

ICS 75. 020

E 14

备案号: 35089—2012



中华人民共和国石油天然气行业标准

SY/T 0532—2012

代替 SY/T 0532—1993

油田注入水细菌分析方法 绝迹稀释法

**Analysis method of the bacteria for oilfield injecting water—
Disappearing dilution method**

2012—01—04 发布

2012—03—01 实施

国家能源局 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 原理	1
5 试剂和材料	2
6 仪器和设备	2
7 采样	2
8 分析步骤	2
9 结果计算	2
10 质量保证和控制	2
11 检测报告	3
附录 A (规范性附录) 细菌计数方法	4

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

本标准代替 SY/T 0532—1993《油田注入水细菌分析方法 绝迹稀释法》。与 SY/T 0532—1993 相比，主要变化如下：

- 增加了重要提示内容（见正文首页警告）；
- 修改了适用范围内容（见第1章，1993年版第1章）；
- 修改了术语和定义（见第3章，1993年版第3章）；
- 修改了培养温度及培养时间（见8.1.5，1993年版8.1.5）；
- 修改了 SY/T 0532—1993 中采样部分内容（见第7章，1993年版第7章）；
- 删除了 SY/T 0532—1993 中液体试管法及其关联内容（1993年版第5章、第6章及8.2）；
- 增加了质量保证和控制内容（见第10章）；
- 增加了检测报告内容（见第11章）；
- 删除了 SY/T 0532—1993 中多组测试瓶（管）细菌计数法举例（1993年版 A.2~A.4）；
- 增加了生长指标的确定原则（见 A.2.2）；
- 增加了二次重复法细菌计数表（见表 A.2）；
- 修改了多组测试瓶细菌计数表的标题（见表 A.3~表 A.5，1993年版 A.5~A.7）。

本标准由采油采气专业标准化委员会提出并归口。

本标准起草单位：大庆油田工程有限公司。

本标准主要起草人：韩明、朱淑萍。

油田注入水细菌分析方法

绝迹稀释法

警告：使用本标准的人员应有正规实验室工作的实践经验。本标准并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关法律规定的条件。

1 范围

本标准规定了用绝迹稀释方法分析油田注入水中细菌所用的试剂和材料、仪器和设备、采样、分析步骤、结果计算、质量保证和控制、检测报告。

本标准适用于油田注入水中硫酸盐还原菌、腐生菌、铁细菌的分析。油田其他水中细菌分析及杀菌剂杀菌效果评价可参照执行。

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。

SY/T 5329—2012 碎屑岩油藏注水水质指标及分析方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

细菌测试瓶 bacteria testing bottle

用于接种、培养细菌进行菌量测定的培养瓶，每个测试瓶中均装有 9mL 液体培养基。

3.2

阳性瓶与阴性瓶 positive bottle and negative bottle

经过接种培养后，有细菌生长的测试瓶呈阳性变化，称为阳性瓶；反之则称为阴性瓶。

3.3

稀释等级 dilution grade

在对水样进行多组逐级接种稀释时，同样稀释倍数的一组平行样瓶之间细菌含量在一个数量级上，为一个稀释等级。

3.4

生长指标 growth index

菌量计数统计时所选取的三个稀释等级，用每一级阳性瓶个数计数所组成的一组数字（指数），再乘以稀释倍数，叫做生长指标。

4 原理

将待测定的水样用无菌注射器逐级注入到测试瓶中进行接种稀释，直到最后一级测试瓶中无细菌

生长为止。恒温培养后，根据细菌生长情况和稀释倍数，计算出水样中细菌的数目。

5 试剂和材料

试剂和材料包括：

- a) 95%乙醇（分析纯）；
- b) 脱脂棉（医用）；
- c) 针头；
- d) 硫酸盐还原菌测试瓶；
- e) 腐生菌测试瓶；
- f) 铁细菌测试瓶；
- g) 注射器：1.0mL（0.02mL分度）。

6 仪器和设备

仪器和设备包括：

- a) 电热恒温培养箱：使用温度30℃~60℃，±1℃；
- b) 电冰箱。

7 采样

采样应按SY/T 5329—2012中5.1的要求进行。

8 分析步骤

- 8.1 根据测试需要，对水样中硫酸盐还原菌、腐生菌、铁细菌可做单组实验或多组实验，多组实验中每组用三个以上装有相应菌类培养基的测试瓶依次编好序号。
- 8.2 用75%的酒精棉球将启封后的测试瓶顶盖及操作者的手进行消毒。
- 8.3 用无菌注射器吸取1mL水样注入到一号瓶中，摇匀。
- 8.4 另取一支无菌注射器，从一号瓶中吸取1mL水样注入到二号瓶中，摇匀。
- 8.5 按上述操作依次接种稀释到最后一个号瓶为止。放入35℃恒温培养箱中培养。硫酸盐还原菌培养14d后观察，测试瓶中液体由无色透明变为黑色，即表示有硫酸盐还原菌生长。腐生菌培养7d后观察，测试瓶中液体由红色变为黄色或浑浊，即表示有腐生菌生长。铁细菌培养7d后观察，测试瓶中液体产生浑浊或红棕色沉淀，即表示有铁细菌生长。

9 结果计算

给出细菌含量范围或准确的细菌数目。细菌计数方法按附录A执行。

10 质量保证和控制

- 10.1 通过分析一种受控的质控样品保证仪器的性能和检测步骤的准确。
- 10.2 各检测机构应制定质量控制和质量评价方法，并能确保检测结果的可靠性。

11 检测报告

检测报告至少应给出以下几个方面内容：

- a) 识别被检测样品的全部资料；
- b) 使用的标准（包括发布或出版年号）；
- c) 使用的方法；
- d) 检测结果；
- e) 与规定的分析步骤的差异；
- f) 在检测中观察到的异常现象；
- g) 检测日期。

附 录 A
(规范性附录)
细菌计数方法

A.1 一个试样单组测试瓶细菌计数法

测细菌含量范围，宜用一个试样做五个稀释等级，按稀释等级高低依次排列。如果一号瓶有细菌生长，其余四个瓶无菌生长，表明细菌含量范围为 1 个/mL~10 个/mL。若二号瓶有细菌生长，则细菌含量范围为 10^1 个/mL~ 10^2 个/mL。依此类推，细菌含量范围计数见表 A.1。

表 A.1 单组测试瓶细菌计数

阳性瓶序号	菌数, 个/mL
一	$1\sim 10^1$
二	$10^1\sim 10^2$
三	$10^2\sim 10^3$
四	$10^3\sim 10^4$
五	$10^4\sim 10^5$

A.2 一个试样多组测试瓶细菌计数法

A.2.1 为较准确地测定细菌含量，应采用二次重复法、三次重复法、四次重复法或五次重复法。二次重复法是指每个水样同时做二个平行样试验；三次重复法是指每个水样同时做三个平行样试验；依此类推。水样应稀释至不长菌的稀释等级为好。

A.2.2 在进行多组测试瓶细菌计数时，确定生长指标应遵循的原则：从出现阴性瓶的稀释等级开始向后选取三级稀释等级，各稀释等级以阳性瓶数量进行计数而得到指数（遇 000 情况时需向前顺推一级计数，不足三个稀释等级时，也需向前顺推至达到三个等级时止），指数再乘以水样的稀释倍数 10^n （ n 为指数位置之前所稀释的次数），得出生长指标（根据 SY/T 5329—1994 中 5.6.5.3 总结归纳）。查相对应的细菌计数表，把由指数查得的菌数代入，就得出了水样中该种细菌含量（个/mL）。

A.2.3 多组测试瓶细菌计数见表 A.2~表 A.5。

表 A.2 二次重复法细菌计数

指数	菌数, 个/mL	指数	菌数, 个/mL	指数	菌数, 个/mL
000	0.0	110	1.3	211	13.0
001	0.5	111	2.0	212	20.0
010	0.5	120	2.0	220	25.0
011	0.9	121	3.0	221	70.0
020	0.9	200	2.5	222	110.0
100	0.6	201	5.0		
101	1.2	210	6.0		

注：引自 SY/T 5329—2012。

表 A.3 三次重复法细菌计数

指数	菌数, 个/mL	指数	菌数, 个/mL	指数	菌数, 个/mL
000	0.0	122	1.8	232	4.0
001	0.3	123	2.2	233	4.5
002	0.6	130	1.6	300	2.5
003	0.8	131	1.9	301	4.0
010	0.3	132	2.1	302	6.5
011	0.6	133	2.4	303	10.0
012	0.8	200	0.9	310	4.5
020	0.6	201	1.4	311	7.5
021	0.8	202	2.0	312	11.5
022	1.0	210	1.5	313	16.0
100	0.4	211	2.0	320	9.5
101	0.7	212	3.0	321	15.0
102	1.1	213	3.4~4.0	322	20.0
110	0.7	220	2.0	323	30.0
111	1.1	221	3.0	330	25.0
112	1.4	222	3.5	331	45.0
113	1.7	223	4.0	332	110.0
120	1.1	230	3.0	333	140.0
121	1.5	231	3.5		

表 A.4 四次重复法细菌计数

指数	菌数, 个/mL	指数	菌数, 个/mL	指数	菌数, 个/mL
000	0.0	140	1.4	331	3.5
001	0.2	141	1.7	332	4.0
002	0.5	200	0.6	333	5.0
003	0.7	201	0.9	340	3.5
010	0.2	202	1.2	341	4.5
011	0.5	203	1.6	400	2.5
012	0.7	210	0.9	401	3.5
013	0.9	211	1.3	402	5.0
020	0.5	212	1.6	403	7.0
021	0.7	213	2.0	410	3.5
022	0.9	220	1.3	411	5.5
030	0.7	221	1.6	412	8.0
031	0.9	222	2.0	413	11.0
040	0.9	230	1.7	414	14.0
100	0.3	231	2.0	420	6.0
101	0.5	240	2.0	421	9.5
102	0.8	241	3.0	422	13.0
103	1.0	300	1.1	423	14.0
110	0.5	301	1.6	424	20.0
111	0.8	302	2.0	430	11.5
112	1.0	303	2.5	431	16.5
113	1.3	310	1.6	432	20.0
120	0.8	311	2.0	434	35.0
121	1.1	312	3.0	440	25.0
122	1.3	313	3.5	441	40.0
123	1.6	320	2.0	442	70.0
130	1.1	321	3.0	443	140.0
131	1.4	322	3.5	444	160.0
132	1.6	330	3.0		

表 A.5 五次重复法细菌计数

指数	菌数, 个/mL	指数	菌数, 个/mL	指数	菌数, 个/mL
000	0.0	231	1.4	500	2.5
001	0.2	240	1.4	501	3.0
002	0.4	300	0.8	502	4.0
010	0.2	301	1.1	503	6.0
011	0.4	302	1.4	504	7.5
012	0.6	310	1.1	510	3.5
020	0.4	311	1.4	511	4.5
021	0.6	312	1.7	512	6.0
030	0.6	313	2.0	513	8.5
100	0.2	320	1.4	520	5.0
101	0.4	322	2.0	521	7.0
102	0.6	330	1.7	522	9.5
103	0.8	331	2.0	523	12.0
110	0.4	340	2.0	524	15.0
111	0.6	341	2.5	525	17.5
112	0.8	350	2.5	530	8.0
120	0.6	400	1.3	531	11.0
121	0.8	401	1.7	532	14.0
122	1.0	402	2.0	533	17.5
130	0.8	403	2.5	534	20.0
131	1.0	410	1.7	535	25.0
140	1.1	411	2.0	540	13.0
200	0.5	412	2.5	541	17.0
201	0.7	420	2.0	542	25.0
202	0.9	421	2.5	543	30.0
203	1.2	422	3.0	544	35.0
210	0.7	430	2.5	545	45.0
211	0.9	431	3.0	550	25.0
212	1.2	432	4.0	551	35.0
220	0.9	440	3.5	552	60.0
221	1.2	441	4.9	553	90.0
222	1.4	450	4.0	554	160.0
230	1.2	451	5.0	555	180.0

中华人民共和国
石油天然气行业标准
油田注入水细菌分析方法
绝迹稀释法
SY/T 0532—2012

*

石油工业出版社出版
(北京安定门外安华里二区一号楼)
北京中石油彩色印刷有限责任公司排版印刷
新华书店北京发行所发行

*

880×1230 毫米 16 开本 0.75 印张 19 千字 印 1—1500
2012 年 5 月北京第 1 版 2012 年 5 月北京第 1 次印刷
书号：155021·6748

版权专有 不得翻印