

**中国质量检验协会团体标准**

T/CAQI 18—2016

---

**城镇给水厂活性炭应用技术规程**

Applied technical regulation of activated carbon in municipal water supply plant

XXXX - XX-XX 发布

XXXX - XX-XX 实施

中国质量检验协会 发布



## 目 次

前 言.....	II
1 范围.....	3
2 规范性引用文件.....	3
3 术语和定义.....	3
4 活性炭检测.....	4
5 活性炭池.....	5
6 粉末活性炭.....	7
7 安全与卫生.....	9
附 录 A.....	10
附 录 B.....	14
附 录 C.....	17
附 录 D.....	20
附 录 E.....	24
附 录 F.....	27
附 录 G.....	30
附 录 H.....	33

## 前 言

本标准附录A、附录B、附录C、附录D、附录E、附录F、附录G、附录H为资料性附录。

本规程按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由XXX提出。

本标准由中国质量检验协会水环境工程技术与装备专业委员会归口。

本标准主要起草单位：山东省城市供排水水质监测中心、山东建筑大学、上海市政工程设计研究总院（集团）有限公司、山东简约净化科技有限公司、上海华严检测技术有限公司、神华新疆能源有限责任公司、山西新华活性炭有限公司、浙江天行健水务有限公司、山西顺福祥环保科技有限公司、大同市金盛豪达谭业有限责任公司、济南水务集团有限公司等。

本标准主要起草人：贾瑞宝、孙韶华、刘建广、蔡云龙、许新田、李怀珠、张旭、薛保平、刘志远、周明、石荣千。。。

# 城镇给水厂活性炭应用技术规程

## 1 范围

本规程规定了城镇给水厂用活性炭的检测评估、活性炭池、粉末活性炭的使用、安全与卫生等内容。

本规程适用于采用活性炭池、粉末活性炭吸附和应急处理技术的城镇给水厂。

城镇给水厂的活性炭应用,除应执行本规程外,应符合国家有关法规和标准规范的规定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本规程的引用而成为本规程的条款。凡是标注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误内容)或修订版均不适用本规程。

GB/T 7701.2 净化水用煤质颗粒活性炭

GB/T 7702 煤质颗粒活性炭试验方法

GB/T 12496 木质活性炭试验方法

GB/T 13803.2 木质净水用活性炭

GB 50013 室外给水设计标准

GB 50016 建筑设计防火规范

GB 15577 粉尘防爆安全规程

CJ/T 345 生活饮用水净水厂用煤质活性炭

CJJ 58 城镇给水厂运行、维护及安全技术规程

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本规程。

### 3.1 活性炭 activated carbon

含炭物质经过炭化、活化处理制得的具有发达孔隙结构和巨大比表面积的炭吸附剂。

### 3.2 颗粒活性炭 granular activated carbon

颗粒尺寸在0.18 mm (80 目筛网) 以上的活性炭。

### 3.3 粉末活性炭 powdered activated carbon

颗粒尺寸在0.18 mm (80 目筛网) 以下的活性炭。

### 3.4 活性炭池 activated carbon filtration tank

以颗粒活性炭作为主要介质的水处理构筑物。

### 3.5 吸附 adsorption

吸附是物质（主要是固体物质）利用其巨大的空隙和比表面积将周围介质（液体或气体）中的分子或离子结合于物质表面的现象。

### 3.6 智能化控制 Intelligent control

利用在线仪器仪表、设备等对生产工艺与水质进行数据采集和监测，通过可编程逻辑控制器（PLC）自动控制系统，实现各水处理操作环节的精确化和智能化。

## 4 活性炭检测

### 4.1 产品材质与质量要求

#### 4.1.1 材质选用

活性炭的选择，应根据当地水源水质进行吸附试验，确定适合的活性炭。

一般情况下，颗粒活性炭宜选用煤质压块活性炭，粉末活性炭宜选用煤质活性炭、木质活性炭和椰壳活性炭。

#### 4.1.2 质量指标

##### 4.1.2.1 颗粒活性炭

颗粒活性炭的主要指标：碘吸附值 $\geq 950\text{mg/g}$ ；亚甲蓝吸附值 $\geq 180\text{mg/g}$ ；强度 $\geq 90\%$ 。

煤质活性炭的其他质量要求指标参考CJ/T 345和GB/T 7701.2。

上向流活性炭池可选用 $30\times 60$ 目颗粒活性炭；下向流活性炭池宜选用 $8\times 30$ 目/ $12\times 40$ 目颗粒活性炭或 $\Phi 1.5\text{mm}$ 柱状活性炭。

##### 4.1.2.2 粉末活性炭

粉末活性炭的主要指标：碘吸附值 $\geq 850\text{mg/g}$ ，亚甲蓝吸附值 $\geq 130\text{mg/g}$ 。

粉末活性炭的其他质量要求指标参考GB/T 13803和CJ/T 345。

粉末活性炭的粒度可选用：①  $0.075\text{mm}$ （200目，过筛率 $\geq 90\%$ ）；②  $0.045\text{mm}$ （325目，过筛率 $\geq 90\%$ ）两种规格。

### 4.2 产品检验

产品技术指标根据GB/T 7701.2、GB/T 13803.2标准要求执行要求。必要时加测：二甲基异茨醇吸附值等。

#### 4.2.1 进厂检验

活性炭生产商应提供省级以上涉水产品卫生许可证、产品合格证及具有国家认可资质的第三方检测报告，供水企业应执行索证及验收制度。

给水厂应对每批活性炭进行抽样检验，每批次抽样应涵盖所购活性炭所有类型，每种类型的样品不少于2个。

活性炭包装应清楚标示类型、净重、制造商、生产批次等信息。

#### 4.2.2 使用过程检验

活性炭使用企业在供货合格的样品中随机抽取样品，进行检验，保证产品质量。一般情况下，当有以下情况之一时，应进行检验：

a) 活性炭贮存过程中，需每年抽样检验1次，所取样品类型应涵盖贮存的所用类型，每种类型的样品不少于2个；

b) 活性炭使用过程中，每年至少取样检测1次，以评估活性炭的性能状态。

c) 应定期取样检测活性炭性能，主要测定碘吸附值、亚甲基蓝吸附值、强度、粒径分布，条件允许时加测：活性炭生物量、脱氢酶、异养菌、氨化细菌、硝化细菌、亚硝化细菌。

### 4.3 检测方法

#### 4.3.1 煤质活性炭

煤质活性炭相关指标的测定，按GB/T 7702的规定。活性炭生物量、脱氢酶、异养菌、氨化细菌、硝化细菌、亚硝化细菌等指标的测定，按附录B、附录C、附录D、附录E、附录F、附录G的规定。

#### 4.3.2 木质活性炭

木质活性炭相关指标的测定，按GB/T 12496的规定。活性炭生物量、脱氢酶、异养菌、氨化细菌、硝化细菌、亚硝化细菌等指标的测定，参考附录B、附录C、附录D、附录E、附录F、附录G。

## 5 活性炭池

### 5.1 活性炭池的选择

5.1.1 活性炭池的选择，按GB 50013的规定执行。

5.1.2 活性炭池的池型应根据处理规模确定。

5.1.3 活性炭池的过流方式应根据其在工艺过程中的位置、水头损失和运行经验等因素确定，可采用下向流或上向流。活性炭池设在沉淀池之后、过滤池之前的宜选用上向流方式，设在过滤池之后的宜选用下向流方式。

5.1.4 活性炭池个数及单池面积，应根据处理规模和运行管理条件确定，吸附池不宜少于4个。

5.1.5 下向流活性炭池的接触时间 6-20min，炭床厚度 1-2.5m，空床流速 5-20 m/h；上向流

活性炭池的接触时间 6-10min，炭床厚度 1-2 m，空床流速 10-12m/h

## 5.2 活性炭的装填与调试

5.2.1 炭池清洗。活性炭装填前，需用20-50ppm（有效氯）次氯酸钠溶液浸泡24h对炭池消毒，用砂滤后出水或不含氯的清水将炭池反复冲洗，直至不含余氯。

5.2.2 炭池检查。检查内容包括炭池底部和气水渠是否干净；滤板、连接缝及滤头的密闭性；鼓风机、水泵、控制器、阀门及排放系统等设备是否工作正常。

5.2.3 填料检测。取样检测活性炭是否符合质量要求。

5.2.4 采用湿法装填时，要保证泥浆泵始终带水运行；采用干法装填时，应注入高于滤板不少于50cm的水，装填初始避免损坏滤头。

5.2.5 填料浸泡。活性炭装填后应加入不含余氯的滤后水浸泡48h以上。

5.2.6 新炭清洗。炭床膨胀率达到工艺设计值（因为每个水厂的膨胀率设计不一致，以自己水厂设计值为准）时稳定10-15min；可冲洗数次，每次冲洗时，冲洗强度需逐渐增加；冲洗完成的判定标准是进水与出水的pH值和浑浊度基本一致。

5.2.7 调试运行。冲洗完成后需试运行，待炭池出水符合水厂内控指标方可投入运行。

## 5.3 活性炭池运行

### 5.3.1 水质要求

5.3.1.1 活性炭池进水水质应不含余氯等氧化剂。

5.3.1.2 上向流池进水浑浊度应小于1NTU，下向流池进水浑浊度应小于0.5NTU。

5.3.1.3 炭池出水浑浊度必须符合企业内控标准。

### 5.3.2 炭池反冲洗

5.3.2.1 炭池的冲洗水不宜含余氯等氧化剂。

5.3.2.2 下向流炭池可采用活性炭池出水反冲洗，上向流炭池可采用砂滤池出水反冲洗。

5.3.2.3 保证合理的冲洗周期、冲洗强度、冲洗时间和膨胀率。冲洗时应加强观察，保证池内活性炭冲洗时分布均匀，炭层表面平整。

5.3.2.4 反冲洗后池面水浑浊度不应大于5-10NTU。

5.3.2.5 冲洗后应排放初滤水或静置一定时间保证出水水质；

5.3.2.6 出现微生物泄漏时应延长冲洗时间、提高冲洗频次。

5.3.3 活性炭池宜持续运行；因特殊情况需短期停用，应将活性炭浸泡在水中，每1-2天换水1次；如需长时间停用，应排净活性炭池中的水，有条件时，可将湿炭取出，晾干装袋贮存。

5.3.4 停用后的活性炭池恢复使用前，应进行填料冲洗；可冲洗数次，以进水与出水的pH和浑浊度综合判断冲洗是否完成；冲洗完成后需试运行，待炭池出水合格后方可投入运行。

5.3.5 活性炭池运行其他要求按照CJJ58-2009的规定。

## 5.4 活性炭池维护

5.4.1 应定期检测炭池水头损失，避免炭池阻塞，每季度1次。

5.4.2 应定期检查炭池炭床高度、流速、反冲洗强度、反冲洗膨胀率，定期检查反冲洗过程中是否有跑填料现象，每月1-2次。

5.4.3 应定期检查炭池、阀门、冲洗设备(水冲、气水冲洗、表面冲洗)、电气仪表及附属设备(空压机系统等)的运行状况.并做好设备、环境的清洁工作和传动部件的润滑保养工作，每周1-2次。

5.4.4 每月应对阀门、冲洗设备、电气仪表及附属设备检修一次，及时排除故障。故障阀门、冲洗设备、电气仪表及附属设备等解体检修或部分更换。铁件应定期油漆。

5.4.5 炭池、土建构筑物、机械，不应超过5年进行大修一次。

5.4.6 冲洗水泵、空压机、鼓风机等附属设施及电气仪表设备的维护按相关规定要求进行。

## 5.5 活性炭补充、更换与再生

5.5.1 当存在以下情况时，应进行更换：

a) 水厂出水水质下降并等于或低于各水厂内控指标的90%时，视为失效，应更换活性炭。

b) 高锰酸盐指数去除率小于15%时，应更换活性炭。

c) 活性炭碘吸附值小于600mg/g或亚甲兰吸附值小于85mg/g，应更换活性炭。

d) 活性炭强度小于80%，应更换活性炭。

5.5.2 活性炭池的填料损失率超过10%，应补充活性炭。

5.5.3 活性炭的再生：使用过的活性炭经再生并检测合格后，可重复使用。如需活性炭再生，按CJ/T 345附录E的规定进行活性炭的再生。建议再生炭的碘吸附值恢复值 $\geq 85\%$ 、亚甲蓝恢复值 $\geq 85\%$ 。

## 5.6 水质检测

5.6.1 应定期检测炭池进水和炭池出水的pH及浊度，每周1-2次。

5.6.2 应定期检测炭池进水和出水的氨氮、 $\text{COD}_{\text{Mn}}$ 、 $\text{UV}_{254}$ ，每月1-2次。

5.6.4 应定期取样检测活性炭池内的藻类、微型动物，每季度1次。

5.6.5 宜在线检测活性炭池出水颗粒物，并将出水颗粒物计数作为炭池运行周期的控制条件。

## 6 粉末活性炭

### 6.1 投加点及投加量

6.1.1 粉末活性炭宜投加在取水头部，投加后与水接触时间应不小于30分钟。若受条件限制，粉末活性炭可在絮凝池进口处或活性炭池进口处投加。

6.1.2 在取水头部投加粉末活性炭时，可选用200目以上粉末活性炭，接触时间不少于30min。

6.1.3 粉末活性炭不应与氯、二氧化氯、臭氧等强氧化剂同时使用；当采用高锰酸钾预氧化时，宜先投加高锰酸钾，后投加粉末活性炭，间隔时间宜大于10min。

6.1.4 粉末活性炭的投加量和产品类型选择应根据原水中污染物的去除目标，开展烧杯试验来确定。一般情况下，粉末活性炭的投加量为20-40mg/L。烧杯试验方法见附录A。

## 6.2 投加方式

6.2.1 粉末活性炭投加系统可分为干式与湿式投加药法。

6.2.2 干式投加系统利用干粉投加药机等设备，将粉末活性炭通过水流喷射器直接投加到处理水体中。干式投加系统比较简单，占地面积少，但设备较易故障，需配合专业的维护人员。

6.2.3 湿式投加系统是先将粉末活性炭调制1-5%的炭浆液，再通过螺杆泵或计量泵投加到水中。湿式投加药系统计量较精确，混合均匀，但需要设置专门的炭浆池，占地空间面积较大，设备也较复杂。

## 6.3 运行与维护

6.3.1 粉末活性炭在开袋作业时会产生粉尘飞散，因此必须在集尘装置开启运转时、操作人员穿着防尘护具状况下进行作业。

6.3.2 采用干式投加时，应注意防火、防爆、防尘。干式活性炭加入液态时，应于液面下加入，并应注意溶解槽内是否有发生粉末活性炭上浮情形，必须保障有适当的搅拌，使活性炭流入。

6.3.3 粉末活性炭停止投加后或停止期间，配管等相关设施应以清水洗净，定期应进行设施设备检查。

6.3.4 对于贮存槽、混合槽（搅拌机、隔板）、注入帮带、配管、阀类等设备与粉末活性炭相接触的部分，应使用耐蚀性及耐磨损的材料，并实施定期检查。

6.3.5 粉末活性炭应存放于通风良好的室内空间，不得与其他化学物品共同存放，尤其避免与强氧化性药品及碳氢化合物接触。干式粉末活性炭的贮存应注意防止压密及吸湿现象，必要时可定期送入干燥空气。用容器盛装的湿式粉末活性炭，在建筑物内一般以两层堆积方式贮藏收纳，保持整齐，使输送、开袋作业顺畅进行。受条件限制，可暂时放置在户外，但应注意避免雨水淋湿。

## 6.4 智能化投加

6.4.1 利用自动控制系统，实现各水处理操作环节的精确化和智能化，提高供水质量和生产效率，实现水厂的现代化管理。

6.4.2 建立生产数据库，对相关数据（如原水水质、活性炭投加量、处理处的水质等）进行记录、存储、整理、分析，实现数据库的动态积累，为活性炭投加提供科学依据，保证投加的精确性和合理性，提高生产效率，确保供水水质安全。

6.4.3 根据运行工艺及参数（主要包括耗氧量、水温、PH值、流量等）建立数字模型，通过PLC程序进行PID复合自动调节投加量。

## 6.5 拆包形式

活性炭的拆包方式一般有：人工拆包和自动拆包。人工拆包由于劳动强度大，工作环境差，通常适用于短时、应急性投加；自动拆包通常可与料仓储存系统、上料系统密封连接，实现自动控制和防尘防泄漏要求，工作环境好，劳动强度小。

## 7 安全与卫生

- 7.1 相关建筑物的火灾防护，应按照GB 50016的规定执行。
  - 7.2 投加粉状活性炭的粉尘作业，应符合GB 15577的要求。
  - 7.3 当工作人员进入放有活性炭的封闭区或部分封闭区时，应采取适当的防护措施。
  - 7.4 活性炭池宜根据现场情况采用隔离或防护措施。
  - 7.5 当工作人员进入半封闭或封闭式活性炭池前，应保证池内空气中臭氧浓度处于安全范围。
-

## 附录 A

### (资料性附录)

#### 粉末活性炭投加量及种类的烧杯测定实验

(本实验以去除水中嗅味为例)

#### A.1 实验目的

A.1.1 了解粉末活性炭 (powder activated carbon, PAC) 烧杯实验流程

A.1.2 熟悉实验数据的计算与分析

A.1.3 学习如何选取活性炭的最佳剂量及种类

#### A.2 实验药品与设备

##### A.2.1 实验药品

蒸馏水、某嗅味物质溶液 (100  $\mu\text{g/L}$ )、不同种类粉末活性炭 (A、B、C、D)、2g/L 硫酸铝溶液

##### A.2.2 试验设备

六联混凝实验搅拌机 (带 6 个原水杯) 1 台、电子天平 1 台、气相色谱-质谱仪 (GC-MS) 1 台、量筒 1 个, 不同容量移液管、烧杯和注射器若干。

#### A.3 实验步骤

##### A.3.1 配制 10mg/mL 粉末活性炭溶液 (PAC slurry)

用电子天平称重 1g PAC, 并将其加入到 100mL 蒸馏水中; 充分搅拌 5min。平时不用时, 应保存于干燥箱中, 重新使用时需充分搅拌 10min。

A.3.2 取 6mL 某嗅味物质溶液放入 6L 蒸馏水中, 并充分搅拌混合均匀, 配制浓度为 100 $\mu\text{g/L}$  的嗅味物质溶液。

A.3.3 用量筒分别量取 6 个 1L 水样于搅拌烧杯中;

A.3.4 将第一组水样置于搅拌机中, 启动仪器, 编程序 (快速搅拌、800rpm、1min、加药; 中速搅拌 150rpm、10min、加药; 中速搅拌 150rpm、10min; 慢速搅拌 50rpm、10min; 静沉 30min)

A.3.5 用移液管向 1~6 号加药管分别加入 0、0.5、1.0、1.5、2、2.5mL 活性炭粉末溶液;

A.3.6 运行程序; 待第一次加药过后, 用移液管向 1~6 号加药管分别加入 10mL 硫酸铝溶液, 加后烧杯中混凝剂浓度为 20mg/L; 程序运行结束后, 取水样, 利用气相色谱-质谱仪测定嗅味浓度并记录分析。

##### A.3.7 实验注意事项

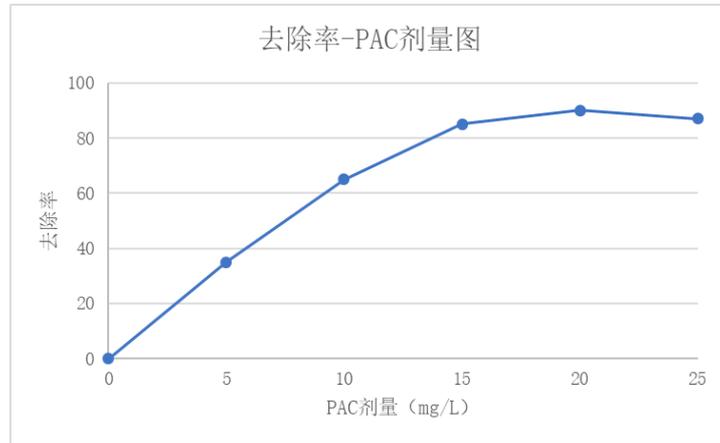
使用活性炭粉末溶液时, 要搅拌均匀, 要一次量取以尽量减少所取溶液浓度上的差别。移取烧杯中沉淀水上清液时, 要在相同条件下取上清液, 不要把沉下去的矾花搅起来。

## A.4 实验结果整理

A.4.1 去除率计算公式如下：

$$\text{去除率(\%)} = \frac{\text{起始浓度} - \text{最终浓度}}{\text{起始浓度}} \times 100\%$$

A.4.2 确定最佳投药量：绘制 PAC-A 的去除率-PAC 剂量图

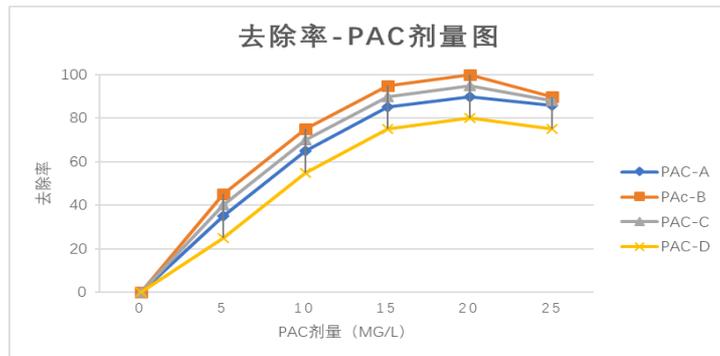


以去除率 90%为去除目标，根据曲线图，所需最佳剂量为 19mg/L PAC。

## A.5 结果与讨论

本实验同样可用于选取活性炭种类：

A.5.1 分别以四种不同的活性炭 A、B、C、D 进行上述实验，得出相应的去除率，绘制去除率-PAC 剂量图



A.5.2 以去除率 90%为例，分别所需之最佳剂量为 14、15.5、19 mg/L 之 PAC-B、PAC-C、PAC-A。

A.5.3 以所需剂最低量为标准，计算 PAC 之间效率因子分别为

$$\text{PAC-B} = 14/14 = 1.00$$

$$\text{PAC-C} = 15.5/14 = 1.11$$

$$\text{PAC-A} = 19/14 = 1.36$$

A.5.4 单位重量的操作成本= 单位成本×效率因子(参考)

PAC 种类	单位成本 (元/吨)	效率因子	单位重量 操作成本

A	8200	1.36	11152
B	10000	1.00	10000
C	12500	1.11	13200
D	9000	-	-

A.5.5 通过比较得出单位重量操作成本最佳即性价比最高的活性炭种类。

## A.6 烧杯试验分析记录表

烧杯试验分析记录表(格式)

试验时间： 年 月 日 时

序号：

## 一、杯瓶试验

\* 杯瓶试验标准水量为 1000ml，PAC 浓度为 10000 ppm，硫酸铝浓度为 2g/L

## (一)实验结果

瓶号	1	2	3	4	5	6
MIB/Geosmin 浓度	ppt					
水中硫酸铝浓度	ppm					
PAC 浓度 检测项目	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
MIB/Geosmin 浓度(ng/L)						

## (二)理论加药量

瓶号	1	2	3	4	5	6
PAC 浓度	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
去除率(%)						

## 附录 B

### (资料性附录)

#### 活性炭生物量的测定方法

##### B.1 范围

本方法规定了活性炭生物量的测定方法。

本方法适用于各类活性炭。

##### B.2 规范性引用文件

下列文件对于本文件是必不可少的，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。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

##### B.3 方法提要

本方法是采用脂磷法萃取出被测样品中全体活细胞的脂类物质，该方法测的生物量可代表全体微生物的数量。1 nmol/P 约为 108 个与大肠杆菌大小的细胞。

用氯仿和甲醇萃取试样中的脂类，萃取液水浴蒸干。在中性条件下，过硫酸钾消解萃取液，可将所含磷全部氧化为正磷酸盐。在酸性介质中，磷酸盐与钼酸铵和抗坏血酸生成蓝色络合物，于波长 700nm 处测量吸光度。

##### B.4 试剂和材料

###### B.4.1 试剂规格

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和 GB/T 6682—2008 中规定的三级水。

**B.4.1.1** 硫酸。

**B.4.1.2** 硫酸溶液：1+1。

**B.4.1.3** 过硫酸钾溶液：50 g/L。

**B.4.1.4** 抗坏血酸溶液：100 g/L，（此溶液需贮存于棕色试剂瓶中，冷藏可稳定保存一周。）

**B.4.1.5** 钼酸盐溶液：称取钼酸铵 13 g 溶解于 100mL 水中。另将酒石酸锑钾 0.35 g 溶解于 100 mL 水中。在不断搅拌下，将钼酸铵溶液缓慢加入到 300mL 硫酸溶液中，然后加入酒石酸锑钾溶液并混合均匀。（此溶液需贮存于棕色试剂瓶中，冷藏可保存两个月。）

**B.4.1.6** 磷标准贮备溶液：称取 0.2197±0.0001 g 于 110℃干燥 2 h 并在干燥器中放冷的磷酸二氢钾，用水溶解后转移至 1000mL 容量瓶中，先加入约 800mL 水，再加 5 mL 硫酸溶液，并用水稀释至标线，混匀。（本溶液在玻璃瓶中可贮存至少六个月。）

**B.4.1.7** 磷标准使用溶液（1 mL 含 2μg 磷）：移取 10.0 mL 的磷标准贮备溶液转移至 250 mL 容量瓶中，用水稀释至标线并混匀。此溶液现用现配。

**B.4.1.8** 三氯甲烷

**B.4.1.9** 无水甲醇

**B.4.1.10** 无菌水：将三级水在 121℃下高压灭菌 30 min。

**B.4.2** 材料**B.4.2.1** 纱布**B.4.2.2** 橡皮筋**B.5** 仪器

**B.5.1** 分析天平：感量 0.0001 g

**B.5.2** 振荡器：频率 (130±10) r/min

**B.5.3** 恒温水浴锅：100℃

**B.5.4** 蒸汽压力灭菌锅

**B.5.5** 紫外分光光度计

**B.5.6** 干燥器：内装无水氯化钙或变色硅胶

**B.5.7** 超声波清洗器：100w

**B.5.8** 移液枪

**B.5.9** 一般实验室仪器

**B.6** 分析步骤**B.6.1** 绘制标准曲线

(1) 分别移取磷标准使用溶液 0.0、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL 于 25 mL 具塞刻度比色管中，并分别加入 4 mL 过硫酸钾，加水至刻度线，混匀。

(2) 将盖子盖紧后，用纱布和橡皮筋将比色管的玻璃塞扎紧固定，放在 500 mL 烧杯中置于蒸汽压力灭菌锅中加热(121℃, 30 min)。待压力降为零后，取出放冷。然后用蒸馏水稀释至标线。

(3) 用移液枪加入 1 mL 抗坏血酸溶液混匀，30s 后加入 2 mL 钼酸盐溶液混合均匀。

(4) 室温放置 15 min 后，使用光程为 30mm 石英比色皿，在 700nm 波长下，以水为参比，测定各溶液的吸光度。扣除空白试验的吸光度后，根据吸光度值及对应溶液浓度绘制磷标准曲线。

**B.6.2** 制备空白试样：称量 6 g±0.02g 试样，加入 20 mL 无菌水，放在振荡器上 (130 r/min) 上振荡 40 min，再用超声波清洗器超声 2 min，弃掉溶液，将样品置于恒温干燥箱中 150℃ 烘干 2 h，冷却后用无菌水冲洗烘干后的炭样，去掉生物膜。

**B.6.3** 称取 6 g±0.02g 试样 (精确至 0.01g)，置于 100 mL 预先灭菌后的具塞锥形瓶中。

**B.6.4** 上述样品和空白试样中，均用移液枪加入三氯甲烷 5 mL，无水甲醇 10 mL，无菌水 4 mL。然后盖紧瓶塞，放在振荡器上 130 r/min 振荡 40 min。最后，再用超声波清洗器超声 2 min。静置 12 h 后，再向锥形瓶中加入三氯甲烷 5 mL，无菌水 5mL，静置 12 h。

**B.6.5** 用移液枪缓慢吸取锥形瓶中液体，转移至 25 mL 具塞比色管中。待溶液分层后，用移液枪将上层液体转移至另一 25 mL 具塞比色管中，分别水浴 (100℃) 蒸干 40 min。冷却至室温后，将上述 2 个比色管中的剩余液体置于同一个具塞比色管中，并用少量蒸馏水润洗。

**B.6.6** 分别向上述比色管中加入 4 mL 过硫酸钾溶液，并加蒸馏水稀释至 25 mL 标线。盖紧塞子后，用纱布扎紧置于 500 mL 烧杯中，蒸气压力灭菌锅内 121℃消解 30 min。待压力表读数降至零后，取出放冷，并用水稀释至标线。

**B.6.7** 加入 1 mL 抗坏血酸溶液混合均匀，30s 后加入 2 mL 钼酸盐溶液充分混匀。

**B.6.8** 室温下放置 15 min 后，使用光程为 30 mm 石英比色皿，以水为参比，在 700 nm 波长下测定吸光度。扣除空白试样的吸光度后，从标准曲线上查得磷的含量。

## B.7 结果计算

B.7.1 生物量以  $N$  表示，单位为纳摩尔磷每克 nmol P/g，按下式计算：

$$N = \frac{m/31}{M * (1 - w\%)} \times 1000$$

式中：

$m$ — 从标准曲线上查得试样的磷含量，单位为微克 ( $\mu\text{g}$ )。

$M$ — 测定所用试样的质量，单位为克。

$w\%$ — 试样水分。

**B.7.2** 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允许差不大于 10 nmolP/g。



## C.5 仪器

**C.5.1 分析天平：感量 0.001g**

**C.5.2 生化培养箱**

**C.5.3 分光光度计：带 1 cm 比色皿**

**C.5.4 离心机**

**C.5.5 超声波清洗器：100W**

**C.5.6 恒温水浴振荡器**

**C.5.7 一般实验室仪器**

## C.6 分析步骤

### C.6.1 绘制标准曲线

取 6 根 50 mL 比色管，分别加入 TTC 标准储备溶液 1、2、3、4、5、6mL，用蒸馏水定容至 50 mL，即 TTC 浓度梯度为 20、40、60、80、100、120  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

取 7 支 20 mL 离心管，前 6 支分别加入 2mL 上述不同浓度的 TTC 溶液，第 7 支为对照组，**不加入 TTC 溶液**，加入 2mL 无氧水。然后在上述离心管中依次加入 2mL Tris-HCl 缓冲溶液、2 mL 0.1mol/L 葡萄糖溶液、1 mL 10% 硫化钠溶液，并将离心管置于恒温水浴振荡器中 ( $37\pm 1^\circ\text{C}$ )，130 r/min 振荡培养 30 min，**结束后**每根离心管加一滴浓硫酸。

混合均匀后，溶液已经充分显色。再加入 5 mL 三氯甲烷，混匀，完全提取 TF。暗处放置 2min 后，将离心管**置于离心机中**，以 4000 r/min **速度**离心 5min。静置 5 min 后，取有机相溶液，在波长 485nm 下，用 1cm 比色皿测量吸光度。**以空白试剂作对照**，绘制标准曲线。

### C.6.2 样品测定

**C.6.2.1** 称取 2 g 左右湿炭，置于 20 mL 离心管中。加入 2mL Tris-HCl 缓冲溶液、2 mL 0.1mol/L 葡萄糖溶液、2 mL 0.5% **TTC** 溶液，并**置于超声波清洗器中**超声 2 min。

**C.6.2.2** 将上述离心管置于恒温水浴振荡器中 ( $37\pm 1^\circ\text{C}$ )，130 r/min 培养 30 min。

**C.6.2.3** 向上述离心管中加入 5 mL 三氯甲烷，混匀，完全提取 TF。暗处放置 2min 后，将离心管**置于离心机中**，以 4000 r/min **速度**离心 5min。静置 5 min 后，记录有机相体积 V，mL。

**C.6.2.4** 取有机相溶液在波长 485nm 下，用 1cm 比色皿测量吸光度。

**C.6.2.5** **同时**，另取试样测定样品的水分，最后计算时换算成干重。

**C.6.2.6** 整个操作过程需要在暗处进行。

## C.7 结果计算

C.7.1 脱氢酶活性以 **DHA** 计，数值以  $\mu\text{gTF}/(\text{g}\cdot\text{h})$  表示，按下式计算。

$$\text{DHA} = A * V * C / (m * B)$$

式中：

$A$ —标准曲线上查得样品 TF 的浓度，单位为 ( $\mu\text{gTF}/\text{mL}$ )；

$V$ —提取后有机相的体积， $\text{mL}$ ；

$B$ —培养时间， $\text{h}$ ；

$C$ —比色时，水样如若稀释，即水样稀释倍数

$m$ —称量的样品质量（已经换算为干重  $\text{g}$ ）。

**C.7.2** 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允许差不大于  $10 \mu\text{gTF}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。

## 附录 D

### (资料性附录)

#### 活性炭滤料中异养菌的测定方法

##### D.1 范围

本方法规定了**活性炭滤料**中异养菌测定所需仪器、分析步骤及结果计算等内容。本方法适用于**活性炭滤料**异养菌数量的测定。

##### D.2 规范性引用文件

下列文件对于本文件是必不可少的，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。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

##### D.3 方法提要

本方法采用平皿计数法，将待测样品与无菌水混合，经振荡和超声处理后，水样用 10 倍稀释法稀释至需要的稀释度，将不同稀释度试样分别接种到无菌培养皿中，置于 $(28\pm 2)^\circ\text{C}$ 生化培养箱中培养 7 d，培养期满后按照菌落计数方法计数。

##### D.4 试剂和材料

###### D.4.1 试剂规格

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和 GB/T 6682—2008 中规定的三级水。

###### D.4.1.1 R<sub>2</sub>A 培养基

分别称取酵母浸出物 0.5g、胰蛋白胨 0.5g、酪蛋白酸水解物 0.5g、葡萄糖 0.5g、可溶性淀粉 0.5g、硫酸镁 0.025g、丙酮酸钠 0.3g 和琼脂 15.0g，将上述成分置于 1000mL 水中加热溶解，用  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  调节溶液 pH 值 7.2~7.4。将上述配制好的培养液分装于 500mL 锥形瓶中， $121^\circ\text{C}$ 蒸汽下灭菌 15min，冷却至  $55^\circ\text{C}$  备用。

###### D.4.1.2 乙醇溶液 (V/V75%)

###### D.4.1.3 pH 精密试纸

D.4.1.4 无菌水：将三级水在  $121^\circ\text{C}$  下高压灭菌 30 min。

###### D.4.2 材料

###### D.4.2.1 牛皮纸

###### D.4.2.2 医用脱脂棉

###### D.4.2.3 医用脱脂纱布

##### D.5 仪器

D.5.1 分析天平：感量 0.001 g

- D.5.2 高压蒸汽灭菌锅
- D.5.3 电热恒温干燥箱
- D.5.4 冰箱
- D.5.5 振荡器
- D.5.6 超声波清洗器:100W
- D.5.7 生化培养箱
- D.5.8 超净台
- D.5.9 紫外消毒车
- D.5.10 培养皿 (直径 9cm)
- D.5.11 移液枪
- D.5.12 一般实验室仪器

## D.6 分析步骤

**D.6.1** 实验前准备: 将洗净的培养皿、试管、移液枪枪头、100 mL 锥形瓶、500 mL 锥形瓶 (内置蒸馏水) 等塞上棉塞 (医用脱脂纱布包裹脱脂棉) 用纸包好, 置于高压蒸汽灭菌锅内, 121℃灭菌 30min, 取出置于超净台内冷却至室温备用。

**D.6.2** 实验开始前, 打开超净台紫外灯照射 30 min。用紫外消毒车对无菌室进行照射 1 h。

**D.6.3** 对所送样品用四分法进行分样, 取约 100g 活性炭试样, 在 4℃冰箱中冷藏备用。

**D.6.4** 称取 5 g 试样于 100 mL 无菌锥形瓶中, 加入 50mL 无菌水, 静置浸泡 30 min。然后于恒温振荡器(130r/min)振荡 20min, 之后再于超声清洗器中超声 2 min。

**D.6.5** 将处理好的试样放入超净台内, 立即用乙醇溶液浸泡的医用脱脂棉球对手进行消毒, 点燃超净台内的酒精灯。试样的稀释和接种操作均应在超净台内的酒精灯火焰区进行。

**D.6.6** 用 10 mL 移液枪, 以无菌操作方法在 9 根试管内分别注入 9 mL 无菌水。

**D.6.7** 用 1mL 移液枪吸取 1mL 处理好的试样 (样品浓度为  $10^{-1}$ g/mL), 注入盛有 9mL 无菌水的试管中, 吹吸 3 次, 混匀成  $10^{-2}$  浓度的稀释液。再吸取  $10^{-2}$  稀释液 1mL 注入盛有 9mL 无菌水的试管中, 混匀成  $10^{-3}$  浓度的稀释液。按同法依次稀释成  $10^{-4}$ ... $10^{-10}$  浓度梯度的稀释液备用。

**D.6.8** 将灭菌后的 R<sub>2</sub>A 培养基冷却至 (45±1) °C, 打开灭菌后冷却至室温的培养皿, 左手托住培养皿, 大拇指和食指轻轻地将培养皿盖提起, 将培养基倒入培养皿底部, 倾注约 15 mL 并立即小心旋摇培养皿, 不要使培养基溅到培养皿外壁。

**D.6.9** 待培养基冷却凝固后, 取  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  (依据样品情况进行调整) 进行接种, 每个浓度梯度均用 1 mL 移液枪吸取 0.15 mL 混匀后的样品, 注入到培养基中。

**D.6.10** 接种时, 左手托住培养皿, 大拇指和食指轻轻地将培养皿盖提起, 移液枪枪头和培养皿的底部成 45°相接。移开枪头时, 枪头不能再碰到培养皿。接种时间不宜超过 4s, 每接种一个稀释度必须更换一个枪头。

稍微冷却, 用涂布棒在培养基上涂抹均匀。更换浓度梯度时, 需要灼烧玻璃涂布棒, 用完后仍浸泡于乙醇溶液中。

**D.6.11** 每个浓度梯度均设一个平行样，同时，另用一个平皿只倾注 R<sub>2</sub>A 培养基作为空白对照。

**D.6.12** 接种完盖~~上~~盖~~子~~倒置培养皿，并于 28±2 °C 培养箱中培养 7 d。

## D.7 结果计算

### D.7.1 菌落计数

平皿菌落计数时，可用眼睛直接观察，必要时用放大镜检查，以防遗漏。

在记下各平皿的菌落数后，应求出同稀释度的平均菌落数，供下一步计算时应用。在求同稀释度的平均数时，若其中一个平皿有较大片状菌落生长时，则不宜采用，而应以无片状菌落生长的平皿作为该稀释度的平均菌落数。

若片状菌落不到平皿的一半，而其余菌落数分布又很均匀，则可将此半皿计数后乘 2 以代表全皿菌落数。然后再求该稀释度的平均菌落数。

### D.7.2 菌落总数的计算方法

按已获得的同稀释度的平均菌落数的不同情况进行计算。

①首先选择平均菌落数在 30 - 300 之间，查表进行计算。当只有一个稀释度的平均菌落数符合此范围时，则以该平均菌落数乘其稀释倍数，报告该水样的细菌总数（表 1 例 1）

②若有两个稀释度，其平均菌落数均在 30-300 之间，则应按两者菌落总数之比值（高值除以低值）来决定。若其比值小于 2 应报告两者平均数，若大于 2 则报告其中较小菌落总数（表 1 例 2、例 3）。

③若所有稀释度的平均菌落数均大于 300，则应按稀释度最高的平均菌落数乘以稀释倍数报告（表 1 例 4）

④若所有稀释度的平均菌落数均小于 30，则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数报告（表 1 例 5）

⑤若所有稀释度的平均菌落数均不在上述①②③④范围内，则以最接近 300 或 30 的平均菌落数乘以稀释倍数报告（表 1 例 6）

表 1 稀释度选择及菌落总数报告方式

例次	不同稀释度的平均菌落数			两个稀释度 菌落数之比	菌落总数/ $\cdot\text{mL}^{-1}$	报告方式/ $\text{个}\cdot\text{mL}^{-1}$
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$			
1	1365	164	20	—	16.400	16000 或 $1.6\times 10^4$
2	2760	295	46	1.6	37.750	37750 或 $3.8\times 10^4$
3	2890	271	60	2.2	27.100	27100 或 $2.7\times 10^4$
4	无法计数	10650	513	—	513.000	510000 或 $5.1\times 10^5$
5	27	11	5	—	270	270 或 $2.7\times 10^2$
6	无法计数	305	12	—	30.500	30500 或 $3.1\times 10^4$

### D.7.3 菌落总数的报告

菌落数小于 100CFU 时，以整数报告；菌落数大于或等于 100CFU 时，用 10 的指数形式来表示，按“四舍五入”原则修约后，采用两位有效数字；若所有平板上为蔓延菌落而无法计数，则报告菌落蔓延。

**D.7.4** 若空白对照上有菌落生长，则此次检测结果无效。

**D.7.5** 称重取样以 CFU/g 为单位报告。

## 附录 E

### (资料性附录)

#### 活性炭滤料中氨化细菌的测定方法

##### E.1 范围

本方法规定了**活性炭滤料**中氨化细菌测定所需仪器、分析步骤及结果计算等内容。本方法适用于**活性炭滤料**氨化细菌数量的测定。

##### E.2 规范性引用文件

下列文件对于本文件是必不可少的，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。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

##### E.3 方法提要

本方法采用 MPN **计数法**。将待测样品与无菌水混合，经振荡和超声处理后，水样用 10 倍稀释法稀释至需要的稀释度，将不同稀释度试样分别接种到无菌的蛋白胨氨化培养基中，置于  $(28\pm 1)^\circ\text{C}$  生化培养箱中培养 7 d，培养期满后用纳氏试剂检查培养液有无铵态氮。

##### E.4 试剂和材料

###### E.4.1 试剂规格

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和 GB/T 6682—2008 中规定的三级水。

###### E.4.1.1 蛋白胨氨化培养基

分别称取蛋白胨 10g、 $\text{FeSO}_4\cdot 0.001\text{g}$ 、 $\text{MgSO}_4\cdot 0.5\text{g}$  和  $\text{NaCl}\cdot 0.5\text{g}$ ，以及吸取 1 mL 微量元素溶液（硼酸 0.5g 和钼酸钠 0.5 g，溶解于 100 mL 水中），将上述成分溶解于 1000mL 水中，用 **10%碳酸钠或  $\text{K}_2\text{HPO}_4$**  调节溶液 pH 值至  **$7.2\pm 0.2$** 。将上述配制好的培养液分装于 500mL 锥形瓶中， $121^\circ\text{C}$  蒸汽下灭菌 30min，备用。

###### E.4.1.2 乙醇溶液（V/V75%）

**E.4.1.3 纳氏试剂（用于培养液观察）**：甲液，称取碘化汞 20 g 和碘化钾 10 g 溶于 100 mL 水中。乙液，称取氢氧化钾 20 g 溶于 100 mL 水中。分别配制甲乙溶液，冷却后混合，放置 2 天后使用，贮存于棕色试剂瓶中。取上层清液使用，保存期三周（随着沉淀增加会影响测定结果）。

###### E.4.1.4 pH 精密试纸

**E.4.1.4 无菌水**：将三级水在  $121^\circ\text{C}$  下高压灭菌 30 min。

###### E.4.2 材料

###### E.4.2.1 牛皮纸

###### E.4.2.2 医用脱脂棉

### E.4.2.3 医用脱脂纱布

## E.5 仪器

### E.5.1 分析天平：感量 0.001 g

### E.5.2 高压蒸汽灭菌锅

### E.5.3 电热恒温干燥箱

### E.5.4 冰箱

### E.5.5 振荡器

### E.5.6 超声波清洗器：100W

### E.5.7 生化培养箱

### E.5.8 超净台

### E.5.9 紫外消毒车

### E.5.10 移液枪

### E.5.11 一般实验室仪器

## E.6 分析步骤

**E.6.1 实验前准备：**将洗净的试管、移液枪枪头、100 mL 锥形瓶、500 mL 锥形瓶（内置蒸馏水）等塞上棉塞（医用脱脂纱布包裹脱脂棉）用纸包好，置于高压蒸汽灭菌锅内，121℃ 灭菌 30min，取出置于超净台内冷却至室温备用。

**E.6.2 实验开始前，**打开超净台紫外灯照射 30 min。用紫外消毒车对无菌室进行照射 1 h。

**E.6.3 对所送样品用四分法进行分样，**取约 100 g 活性炭试样，在 4℃ 冰箱中冷藏备用。

**E.6.4 称取 5 g 试样于 100 mL 无菌锥形瓶中，**加入 50 mL 无菌水，静置浸泡 30 min。然后于恒温振荡器中 130r/min 振荡 20 min，之后再于超声清洗器中超声 2 min。

**E.6.5 将处理好的试样放入超净台内，**立即用乙醇溶液浸泡的医用脱脂棉球对手进行消毒，点燃超净台内的酒精灯。试样的稀释和接种操作均应在超净台内的酒精灯火焰区进行。

**E.6.6 用 10 mL 移液枪，**以无菌操作方法在 9 根试管内分别注入 9 mL 无菌水。

**E.6.7 用 1mL 移液枪吸取 1mL 处理好的试样（**样品浓度为  $10^{-1}$ g/mL），注入盛有 9mL 无菌水的试管中，吹吸 3 次，混匀成  $10^{-2}$  浓度的稀释液。再吸取  $10^{-2}$  稀释液 1mL 注入盛有 9mL 无菌水的试管中，混匀成  $10^{-3}$  浓度的稀释液。按同法依次稀释成  $10^{-4}$ ... $10^{-10}$  浓度梯度的稀释液备用。

**E.6.8 将灭菌后的蛋白胨氮化培养基冷却至室温，**用移液枪分装 5 mL 于每根试管中。

**E.6.9 取  $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$  浓度的稀释液（**依据样品情况进行调整）进行接种，每个浓度梯度均用移液枪吸取 1 mL 接种于装有 5mL 培养基的试管中，吹吸三次后弃掉枪头。

**E.6.10 每个浓度梯度均重复接种 3 个平行样，**并在另一根试管中接种无菌水 1mL 做空白对照。

**E.6.11 接种完成后将试管置于培养箱中（** $28\pm 1$  °C）培养 7 d，每天观察是否有浑浊产生和变化，并用纳氏试剂检查有无铵态氮存在，记录各稀释度长菌的管数。

## E.7 结果计算

**E.7.1** 吸取 5 滴培养液置于白瓷板凹窝中，滴加 2 滴纳氏试剂，检查是否出现棕色或褐色，确定是否产生氨，用“+和—”记录结果，“+”表示有氨，“—”表示无氨。

**E.7.2** 记录结果后，将有菌液生长的最后3个稀释度（即临界级数）中出现细菌生长的管数作为数量指标，从MPN数值表中查得的数量指标后，再乘以稀释度最低的的稀释倍数，即为初始悬浮液中的菌液浓度。

**E.7.3** 应用MPN计数，应注意两点：一是菌液稀释度的选择要合适，其原则是最低稀释度的所有重复都应有菌生长，而最高稀释度的所有重复无菌生长。二是每个接种稀释度必须有重复，重复次数可根据需要和条件而定。

## 附录 F

### (资料性附录)

#### 活性炭滤料中硝化细菌的测定方法

##### F.1 范围

本方法规定了活性炭滤料中硝化细菌测定所需仪器、分析步骤及结果计算等内容。本方法适用于活性炭滤料中硝化细菌数量的测定。

##### F.2 规范性引用文件

下列文件对于本文件是必不可少的，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。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

##### F.3 方法提要

本方法采用 MPN 计数法。将待测样品与无菌水混合，经振荡和超声处理后，水样用 10 倍稀释法稀释至需要的稀释度，将不同稀释度试样分别接种到无菌的改良史蒂芬逊培养基中，置于  $(28\pm 1)^\circ\text{C}$  生化培养箱中培养 7 d，培养期满后用二苯胺试剂检查培养液中有无硝酸盐。

##### F.4 试剂和材料

###### F.4.1 试剂规格

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和 GB/T 6682—2008 中规定的三级水。

###### F.4.1.1 改良史蒂芬逊培养基

分别称取  $\text{NaNO}_2$  0.01g、 $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2g、 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.3g、 $\text{NaCl}$  0.3g 和  $\text{CaCO}_3$  5.0g，溶于 1000mL 水中，用 10% 碳酸钠或  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  调节溶液 pH 值至  $7.2\pm 0.2$ 。将上述配制好的培养液分装于 500mL 锥形瓶中， $121^\circ\text{C}$  蒸汽下灭菌 30min，备用。

###### F.4.1.2 乙醇溶液 (V/V75%)

**F.4.1.3 二苯胺试剂 (用于培养液观察):** 称取无色的二苯胺试剂 1.0g，溶解于 20 mL 水中，然后缓慢将 100 mL 浓硫酸加入到上述溶液中，混合均匀后贮存于棕色试剂瓶中。

###### F.4.1.4 改良型格里斯试剂 (Griess Reagent) I 和 II (用于验证培养液中有无亚硝酸盐)

试剂 I: 称取氨基苯磺酸 0.5 g 加到 150 mL 的 20~30% 稀醋酸溶液中溶解，贮存于棕色试剂瓶中。

试剂 II: 称取  $\alpha$ -萘胺 0.5g 加到 50 mL 水中，煮沸后，缓慢加入 150 mL 的 20% 稀醋酸溶液中，贮存于棕色试剂瓶中。

###### F.4.1.5 pH 精密试纸

###### F.4.1.6 盐酸溶液: 1+1

**F.4.1.7** 无菌水：将三级水在 121℃下高压灭菌 30 min。

#### **F.4.2** 材料

**F.4.2.1** 牛皮纸

**F.4.2.2** 医用脱脂棉

**F.4.2.3** 医用脱脂纱布

#### **F.5** 仪器

**F.5.1** 天平：感量 0.01 g

**F.5.2** 高压蒸汽灭菌锅

**F.5.3** 电热恒温干燥箱

**F.5.4** 冰箱

**F.5.5** 振荡器

**F.5.6** 超声波清洗器：100W

**F.5.7** 生化培养箱

**F.5.8** 超净台

**F.5.9** 紫外消毒车

**F.5.10** 移液枪

**F.5.11** 一般实验室仪器

#### **F.6** 分析步骤

**F.6.1** 实验前准备：将洗净的试管、移液枪枪头、100 mL 锥形瓶、500 mL 锥形瓶（内置蒸馏水）等塞上棉塞（医用脱脂纱布包裹脱脂棉）用纸包好，置于高压蒸汽灭菌锅内，121℃灭菌 30min，取出置于超净台内冷却至室温备用。

**F.6.2** 实验开始前，打开超净台，并打开紫外灯照射 30 min。用紫外消毒车对无菌室进行照射 1 h。

**F.6.3** 对所送样品用四分法进行分样，取约 100 g 活性炭试样，在 4℃冰箱中冷藏备用。

**F.6.4** 称取 5 g 试样于 100 mL 无菌锥形瓶中，加入 50 mL 无菌水，静置浸泡 30 min。然后于恒温振荡器中 130r/min 振荡 20 min，之后再于超声波清洗器中超声 2 min。

**F.6.5** 将处理好的试样放入超净台内，立即用乙醇溶液浸泡的医用脱脂棉球对手进行消毒，点燃超净台内的酒精灯。试样的稀释和接种操作均应在超净台内的酒精灯火焰区进行。

**F.6.6** 用 10 mL 移液枪，以无菌操作方法在 9 根试管内分别注入 9 mL 无菌水。

**F.6.7** 用 1mL 移液枪吸取 1mL 处理好的试样（样品浓度为  $10^{-1}$ g/mL），注入盛有 9mL 无菌水的试管中，吹吸 3 次，混匀成  $10^{-2}$  浓度的稀释液。再吸取  $10^{-2}$  稀释液 1mL 注入盛有 9mL 无菌水的试管中，混匀成  $10^{-3}$  浓度的稀释液。按同法依次稀释成  $10^{-4}$ ... $10^{-10}$  浓度梯度的稀释液备用。

**F.6.8** 将灭菌后的改良史蒂芬逊培养基冷却至室温，用移液枪分装 5 mL 于每根试管中。

**F.6.9** 取  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  浓度的稀释液（依据样品情况进行调整）进行接种，每个浓度梯度均用移液枪吸取 1 mL 接种于装有 5mL 培养基的试管中，吹吸三次。

**F.6.10** 每个浓度梯度均重复接种 3 个平行样,并在另一根试管中接种无菌水 1mL 做空白对照。

**F.6.11** 接种完成后将试管置于培养箱中 ( $28\pm 1$  °C) 培养 30 d。

## F.7 结果计算

**F.7.1** 首先检查培养液中的  $\text{NO}_2^-$ ,用无菌吸管吸取 0.2 mL 培养液滴在小试管中,加入 6~10 滴 (1+1) HCl 使之酸化,再加入对氨基苯磺酸数粒,反应 5 分钟,去除培养液中的  $\text{NO}_2^-$ 。然后依次滴加格里斯试剂 I 和 II 各 2 滴检查,如若不呈现粉红色,证明亚硝酸盐已被完全去除,可以检查培养液中  $\text{NO}_3^-$  产生情况。

**F.7.2** 检查培养液中  $\text{NO}_3^-$  产生情况,取 7.1 中液体 0.2mL 于白瓷板凹窝,滴加 2 滴二苯胺试剂,静置 5~10min。如果呈现蓝色,即证明培养液中存在硝酸盐,说明硝化细菌存在。用“+和—”记录结果,“+”表示有硝化细菌,“—”表示无硝化细菌。

**F.7.3** 记录结果后,将有菌液生长的最后3个稀释度(即临界级数)中出现细菌生长的管数作为数量指标,从MPN数值表中查得数量指标后,再乘以稀释度最低的稀释倍数,即为初始悬浮液中的菌液浓度。

**F.7.4** 应用MPN计数,应注意两点:一是菌液稀释度的选择要合适,其原则是最低稀释度的所有重复都应有菌生长,而最高稀释度的所有重复无菌生长。二是每个接种稀释度必须有重复,重复次数可根据需要和条件而定。

## 附录 G

### (资料性附录)

#### 活性炭滤料中亚硝化细菌的测定方法

##### G.1 范围

本方法规定了活性炭滤料中亚硝化细菌测定所需仪器、分析步骤及结果计算等内容。  
本方法适用于活性炭滤料中亚硝化细菌数量的测定。

##### G.2 规范性引用文件

下列文件对于本文件是必不可少的，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。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

##### G.3 方法提要

本方法采用 MPN 计数法。将待测样品与无菌水混合，经振荡和超声处理后，水样用 10 倍稀释法稀释至需要的稀释度，将不同稀释度试样分别接种到无菌的改良史蒂芬逊培养基中，置于  $(28\pm 1)^\circ\text{C}$  生化培养箱中培养 7 d，培养期满后用格里斯试剂检查培养液中有无亚硝酸盐。

##### G.4 试剂和材料

###### G.4.1 试剂规格

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和 GB/T 6682—2008 中规定的三级水。

###### G.4.1.1 改良史蒂芬逊培养基

分别称取  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2.0g、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0.25g、 $\text{MgSO}_4$  0.03g、 $\text{MnSO}_4$  0.01g 和  $\text{CaCO}_3$  5.0g，溶于 1000mL 水中，用 10% 碳酸钠或  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  调节溶液 pH 值至  $7.2\pm 0.2$ 。将上述配制好的培养液分装于 500mL 锥形瓶中， $121^\circ\text{C}$  蒸汽下灭菌 30min，备用。

###### G.4.1.2 乙醇溶液 (V/V75%)

###### G.4.1.3 改良型格里斯试剂 I 和 II (用于验证培养液中有无亚硝酸盐)

试剂 I: 称取对氨基苯磺酸 0.5 g 加到 150 mL 的 20~30% 稀醋酸溶液中，贮存于棕色试剂瓶中。

试剂 II: 称取  $\alpha$ -萘胺 0.5g 加到 50 mL 水中，煮沸后，缓慢加入 150 mL 的 20% 稀醋酸溶液中，贮存于棕色试剂瓶中。

###### G.4.1.4 pH 精密试纸

G.4.1.5 无菌水: 将三级水在  $121^\circ\text{C}$  下高压灭菌 30 min。

###### G.4.2 材料

G.4.2.1 牛皮纸

G.4.2.2 医用脱脂棉

G.4.2.3 医用脱脂纱布

G.5 仪器

**G.5.1 天平：感量 0.01 g**

G.5.2 高压蒸汽灭菌锅

G.5.3 电热恒温干燥箱

G.5.4 冰箱

G.5.5 振荡器

**G.5.6 超声波清洗器：100W**

G.5.7 生化培养箱

G.5.8 超净台

G.5.9 紫外消毒车

G.5.10 移液枪

**G.5.11 一般实验室仪器**

G.6 分析步骤

**G.6.1** 实验前准备：将洗净的试管、移液枪枪头、100 mL 锥形瓶、500 mL 锥形瓶（内置蒸馏水）等塞上棉塞（医用脱脂纱布包裹脱脂棉）用纸包好，置于高压蒸汽灭菌锅内，121℃ 灭菌 30min，取出置于超净台内冷却至室温备用。

**G.6.2** 实验开始前，打开超净台紫外灯照射 30 min。用紫外消毒车对无菌室进行照射 1 h。

**G.6.3** 对所送样品用四分法进行分样，取约 100 g 活性炭试样，在 4℃ 冰箱中冷藏备用。

**G.6.4** 称取 5 g 试样于 100 mL 无菌锥形瓶中，加入 50 mL 无菌水，静置浸泡 30 min。然后于恒温振荡器中 130r/min 振荡 20 min，之后再于超声波清洗器中超声 2 min。

**G.6.5** 将处理好的试样放入超净台内，立即用乙醇溶液浸泡的医用脱脂棉球对手进行消毒，点燃超净台内的酒精灯。试样的稀释和接种操作均应在超净台内的酒精灯火焰区进行。

**G.6.6** 用 10 mL 移液枪，以无菌操作方法在 9 根试管内分别注入 9 mL 无菌水。

**G.6.7** 用 1mL 移液枪吸取 1mL 处理好的试样（样品浓度为  $10^{-1}$ g/mL），注入盛有 9mL 无菌水的试管中，吹吸 3 次，混匀成  $10^{-2}$  浓度的稀释液。再吸取  $10^{-2}$  稀释液 1mL 注入盛有 9mL 无菌水的试管中，混匀成  $10^{-3}$  浓度的稀释液。按同法依次稀释成  $10^{-4}$ ~ $10^{-10}$  浓度梯度的稀释液备用。

**G.6.8** 将灭菌后的改良史蒂芬逊培养基冷却至室温，用移液枪分装 5 mL 于每根试管中。

**G.6.9** 取  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  浓度的稀释液（依据样品情况进行调整）进行接种，每个浓度梯度均用移液枪吸取 1 mL 接种于装有 5mL 培养基的试管中，吹吸三次。

**G.6.10** 每个浓度梯度均重复接种 3 个平行样，并在另一根试管中接种无菌水 1mL 做空白对照。

**G.6.11** 接种完成后将试管置于培养箱中（ $28\pm 1^\circ\text{C}$ ）培养 30 d。

## G.7 结果计算

**G.7.1** 检查培养液中的  $\text{NO}_2^-$  产生情况，用无菌吸管吸取 0.2 mL 培养液滴在白瓷板凹窝中，滴加格利斯试剂 I 和 II 各 2 滴。

如果不呈现粉红色，说明培养液中不含  $\text{NO}_2^-$ ，原接种水样中不含亚硝化细菌；

如果呈现粉红色，说明培养液生成了  $\text{NO}_2^-$ ，原接种水样中含有亚硝化细菌；

用“+和—”记录结果，“+”表示有亚硝化细菌，“—”表示无亚硝化细菌。

**G.7.2** 应用MPN计数，应注意两点：一是菌液稀释度的选择要合适，其原则是最低稀释度的所有重复都应有菌生长，而最高稀释度的所有重复无菌生长。二是每个接种稀释度必须有重复，重复次数可根据需要和条件而定。

附录 H  
(资料性附录)

筛孔尺寸与标准目数对照表

序号	尺寸	标准目数
1	4.75mm	4 目
2	4.00mm	5 目
3	3.35mm	6 目
4	2.80mm	7 目
5	2.36mm	8 目
6	2.00mm	10 目
7	1.70mm	12 目
8	1.40mm	14 目
9	1.18mm	16 目
10	1.00mm	18 目
11	0.850mm	20 目
12	0.710mm	25 目
13	0.600mm	30 目
14	0.500mm	35 目
15	0.425mm	40 目
16	0.355mm	45 目
17	0.300mm	50 目
18	0.250mm	60 目
19	0.212mm	70 目
20	0.180mm	80 目
21	0.150mm	100 目

22	0.125mm	120 目
23	0.106mm	140 目
24	0.090mm	170 目
25	0.0750mm	200 目
26	0.0630mm	230 目
27	0.0530mm	270 目
28	0.0450mm	325 目
29	0.0374mm	400 目