



中华人民共和国城镇建设行业标准

CJ/T 141~150—2001

城市供水水质检验方法标准 及编制说明和研究报告

2001-07-17发布

2001-12-01实施

中华人民共和国建设部 发布

一、城市供水水质检验方法标准

**Standard methods for the examination of
water of urban water supply**

前 言

本标准由建设部标准定额研究所提出。

本标准由建设部给水排水产品标准化技术委员会归口。

本标准由国家城市供水水质监测网广州监测站负责起草。

本标准起草人：林朝晖。

本标准参加验证单位：北京监测站、上海监测站、天津监测站、深圳监测站、成都监测站及顺德监测站（省级）。

城市供水 亚硫酸盐还原厌氧菌
(梭状芽胞杆菌)孢子的测定

CJ/T 149—2001

Urban water supply—

Determination of the spores of sulfite-reducing anaerobes (clostridia)

1. 液体培养基增菌法

1. Method by enrichment in liquid medium

1 范围

本标准规定了用液体培养基增菌法测定城市供水及水源水中亚硫酸盐还原厌氧细菌孢子。

本标准适用于城市供水及水源水中亚硫酸盐还原厌氧细菌孢子的测定。

2 方法

取一定体积的水样。首先用加热法选择水样中的孢子,加热时间应足以杀死营养型细菌。将水样接种于培养液中,然后于 $37\text{C} \pm 1\text{C}$ 厌氧培养 $44\text{h} \pm 4\text{h}$ 。由于亚硫酸盐还原厌氧细菌能把培养液中的亚硫酸盐还原为硫化铁(Ⅱ)是黑色沉淀,则培养液变黑为阳性。

3 试剂和材料

3.1 单一强度的基本培养基

3.1.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	10 g
酵母浸膏	1.5 g
淀粉	1 g
乙酸钠(含水)	5 g
L-半胱氨酸盐酸盐	0.5 g
葡萄糖	1 g
蒸馏水	1 000 mL

3.1.2 制法

将蛋白胨、牛肉膏、乙酸钠和酵母浸膏混合于 800 mL 水中。

用 200 mL 蒸馏水制备淀粉液,步骤如下:把淀粉置于少量的冷水中调成浆糊状。把剩下的水加热至沸,在搅拌中慢慢倒入浆糊状淀粉中。将此淀粉液与前述 800 mL 混合液混合,加热至沸,使全部溶解。

最后再加入葡萄糖和 L-半胱氨酸盐酸盐,使其溶解。

用 NaOH(1 mol/L)溶液调 pH 值至 7.1~7.2,分装 10 mL 培养基溶液到 25 mL 带盖螺口玻璃瓶中,冷却后,拧紧瓶盖。

121℃±1℃ 高压灭菌 15 min。

3.2 双强度基本培养基

制备双强度基本培养基的过程与单一强度的基本培养基(3.1)同,但水的体积要减少一半。将 10 mL 或 50 mL 双强度培养基溶液分别将在 25 mL 或 100 mL 螺口瓶中,121℃±1℃ 高压下灭菌 15 min。

3.3 亚硫酸钠(Na_2SO_3)溶液

4 g 无水亚硫酸钠溶于 100 mL 水中,用 0.2 μm 滤膜过滤除菌。保存温度 2℃~5℃。保存期 14 天。

3.4 柠檬酸铁($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$)溶液

7 g 柠檬酸铁溶于 100 mL 水中,用 0.2 μm 滤膜过滤除菌。保存温度 2℃~5℃。保存期 14 天。

3.5 完全培养基

3.5.1 分析时,将等体积的亚硫酸钠溶液(3.3)和柠檬酸铁溶液(3.4)混合。

3.5.2 在每瓶单一强度培养基中各加入 0.5 mL 的混合溶液(3.5.1),此培养基应重新在沸水浴上加热 15 min 并冷却。

3.5.3 在每瓶 10 mL 的双强度培养基中各加入 0.4 mL 的混合溶液(3.5.1),50 mL 的双强度培养基中各加入 2 mL 的混合溶液,此培养基也应重新在沸水浴上加热 15 min 并冷却。

4 仪器

4.1 100 mL 和 25 mL 螺口带盖玻璃瓶。

4.2 50 mL、100 mL、10 mL 和 1 mL 移液管。

4.3 恒温水浴锅。

4.4 试管(150 mm×13 mm)。

4.5 接种环。

4.6 恒温培养箱(保持温度 37℃±1℃)。

4.7 细菌过滤器。

5 测定步骤

5.1 孢子的选择

水样在试验前须放置于 75℃±5℃ 水浴锅中,加热 15 min,用同样带盖螺口瓶子作空白,检查加热温度。

5.2 接种与培养

将 50 mL 水样置于含 50 mL 双强度完全培养基(3.5.3)的 100 mL 螺口瓶中。

向 5 个含有 10 mL 双强度完全培养基(3.5.3)的 25 mL 螺口瓶中,加入 10 mL 水样。

向 5 个含有 10 mL 单一强度完全培养基(3.5.2)的 25 mL 螺口瓶中,加入 1 mL 水样。

如果有必要,可向 5 个含有 10 mL 单一强度完全培养基(3.5.2)的 25 mL 螺口瓶中分别加入 1 mL 稀释度为 1~10 倍的水样稀释液。

为定性检验 100 mL 水样而无需进行最可能数(MPN)计算时,可向含有 100 mL 双强度完全培养基(3.5.3)的 200 mL 螺口瓶中加入 100 mL 水样。

如有必要,可将单一强度完全培养基加至瓶颈处,以保证瓶中残留极少量的空气。

拧紧瓶盖,将瓶密封,于无氧条件下培养。

在 $37\text{C} \pm 1\text{C}$ 培养 $44\text{h} \pm 4\text{h}$ 。

注意:由于培养中可产生气体,在密封的大体积玻璃容器中培养时可能发生爆炸,应选用较坚固的玻璃容器。

在接种前,将烧红的铁丝置于瓶内培养基中密封,可有助于厌氧培养。

5.3 观察结果

瓶子内部变黑为阳性。

6 计数及报告结果

根据试验阳性的瓶数,查 *MPN* 表(见表 1 和表 2),即可得 100 mL 水样中的亚硫酸盐还原厌氧细菌孢子数,乘 10 即为 1 000 mL 水样中的亚硫酸盐还原厌氧细菌孢子数。

表 1 亚硫酸盐还原厌氧细菌孢子最可能数(*MPN*)检数表
(总接种量 105 mL,其中 1 份 50 mL 水样、5 份 10 mL 水样、5 份 1 mL 水样)

接种量, mL			<i>MPN</i> (每 100 mL)	接种量, mL			<i>MPN</i> (每 100 mL)
50	10	1		50	10	1	
0	0	0	<1	1	2	1	7
0	0	1	1	1	2	2	10
0	0	2	2	1	2	3	12
0	1	0	1	1	3	0	8
0	1	1	2	1	3	1	11
0	1	2	3	1	3	2	14
0	2	0	2	1	3	3	18
0	2	1	3	1	3	4	21
0	2	2	4	1	4	0	13
0	3	0	3	1	4	1	17
0	3	1	5	1	4	2	22
0	4	0	5	1	4	3	28
1	0	0	1	1	4	4	35
1	0	1	3	1	4	5	43
1	0	2	4	1	5	0	24
1	0	3	6	1	5	1	35
1	1	0	3	1	5	2	54
1	1	1	5	1	5	3	92
1	1	2	7	1	5	4	161
1	1	3	9	1	5	5	>180
1	2	0	5				

表 2 亚硫酸盐还原厌氧细菌孢子最可能数(MPN)检数表
(总接种量 55.5 mL, 其中 5 份 10 mL 水样、5 份 1 mL 水样、5 份 0.1 mL 水样)

接种量, mL			MPN (每 100 mL)	接种量, mL			MPN (每 100 mL)
10	1	0.1		10	1	0.1	
0	0	0	<2	4	3	0	27
0	1	0	2	4	3	1	33
0	2	0	4	4	4	0	34
1	0	0	2	5	0	0	23
1	0	1	4	5	0	1	31
1	1	0	4	5	0	2	43
1	1	1	6	5	1	0	33
2	0	0	5	5	1	1	46
2	0	1	7	5	1	2	63
2	1	0	7	5	2	0	49
2	1	1	9	5	2	1	70
2	2	0	9	5	2	2	94
2	3	0	12	5	3	0	79
3	0	0	8	5	3	1	110
3	0	1	11	5	3	2	140
3	1	0	11	5	3	3	180
3	1	1	14	5	4	0	130
3	2	0	14	5	4	1	170
3	2	1	17	5	4	2	220
3	3	0	17	5	4	3	280
4	0	0	13	5	4	4	350
4	0	1	17	5	5	0	240
4	1	0	17	5	5	1	350
4	1	1	21	5	5	2	540
4	1	2	26	5	5	3	920
4	2	0	22	5	5	4	1 600
4	2	1	26	5	5	5	>1 800

2. 滤膜法

2. Method by membrane filtration

1 范围

本标准规定了用滤膜法测定城市供水及水源水中亚硫酸盐还原厌氧细菌孢子。

本标准适用于城市供水及水源水中亚硫酸盐还原厌氧细菌孢子的测定。

2 方法

取一定体积的水样。首先用加热法选择水样中的孢子,加热时间应足以杀死营养型细菌。把水样通过滤膜过滤,使细菌孢子截留于膜上。将滤膜置于专用的选择性培养基(亚硫酸盐-铁-琼脂)上,于 37°C $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 厌氧培养 $20\text{ h} \pm 4\text{ h}$ 及 $44\text{ h} \pm 4\text{ h}$,计数黑色菌落。

3 试剂和材料

3.1 亚硫酸盐-铁-琼脂

3.1.1 基本培养基

3.1.1.1 成分

牛肉膏	3 g
蛋白胨	10 g
氯化钠	5 g
琼脂	15 g
蒸馏水	1 000 mL

3.1.1.2 制法

把上述各成分,在水浴中加热至溶解,再以蒸馏水补足至 1 L,用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调 pH 值至 7.6 ± 0.1 ,然后每一试管中注入 18 mL 培养基, $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 20 min。凝固后保存于冰箱中。

3.1.2 无水亚硫酸钠(Na_2SO_3)溶液:10 g 无水亚硫酸钠溶于 100 mL 水中,用 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤灭菌。保存温度 $2^{\circ}\text{C} \sim 5^{\circ}\text{C}$ 。保存期 14 天。

3.1.3 硫酸亚铁(FeSO_4)溶液:8 g 晶体硫酸亚铁溶于 100 mL 水中,用 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤灭菌。保存温度 $2^{\circ}\text{C} \sim 5^{\circ}\text{C}$ 。保存期 14 天。

3.1.4 完全培养基

在基本培养基(3.1.1)使用前,先将其融化,然后向含有 18 mL 基本培养基的试管中注入 1 mL Na_2SO_3 溶液(3.1.2)和 5 滴 8% 硫酸亚铁溶液(3.1.3)。

3.2 替代培养基 胰蛋白胨-亚硫酸盐-琼脂培养基

3.2.1 成分

胰蛋白胨(Tryptose)	15 g
大豆蛋白胨(Soytone)	5 g
酵母浸膏	5 g
焦亚硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$)	1 g
柠檬酸铁铵(Fe^{3+})	1 g
琼脂	15 g
蒸馏水	1 000 mL

3.2.2 制法

上述成分置于约 900 mL 蒸馏中在水浴中加热至溶解,再以蒸馏水补足至 1 L,在 25°C 时用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调 pH 值至 7.6 ± 0.1 ,然后注入试管中,每管培养基 18 mL, $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。 $4^{\circ}\text{C} \sim 5^{\circ}\text{C}$ 保存,保存期为两星期。

4 仪器

4.1 三角瓶(2 L)

4.2 试管(160 mm \times 16 mm)

4.3 移液管(10 mL)

- 4.4 烧杯(1 L)
- 4.5 水浴锅
- 4.6 抽滤设备
- 4.7 无齿镊子
- 4.8 滤膜(孔径 $0.2\ \mu\text{m}$)
- 4.9 培养箱(保持温度 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- 4.10 培养皿
- 4.11 滤膜过滤器

5 测定步骤

5.1 滤膜灭菌

将滤膜放入烧杯中,加入蒸馏水,置于沸水浴中煮沸灭菌三次,每次 15 min。前两次煮沸后需要更换水洗涤 2~3 次,以除去残留溶剂。

5.2 滤器灭菌,视滤器质地采用干热(酒精棉球火焰)或湿热灭菌。

5.3 孢子的选择

水样在试验前须放置于水浴锅中, $75\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热 15 min。用同样的水样瓶作空白,用温度计检查加热温度。

5.4 接种与培养

水样的过滤量要适当;对于饮用水、泉水、井水、海水、地面水和梭状芽孢杆菌轻度污染的水,取 100 mL 过滤;对污染严重的水或废水,可用无菌水稀释后检测。

调配一定的稀释度,使在滤膜上生长的黑色菌落分离,而更易于计数。

水样过滤后,用无菌镊子将滤膜过滤面朝下,置于培养皿中,同时使滤膜下无气泡。小心地将 18 mL 约 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的完全培养基(3.1.4)或替代培养基(3.2)倾注于培养皿中的膜上。在形成培养基层后, $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 厌氧培养 $20\text{ h}\pm 4\text{ h}$ 和 $44\text{ h}\pm 4\text{ h}$ 。如果使用厌氧瓶或厌氧培养箱,滤膜可放置在琼脂面上,且滤膜面向上。

5.5 观察结果

培养 $20\text{ h}\pm 4\text{ h}$ 和 $44\text{ h}\pm 4\text{ h}$ 后,计数所有黑色菌落。

6 分析结果的表述

试验报告应说明所使用的方法,单位体积水样中亚硫酸盐还原厌氧细菌培养 $44\text{ h}\pm 4\text{ h}$ 的孢子数;孢子数太多,黑色菌落连在一起而难以计数,可采用 $20\text{ h}\pm 4\text{ h}$ 培养时间的孢子大约数目。结果以 CFU/100 mL 计。