

中华人民共和国城镇建设行业标准

CJ/T 51—2018
代替 CJ/T 51—2004

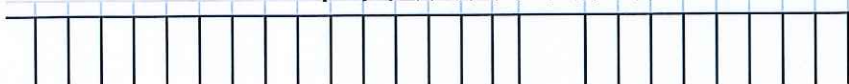
城镇污水水质标准检验方法

Examination methods for municipal sewage

2018-06-12 发布

2018-12-01 实施

中华人民共和国住房和城乡建设部 发布



固体标准样品替代)进行了18次测定,方法相对误差置信范围为 $(1.77 \pm 4.60)\%$ 。

4家实验室以废污水为本底,用溶解性固体标准溶液作标准进行加标测定,回收率置信范围为 $(100.7 \pm 3.4)\%$ 。

11 耐热大肠菌群的测定 酶底物法

11.1 方法和原理

11.1.1 方法:采用酶底物法测定城镇污水中的耐热大肠菌群。

11.1.2 原理:在 $(44.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 培养条件下,耐热大肠菌群在选择性培养基上产生 β -半乳糖苷酶(β -D-galactosidase),能分解色原底物释放出无色原体使培养基呈现颜色变化,以此方法检测水中耐热大肠菌群。

11.2 试剂和材料

本方法采用试剂和材料如下:

- Minimal Medium ONPG-MUG(MMO-MUG)培养基,可选用市售商品化制品。每1000 mL MMO-MUG培养基所含基本成分见表1。
- 氯化钠:分析纯。
- 蒸馏水:实验室用水,应符合GB/T 6682的规定。
- 生理盐水: $\rho(\text{NaCl})=8.5 \text{ g/L}$ 。

称取氯化钠8.5 g溶于蒸馏水中,稀释至1000 mL,摇匀。分装到稀释瓶内,每瓶90 mL,然后在103.43 kPa(121°C)高压灭菌20 min。

表1 MMO-MUG培养基所含基本成分

序号	基本成分	成分含量/(g/L)
1	硫酸铵	5.0
2	硫酸锰	0.0005
3	硫酸锌	0.0005
4	硫酸镁	0.1
5	氯化钠	10
6	氯化钙	0.05
7	亚硫酸钠	0.04
8	两性霉素B	0.001
9	邻硝基苯- β -D-吡喃半乳糖苷	0.5
10	4-甲基伞形酮- β -D-葡萄糖醛酸苷	0.075
11	茄属植物萃取物	0.5
12	N-2-羟乙基哌嗪-N-2-乙磺酸钠盐	5.3
13	N-2-羟乙基哌嗪-N-2-乙磺酸	6.9

11.3 仪器和设备

本方法采用的仪器和设备如下:

- a) 量筒:100 mL、500 mL、1000 mL;
- b) 吸管:1 mL、5 mL、10 mL 的无菌玻璃吸管或塑料一次性吸管;
- c) 稀释瓶:100 mL、250 mL、500 mL、1000 mL 能耐高压的灭菌玻璃瓶;
- d) 试管:可高压灭菌的玻璃或塑料试管,大小约 15 mm×100 mm;
- e) 培养箱:(44.5 ± 0.5)℃;
- f) 高压蒸汽灭菌器:压力为 100 kPa~130 kPa,相应温度为 120℃~124℃;
- g) 干热灭菌器:温度可达到 160℃~180℃;
- h) 定量盘:定量培养用无菌塑料盘,含 51 个孔穴或 97 个孔穴;
- i) 程控定量封口机:用于最可能数法(MPN)51 孔或 97 孔定量盘的封口。

11.4 样品采集和处理

样品预处理:检测所需水样为 100 mL。若水样污染严重,可用生理盐水对水样进行稀释。然后取 10 mL 水样加入到 90 mL 灭菌生理盐水中待测。如有需要,可加大稀释度。

11.5 分析步骤

11.5.1 定性反应

用 100 mL 的无菌稀释瓶量取 100 mL 经预处理的样品,加入(2.7 ± 0.5)g MMO-MUG 培养基粉末,混摇均匀使之完全溶解后,放入(44.5 ± 0.5)℃的培养箱内培养 18 h~24 h。

11.5.2 10 管法

用 100 mL 的无菌稀释瓶量取 100 mL 经预处理的样品,加入(2.7 ± 0.5)g MMO-MUG 培养基粉末,混摇均匀使之完全溶解;然后用无菌吸管分别吸取 10 mL 水样置于 10 支灭菌试管中,放入(44.5 ± 0.5)℃的培养箱中培养 18 h~24 h。

11.5.3 51 孔定量盘法

用 100 mL 的无菌稀释瓶量取 100 mL 经预处理的样品,加入(2.7 ± 0.5)g MMO-MUG 培养基粉末,混摇均匀使之完全溶解;然后全部倒入 51 孔无菌定量盘内,用手抚平定量盘背面以赶除孔穴内气泡;最后用程控定量封口机封口,放入(44.5 ± 0.5)℃的培养箱中培养 18 h~24 h。

11.5.4 97 孔定量盘法

用 100 mL 的无菌稀释瓶量取 100 mL 经预处理的样品,加入(2.7 ± 0.5)g MMO-MUG 培养基粉末,混摇均匀使之完全溶解;然后全部倒入 97 孔无菌定量盘内,用手抚平定量盘背面以赶除孔穴内气泡;最后用程控定量封口机封口,放入(44.5 ± 0.5)℃的培养箱中培养 18 h~24 h。

11.6 结果判读

11.6.1 判读说明

将水样培养 18 h~24 h 后进行结果判读,如果结果为可疑阳性,可延长培养时间到 28 h 进行结果判读,超过 28 h 之后出现的颜色反应不作为阳性结果。

11.6.2 定性反应

经 18 h~24 h 培养之后如果颜色变成黄色,判断为阳性反应,表示样品中含有耐热大肠菌群。样品颜色未发生变化,判断为阴性反应。定性反应结果以耐热大肠菌群检出或未检出报告。

11.6.3 10 管法

将培养 18 h~24 h 之后的试管取出观察,如果试管内样品变成黄色则表示该试管含有耐热大肠菌群。计算有阳性反应的试管数,按表 2 查出其代表的耐热大肠菌群最可能数(MPN)。结果以 MPN/100 mL 表示。如所有试管未产生黄色,则可报告为耐热大肠菌群未检出。

表 2 10 管法不同阳性结果的最可能数(MPN)及 95%可信范围

阳性试管数	耐热大肠菌群最可能数 MPN/100 mL	95%可信范围	
		下限	上限
0	<1.1	0	3.0
1	1.1	0.03	5.9
2	2.2	0.26	8.1
3	3.6	0.69	10.6
4	5.1	1.3	13.4
5	6.9	2.1	16.8
6	9.2	3.1	21.1
7	12.0	4.3	27.1
8	16.1	5.9	36.8
9	23.0	8.1	59.5
10	>23.0	13.5	

11.6.4 51 孔定量盘法

将培养 18 h~24 h 之后的定量盘取出观察,如果孔穴内的样品变成黄色则表示该孔穴中含有耐热大肠菌群。计算有阳性反应的孔穴数,按附录 D 查出其代表的耐热大肠菌群最可能数(MPN)。结果以 MPN/100 mL 表示。如所有孔穴未产生黄色,则可报告为耐热大肠菌群未检出。

11.6.5 97 孔定量盘法

将培养 18 h~24 h 之后的定量盘取出观察,如果孔穴内的样品变成黄色则表示该孔穴中含有耐热大肠菌群。计算有阳性反应的孔穴数,按附录 E 查出其代表的耐热大肠菌群最可能数(MPN)。结果以 MPN/100 mL 表示。如所有孔穴未产生黄色,则可报告为耐热大肠菌群未检出。

11.7 结果计算

根据查表得到的耐热大肠菌群最可能数(MPN),按式(6)计算出每升水样中的耐热大肠菌群数。

$$a = b \times n \times 10 \quad \dots\dots\dots (6)$$

式中:

a ——耐热大肠菌群数,单位为 MPN/L;

b ——耐热大肠菌群最可能数,单位为 MPN/100 mL;

n ——稀释倍数。

11.8 质量保证和质量控制

11.8.1 每批样品应同时做至少一个培养基的空白测试。

11.8.2 实验室应对每批培养基(除用标准菌株)进行测试验收,适用时,应采用人工污染的实际样品进行检测。

11.8.3 校准/检定设备的修正因子/误差应得到及时更新和正确使用。

11.9 废弃物处理

所有污染和已使用的培养基应在 121 °C 高压灭菌 20 min 后弃置,且应符合相关的法律法规。

12 五日生化需氧量的测定 稀释与接种法

12.1 方法和原理

12.1.1 方法:采用稀释与接种法测定城镇污水中的五日生化需氧量,测定浓度下限为 2 mg/L。当样品 BOD₅ 浓度大于 6000 mg/L 时,应对测定结果进行说明。

12.1.2 原理:取原样品或经适当稀释的样品进行测定,选择适当的倍数稀释,使培养瓶中有足够的溶解氧以满足五日生化的需氧要求。将上述样品分成两份,一份测定当天的溶解氧含量,将另一份放入 20 °C 培养箱内,培养 5 d 后再测其溶解氧含量,两者之差即为五日生化需氧量。如经稀释培养则应乘以稀释倍数。

注:水中某些有毒物质对测定有干扰,如杀菌剂、重金属、游离氯等会抑制生化作用,藻类或硝化微生物可能使结果偏高。

12.2 试剂和材料

除非另有说明,分析时均应使用符合国家现行标准的分析纯试剂、去离子水或同等纯度的水(水中含铜量不应高于 0.01 mg/L)。所用试剂对被测元素浓度的影响应小至忽略不计。本方法所需试剂和材料如下:

a) 接种水:如样品本身合适的微生物不足,应采用下述方法之一获得种子:

方法一:将生活污水保持 20 °C 放置 24 h~36 h,取用上层清液;

方法二:生活污水生化处理后未经消毒的出水;

方法三:当分析样品为工业废水时,应取排放口下游的水作种液或经实验室培养驯化后的种液,其驯化方法是采用适量的生活污水,开始加入少量的待测废水,连续曝气培养逐渐增加待测废水投加量,直至驯化液中含有可分解废水中有机物的微生物种群为止。驯化周期宜为 10 d 左右。

b) 盐溶液:下述溶液应贮存在玻璃瓶内,置于暗处,至少可稳定一个月。一旦发现有生物滋长现象,应弃去不用:

磷酸盐缓冲溶液:pH 值为 7.2。将 8.5 g 磷酸二氢钾、21.75 g 磷酸氢二钾、33.4 g 磷酸氢二钠和 1.7 g 氯化铵溶于 500 mL 水中,稀释至 1000 mL,混匀。此缓冲溶液的 pH 值为 7.2。

硫酸镁溶液: $\rho(\text{MgSO}_4)=22.5 \text{ g/L}$ 。将 22.5 g 硫酸镁溶于水中,稀释至 1000 mL,混匀。

氯化钙溶液: $\rho(\text{CaCl}_2)=27.5 \text{ g/L}$ 。将 27.5 g 氯化钙溶于水中,稀释至 1000 mL,混匀。

三氯化铁溶液: $\rho(\text{FeCl}_3)=0.25 \text{ g/L}$ 。将 0.25 g 三氯化铁溶于水中,稀释至 1000 mL,混匀。

c) 稀释水:将水于 20 °C 恒温下,曝气 1 h 以上,静置 24 h 或自然充氧 3 d~4 d,溶解氧浓度不应低于 8 mg/L。每 1000 mL 水中加入盐溶液[12.2 b) 1)~4)]各 1 mL,作为微生物的营养剂,此溶液即为稀释水,其五日生化需氧量不应大于 0.2 mg/L,每次使用前应新鲜配制。