接种物每克挥发性固体产生 CO_2 50 mg~150 mg。

6.3.2.7 检测报告基本要求

检测报告可参考附录 B，应列出所有有关资料，包括但不限于：

- a) 引用的标准；
- b) 所有标识和描述检测材料所需的资料，如：干固体含量、挥发性固体含量、有机碳含量、形状或外观等；
- c) 标识和描述检测参比材料所需的任何资料及其有机碳含量；
- d) 堆肥容器的容积、检测材料、参比材料和接种物的量，以及用来测定 CO_2 和碳的仪器的主要特征；
- e) 堆肥的资料，如来源、肥龄、接种日期、存储、处理、稳定、总干固体、挥发性固体、悬浮液的 pH 值、总氮含量或挥发性脂肪酸；
- f) 每一个堆肥容器测出的释放的 CO_2 和生物分解百分率及其平均值，可采用图表形式，也可采用曲线形式，以及检测材料和参比材料的最终生物分解程度和接种物的活性（空白容器 10 天后产生的 CO_2 量）；
- g) 在检测期间和检测结束后接种物和检测材料的直观检查的结果，如水分含量、霉菌生长、色泽、结构、气味、崩解程度以及物理测量值和/或照片；
- h) 在检测开始和检测结束后每一个堆肥容器的质量如测量质量损失，则注明详细的质量损失情况；
- i) 检测结果不合格的理由；
- j) 标明蛭石来源、类型和用量；
- k) 根据需要，列出碳平衡测定结果。

6.3.3 基于 ASTM D5338-15:2021 的检测方法

6.3.3.1 仪器设备、试剂

6.3.3.1.1 仪器设备包括：

- a) 堆肥装置。一系列至少 12 个堆肥容器（一个装检测材料、一个空白对照、一个装正控制参比材料、一个装负控制参比材料，每个均设置至少三个重复），容积为 2 L~5 L 或更小。水浴或其他温度控制，维持堆肥容器温度为 $58\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。压缩空气系统，以精确的曝气速率为每个堆肥容器提供无 CO_2 、 H_2O 饱和的空气。如果直接测量 CO_2 ，则可使用正常空气。适用于测量堆

肥容器排气中 O₂ 和 CO₂ 浓度的装置，如特定传感器或适当的气相色谱仪。启用 CO₂ 捕集器的装置见图 4；

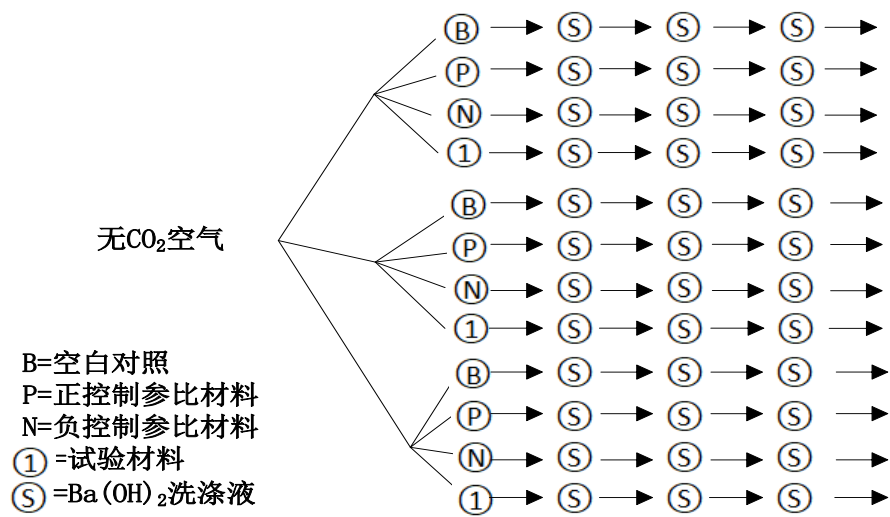


图 4 启用 CO₂ 捕集器的装置

- b) CO₂ 捕集器。至少三个 5000 mL 瓶子，配有气体喷射装置，并含有 Ba(OH)₂ 的 CO₂ 吸收溶液，且配有不渗透 CO₂ 的柔性管，配备气体采样部件的塞子；
- c) 其他仪器设备。分析天平 (±1 mg)，用于称量试样；100 mL 滴定管、0.05 N HCl、pH 计；适用于测定干固体 (在 105 °C)、挥发性固体 (在 550 °C)、水注射色谱法挥发性脂肪酸、总凯氏氮和碳浓度的装置和分析设备；
- d) 可选仪器设备。CO₂ 捕集器和滴定设备可以用气体流量计和气相色谱仪或其他配备合适检测器和柱的设备取代，用于测量每个堆肥容器排气中的 CO₂ 和 O₂ 浓度。为确保在整个测试过程中产生可靠的累积 CO₂ 产量，应多次分析 CO₂ 浓度 (如每 3 h~6 h 测量一次)；应在整个测试过程中连续注入标准气体，以对气相色谱仪进行内部标准化。气相色谱仪的操作应符合 ASTM E260 和 ASTM E355 实践规范 (见图 5)。

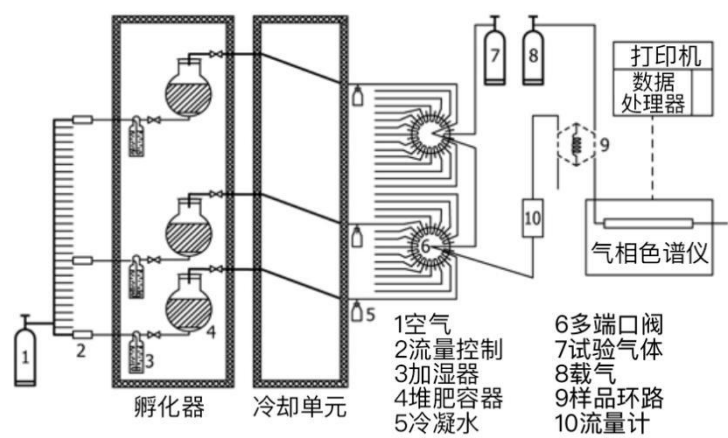


图 5 使用气相色谱仪的可选装置

6.3.3.1.2 试剂包括：

- Ba(OH)₂溶液，浓度约 0.024 N，通过每升蒸馏水溶解 4.0 g Ba(OH)₂来获取，应用滤纸过滤，并密封储存得到澄清溶液，以防止从空气吸收 CO₂；
- 薄层色谱级纤维素，使用薄层色谱级纤维素作为正控制参比材料，粒径小于 20 μm；
- 聚乙烯作为负控制参比材料。聚乙烯应与检测材料形式相同。

6.3.3.2 前置性检测

6.3.3.2.1 样本准备

样本准备步骤如下：

- a) 从处理城市固体废物正常运行的需氧堆肥厂或其有机部分获取接种物。根据需要，在实验室进一步稳定接种物，以获得较低的 CO₂ 产量；
- b) 将接种物筛至小于 10 mm，并手动去除任何大的惰性物品（碎片玻璃、石头、木头等）。按照检测方法 ASTM D3590, ASTM D1888、APHA-AWWA-WPCF 2540D 和 APHA-AWWA-WPCF 2540E 测试方法测定挥发性固体、干固体及氮含量；
- c) 测定所有检测物质的挥发性固体、干固体和碳含量；
- d) 称出约 600 g 接种物干固体并与约 100 g 来自样品干固体混合。用蒸馏水将容器中混合物干固体含量调整至约 50 %。如果 C/N 比大于 40，则加氯化铵。在堆肥过程开始前，立即称量容器及其内所有物质总重；
- e) 空白组仅含接种物，内有约 600 g 干燥固体。使用薄层色谱纤维素作为正控制参比对照，用聚乙烯作为负控制参比对照；
- f) 检测材料可以是薄膜形式、成型制品如狗骨、颗粒或粉末等物质形式。使用的紧凑实验材料最大表面积应约为 2 cm×2 cm，如果原始检测材料较大，应将其粒径减小；
- g) 检测混合物的体积不应于堆肥容器容积的四分之三，以留下足够的顶部空间，使得检测混合物能够进行人工振荡。

6.3.3.2.2 堆肥装置曝气

采用足够大的空气流量，对堆肥装置进行曝气，确保排气中氧气浓度不低于 6 %。第一个星期应密切监测氧气浓度，至少每天测量两次，必要时，调节空气流量。

6.3.3.3 检测过程

检测操作步骤为：

- a) 堆肥容器在暗处或漫射光下孵育 45 天，置于对微生物无毒的密闭蒸气环境中，温度保持在 58 °C ± 2 °C。在特殊情况下，若测试材料的熔点较低时，可以选择另一种温度。此温度应在测试期间保持恒定，并保持在 ± 2 °C 的范围内。温度的变化应在测试报告中明确说明并合理解释；
- b) 在第一周后的剩余测试中，至少每天检查一次排出空气中的 CO₂ 和 O₂ 浓度，时间间隔至少为 6 h；
- c) 每天在堆肥容器前和出口处检查气流，确保整个系统无泄漏。调整气流以维持至少 2 % 体积比的 CO₂ 浓度，以便准确测定排气中的 CO₂ 水平；
- d) 确保适当的堆肥条件。每周摇动堆肥容器以防止广泛通道形成，提供对测试样本的均匀攻击，并确保水分均匀分布。若观察到水分含量较高，如容器中的游离水或由于高水分含量而结块，则通过注入干空气或通过进气口排水来去除多余水分。若观察到过于干燥的条件，将严重减慢分解过程，则添加水分。在整个测试过程中，进行调整以确保适当的堆肥条件。若进行调整，则在接下来的 72 h 内必须密切监测 CO₂ 和 O₂ 浓度，并至少每天测量两次，时间间隔超过 6 h；检测材料应符合以下要求：
 - 1) 检测材料含有足够的碳，使其产生的 CO₂ 可供 CO₂ 捕集器或 CO₂ 测量仪进行充分测量；
 - 2) 优化所有基本堆肥参数，如 C/N、堆肥容器中氧气量，孔隙率和含水量，以实现良好的堆肥过程。对于接种物和检测材料的组合，C/N 比应优选在 10~40 之间。堆肥容器中的氧气水平应始终不低于 6 %，且不存在游离水和结块物质。
- e) 在每周摇动的情况下，测试结束时，记录关于堆肥结构、水分含量和颜色、真菌发育、排气气味以及样品崩解的视觉观察；

- f) 若仍观察到测试物质的显著生物降解, 则可将 45 天的孵育时间延长;
g) 称量每一个含有检测混合物的堆肥容器, 并确定剩余堆肥材料中的干固体浓度。

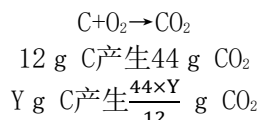
6.3.3.4 数据处理

6.3.3.4.1 通过元素分析法或根据已确定的化学成分进行计算, 测定检测材料的总碳含量。允许 CO₂ 排放量的理论值计算见公式 (1) 和公式 (2):

$$\text{检测材料} = w\%C \cdots \cdots \cdots (1)$$

$$\frac{w}{100} \times \text{堆肥器中检测材料的重量 (g)} = \text{堆肥器重检测材料碳含量 (g)} \cdots \cdots \cdots (2)$$

其中, 原理为:

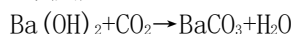


注: 检测材料含有 w % 的碳量, 加入堆肥器中检测材料的量 $\times W\%$ 则得出 Y g 的碳含量, 由 Y g 含碳量通过分子量如上公式则可以算出产生的 CO₂ 的含量, 即 $(Y \times 44) / 12$ 。

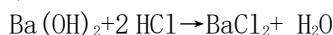
6.3.3.4.2 测定检测物质产生的累计 CO₂ 量, 操作步骤为:

- a) 通过比较测试物质与空白 Ba(OH)₂ 捕集器消耗滴定剂的毫升数差异, 来确定产生的 CO₂ 量。用 0.05 N HCl 进行滴定。

当 CO₂ 进入吸收瓶时, 会发生如下反应:



形成的 BaCO₃ 是不溶性的, 并且会沉淀。根据以下方程, 通过使用酚酞作为指示剂的 HCl 终点滴定法, 测定溶液中剩余的 Ba(OH)₂ 量:



从上述两个方程可以看出, 产生的 CO₂ 的 mmol 数计算见公式 (3):

$$mmoles CO_2 = \text{起始的 } mmoles Ba(OH)_2 - \frac{mmoles HCl}{2} \cdots \cdots \cdots (3)$$

- b) 对于采用气相色谱法的选项, 累积 CO₂ 产量 (以 g 为单位) 是通过测量流速和气体组成, 并经过标准温度和压力 (STP) 条件下的重新计算来确定的;
c) 计算每个反应器产生的累积气态碳的量;
d) 通过受控堆肥过程中检测物质平均气态碳产量减去仅含接种物控制 (三个重复) 的平均气态碳含量, 来确定净气态碳产量的平均值 (三个重复检测)。

6.3.3.4.3 通过将检测化合物的平均净气态碳产量除以检测化合物中原始的平均碳量, 再乘 100, 来计算生物降解的百分比, 计算见公式 (4):

$$\text{生物降解百分比} = \frac{\text{试验材料平均 } C_g - \text{空白容器平均 } C_i}{C_i} \times 100 \cdots \cdots \cdots (4)$$

式中:

C_g ——产生气态碳克数;

C_i ——添加的检测化合物中碳克数。

6.3.3.4.4 生物降解百分比的标准误差 (S_e) 计算见公式 (5):

$$S_e = SQRT \left(\frac{S_{test}^2}{n_1} - \frac{S_{blank}^2}{n_2} \right) \times \frac{100}{C_i} \cdots \cdots \cdots (5)$$

式中:

S_e ——产生的总气态碳的标准差;

n_1 ——检测容器重复次数;

n_2 ——对照容器的重复次数。

6.3.3.4.5 95 % 置信区间计算见公式 (6):

$$95 \% CL = \text{生物降解百分比} \pm (t \times S_e) \cdots \cdots \cdots (6)$$

式中:

t——具有 $(n_1 + n_2 - 2)$ 自由度的 95 % 概率的 t 分布值, $n = 3 + 3 - 2 = 4$;

S_e ——产生的总气态碳的标准差。

6.3.3.5 结果有效性

6.3.3.5.1 根据测试方法 ASTM D1293 测量 pH 值。如果 pH 值小于 7，则根据规范 ASTM D2908 测量挥发性脂肪酸光谱，以指示堆肥容器中物质的酸化情况。将蒸馏水与堆肥接种物或残留物按 5:1 (w/w) 的比例稀释，人工摇动混合后立即测量 pH 值。如果堆肥容器中每千克干物质形成的挥发性脂肪酸超过 2 g，则检测应视为无效。

6.3.3.5.2 在大多数情况下，当研究塑料材料时，为了检查接种物的活性，需使用已知能够生物降解的参考物质或对照物质。若正控制参比物（如纤维素）在 45 天后的生物降解率低于 70%，则测试应被视为无效，并应使用新的接种物重复进行。若正控制参比物的生物降解率在实验结束时偏离超过或等于 20%，则测试也应被视为无效。

6.3.3.6 检测报告基本要求

检测报告包括以下数据和信息：

- 接种物的信息，包括来源、干固体百分比、挥发性固体百分比、总凯氏氮、活性（前 10 天产生的 CO₂ 量）、收集日期、储存和处理方法；
- 塑料材料、正控制参比材料和负控制参比材料的碳含量，以及理论最大 CO₂ 产生量的计算。报告检测塑料材料的具体信息，包括尺寸、形状、体积和厚度，以及塑料材料的形式，即片状、粉末状、颗粒状等；
- 检测前后容器及其内容的重量；
- 随时间累积的 CO₂ 释放量和氧气消耗量，并以图形方式展示。报告用于执行检测方法的装置；
- 每种检测塑料材料的需氧生物降解百分比，以及每种检测材料或参比材料的生物降解百分比的标准偏差和 95% 置信区间；
- 相对于正控制参比材料（纤维素=100%）的生物降解百分比；
- 检测的温度范围；
- 堆肥接种物的 pH 值和最终残留物的 pH 值。对于最终 pH 值小于 7 的容器，应报告挥发性脂肪酸的浓度；
- 在检测期间和结束时的堆肥接种物和检测材料的视觉观察结果，如水分含量、真菌发育、结构、颜色和气味；
- 在检测材料为紧凑形式的情况下，定性描述检测材料的崩解情况。如果可用，请添加照片或测量的物理值等进一步信息；
- 检测开始和结束时堆肥容器的重量测量结果，以及如果确定的话，测定材料的重量损失。

7 降解性能评判要求

塑料制品降解性能检测结果满足以下指标，可判定合格：

- 菌群检测法检测结果为阳性；
- 对于一次性塑料制品，应满足菌群检测法检测结果要求，还应在跟进性测试中，相对降解率应超过 15%；
- 对于多次使用塑料制品，应满足菌群检测法检测结果要求，还应在跟进性测试中，相对降解率应超过 5%。

注：菌群检测法中地衣芽孢杆菌的检出即判定为阳性。

附 录 A
(资料性)
菌株鉴定检测报告示例

菌株鉴定检测报告示例见图A. 1。

样品名称 Name of Sample		检测类别 Test Type	
委托单位 Applicant		委托人 Client	
生产单位 Manufacturer		商标 Brand	
型号规格 Type and Specification		样品数量 Quantity of Sample	
生产日期/批号 Production Date/Batch No.		样品状态 Status	
收样日期 Date Received		检测日期 Date Analyzed	
检测依据和方法 Standard and Methods			
检测项目 Items of Analysis			
检测结论 Test Conclusion	签发日期： Issue Date		
备注 Remarks			

图 A. 1 菌株鉴定检测报告示例

检测结果：

样品编号	样品名称	检测项目	单位	检测结果
XXXX	XXXX	地衣芽孢杆菌定量检测	CFU/g	XXXX

一、形态学鉴定结果

样品编号	样品名称	测试项目	形态学鉴定结果
XXXX	XXXX	菌株鉴定	

二、生理生化鉴定结果

项目	检测结果	项目	检测结果
接触酶		水解：明胶	
厌氧生长		水解：淀粉	
V-P测定		酪氨酸水解	
V-P培养物终pH<6		硝酸盐还原到亚硝酸盐	
V-P培养物终pH<7		pH6.8生长	
产酸：葡萄糖		pH5.7生长	
产酸：阿拉伯糖		7%NaCl生长	
产酸：木糖		生长温度范围	
产酸：甘露糖		卵黄卵磷脂酶	
利用柠檬酸盐		甲基红实验	
利用丙酸盐		过氧化氢酶	

注：+表示不小于90%阳性，-表示阴性。

三、遗传特性鉴定结果

样品编号	样品名称	测试项目	菌种名称	相似度（%）
XXXX	XXXX	菌株鉴定		

菌株 扩增序列：

———报告结束/End of report———

图 A.1 菌株鉴定检测报告示例（续）

附录 B
(资料性)
堆肥法检测报告

堆肥法检测报告示例见图B.1。

检测材料：_____ 参比材料：_____
堆肥来源：_____ 堆肥肥龄：_____
检测容器容积：_____ 测定 CO₂ 方法：_____

检测结果：

	根据释放出的 CO ₂ 计算平均生物分解百分率 %	根据有机物质量计算平均生物分解百分率 %	检测时间 天	观测
检测材料				
参比材料				

有效性判断依据：

45 天后参比材料的生物分解百分率 > 70 %？

☐ 是 ☐ 否

检测结束时不同容器的参比材料的生物分解百分率的相对偏差是否 < 20 %？

☐ 是 ☐ 否

实验前 10 天内空白容器中接种物每克挥发性固体产生 CO₂ 量的平均值是否在 50 mg~150 mg？

☐ 是 ☐ 否

根据释放出 CO₂ 量计算的生物分解百分率：

检测材料或参比材料：_____ TOC：_____ g/g ThCO₂：_____ g/容器

日期	天数	(CO ₂) _{B1} g/容器	(CO ₂) _{B2} g/容器	(CO ₂) _{B3} g/容器	(CO ₂) _{B1,mean} g/容器	(CO ₂) _{t1} g/容器	(CO ₂) _{t2} g/容器	(CO ₂) _{t3} g/容器	D _{t1} %	D _{t2} %	D _{t3} %	D _{t,mean} %

(CO₂)_B ——实测空白检测产生的累计 CO₂ 量；

(CO₂)_t ——在 t 时间实测的检测材料或参比材料所产生的累计 CO₂ 量。

计算为：

$$(CO_2)_{B,mean} = \frac{(CO_2)_{B1} + (CO_2)_{B2} + (CO_2)_{B3}}{3}$$

图 B.1 菌株鉴定检测报告示例

$$D_t = \frac{(CO_2)_t - (CO_2)_{B,mean}}{ThCO_2}$$

$$D_t = \frac{D_{t1} + D_{t2} + D_{t3}}{3}$$

根据有机物质量损失计算的生物分解百分率:

检测材料: _____ 参比材料: _____

检测材料 (mat)	mat _w (g):	mat _d (g):	mat _v (g):	mat _{d/w} (g):	mat _{v/d} (g):
接种物, 开始时 (com _s)	com _{ws} (g):	com _{ds} (g):	com _{vs} (g):	com _{ds/ws} :	com _{vs/ds} :
检测混合物, 结束时 (mix _e)	mix _{we} (g):	mix _{de} (g):	mix _{ve} (g):	mix _{de/we} :	mix _{ve/de} :
接种物, 结束时 (com _e)	com _{we} (g):	com _{de} (g):	com _{ve} (g):	com _{de/we} :	com _{ve/de} :

检测材料	mat _{wfs} g/容器	mat _{vfs} g/容器	wat _{add} g/容器	ves _{ss} g/容器	ves _{as} g/容器	ves _y g/容器	ves _{ae} g/容器	mix _{wfe} g/容器	mix _{vfe} g/容器	mat _{vfe} g/容器	mat _{deg} g/容器	D _v %
mat ₁												
mat ₂												
mat ₃												
mat _{mean}												

空白	com _{wBs} g/容器	com _{vBs} g/容器	wat _{add} g/容器	ves _{Bs} g/容器	ves _{aB} g/容器	ves _y g/容器	ves _{Be} g/容器	com _{we} g/容器	com _{vBe} g/容器
com ₁									
com ₂									
com ₃									
com _{mean}									

- 注1: 缩写: com——接种物, mat——检测材料, mix——检测材料和接种物的检测混合物, ves——检测容器, wat——水。
- 注2: 下标: w——潮湿材料, d——总干固体, v——挥发性固体, d/w——总干固体与潮湿材料质量之比, v/d——挥发性固体与总干固体之比, deg——分解的检测材料, f——检测容器, s——检测开始, e——检测结束, y——空检测容器(空重), a——增加检查, add——加的水, B——空白(仅接种物), m——检测材料和接种物的混合物, mean) 平均值。
- 注3: 按照挥发性固体计算生物分解率: $D_v = mat_{deg} \times 100 / mat_{vfs}$ 。

—————报告结束/End of report—————

图 B.1 菌株鉴定检测报告示例 (续)

参 考 文 献

- [1] GB 4806.1—2016 食品安全国家标准食品接触材料及制品通用安全要求
 - [2] GB/T 7918.1 化妆品微生物标准检测方法 总则
 - [3] GB 9685—2016 食品安全国家标准食品接触材料及制品用添加剂使用标准
 - [4] GB 14934—2016 食品安全国家标准 消毒餐(饮)具
 - [5] GB/T 18006.3—2020 一次性可降解餐饮具通用技术要求
 - [6] GB/T 19277.1—2011 受控堆肥条件下材料最终需氧生物分解能力的测定采用测定释放的二氧化碳的方法 第1部分:通用方法
 - [7] GB/T 32163.2—2015 生态设计产品评价规范 第2部分:可降解塑料
 - [8] NY/T 1461-2007 饲料微生物添加剂地衣芽孢杆菌
 - [9] SN/T 2206.2—2009 化妆品微生物检测方法 第2部分:需氧芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌
 - [10] ASTM D618 塑料测试前的预处理规范 (Standard Practice for Conditioning Plastics for Testing)
 - [11] ASTM D4129 采用高温氧化和库仑检测法测定水中总碳和有机碳的测试方法 (Standard Test Method for Total and Organic Carbon in Water by High Temperature Oxidation and by Coulometric Detection)
 - [12] 商务部. 商务领域一次性塑料制品使用、回收报告办法 (试行): (2020) 61号, 2020
-