

# 中华人民共和国城镇建设行业标准

## 生活垃圾渗沥水 细菌总数的检测 平板菌落计数法

Leachate—Detecton of total  
bacterial number—plate count  
for bacterial colonies

CJ/T 3018.14—93

### 1 主题内容与适用范围

本标准规定了用平板菌落计数法测定渗沥水的细菌总数。

本标准适用于从生活垃圾中渗出来的液体。

### 2 引用标准

GB 5750 生活饮用水标准检验法 细菌总数

GB 4789.2 食品卫生微生物学检验 菌数总数测定

### 3 术语

细菌总数是指1mL渗沥水试样在一定条件下培养后所生长的细菌菌落的总数。

### 4 原理

每种细菌都有其一定的生理特性，应用不同的营养物质及其它生理条件（如温度、培养时间、pH、需氧性质等）去满足它，才能分别地将各种细菌培养出来。在实际工作中，一般都只用一种方法（即在营养琼脂培养基中，于37℃经24h培养）进行细菌总数的测定，因此，所得结果只包括一群能在营养琼脂上发育的嗜中温性需氧及兼性厌氧的细菌菌落总数。

### 5 培养基和试剂

本标准所用试剂，除另有说明外，均为符合国家标准或行业标准的化学纯试剂和生化试剂，均为蒸馏水或去离子水。

5.1 无水乙醇（C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH）。

5.2 氢氧化钠（NaOH），15%（m/m）溶液

中华人民共和国建设部 1993-05-03 批准

1993-09-01 实施

将15g氢氧化钠(NaOH),溶于100mL水中。

### 5.3 营养琼脂

5.3.1 成份:	蛋白胨	10g
	牛肉膏	3g
	氯化钠	5g
	琼脂	10~20g
	蒸馏水	1000mL

#### 5.3.2 制法

将上述成份混合后,加热溶解,滴加氢氧化钠溶液(5.2)调整pH为7.4~7.6,用漏斗分装约15mL干玻璃试管(6.8),在121℃高压灭菌20min。冷却后贮存在冷暗干燥处备用。

### 5.4 生理盐水

将8.50~9.50g氯化钠(NaCl)溶于水中,稀释成1000mL,摇匀。pH值应为4.5~7.0。

## 6 仪器、设备

- 6.1 高压蒸汽灭菌器。
- 6.2 干燥箱:最高工作温度300℃。
- 6.3 恒温培养箱:  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 。
- 6.4 冰箱。
- 6.5 恒温水浴:  $46 \pm 1^\circ\text{C}$ 。
- 6.6 放大镜。
- 6.7 稀释瓶:125mL小口玻璃方瓶。
- 6.8 玻璃试管:18×180mm,平口。
- 6.9 平皿:直径90mm。
- 6.10 刻度吸管:1mL,10mL,分度至0.1mL。
- 6.11 酒精灯。

## 7 样品

供细菌总数检测的渗沥水实验室样品量约需100mL,用经灭菌处理过的玻璃瓶采集。采样后应尽快检测,在2h内不能处理时,应置于温度为2~5℃处,最长保存时间为6h。

## 8 步骤

### 8.1 准备工作

- 8.1.1 工作室及操作台经清扫后,用紫外线灭菌10min。
- 8.1.2 玻璃器皿置于干燥箱中于160℃灭菌2h。
- 8.1.3 将装有90mL生理盐水的稀释瓶和9mL生理盐水的试管,前者瓶口橡皮塞衬上滤纸

条,后者管口塞上棉花球,置高压蒸汽灭菌器(6.1)内,于121℃灭菌 20min,冷却待用。

8.1.4 将营养琼脂培养基(5.3.2)置于沸水锅内,融化后随即转入 $46\pm 1^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴,保温待用。

## 8.2 试样稀释

8.2.1 以无菌操作,吸取经充分混匀的试样10mL于盛有90mL灭菌生理盐水的稀释瓶(8.1.3)中,充分混匀后就成了1:10的稀释液。

8.2.2 吸取1:10稀释液1mL,沿管壁徐徐注入盛有9mL灭菌生理盐水的试管(8.1.3)中,混匀而成1:100的稀释液。

8.2.3 按上述操作进行10倍递增稀释,每递增稀释1次,随即换用1支1mL灭菌刻度吸管。

## 8.3 倾注平皿

8.3.1 根据试样污染程度大小,选择合适的三个连续释度试样进行倾注平皿。在分别作10倍递增稀释的同时,随即用该稀释度的吸管移取1mL稀释液于灭菌平皿内,每个稀释度的试样液用2个平皿。

8.3.2 将保温在 $46^{\circ}\text{C}$ 水浴锅内的营养琼脂培养基倾注于平皿内,并立即转动或倾斜平皿,使稀释液与培养基充分混合。

同时,将营养琼脂培养基倾入加有1mL空白灭菌生理盐水的另外2个灭菌平皿作空白对照。

## 8.4 平板培养

待琼脂凝固后,翻转平板,使底面向上,置于 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱内培养 $24\pm 2\text{h}$ 。

## 8.5 菌落计数

8.5.1 培养后,应立即计数每个平板上的菌落数。如果遇上不能立即计数,应将平皿存放于 $5\sim 10^{\circ}\text{C}$ ,但不得超过24h。

8.5.2 作平板菌落计数时,用肉眼观察计数,必要时用放大镜检查,以防遗漏。按30~300个菌落计数规则计算平板的菌落数。

## 8.6 菌落计数规则

8.6.1 首先选择平均菌落数在30~300之间的稀释度,乘以稀释倍数报告之(见表1中例1)。

8.6.2 若有2个稀释度,其平均菌落数均在30~300之间,则视两者之比来决定。若其比值小于2,应报告其平均数;若大于2,则报告其中较小的菌落总数(见表1中例2或例3)。

8.6.3 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之(见表1中例4)。

8.6.4 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之(见表1中例5)。

8.6.5 若所有稀释度的平均菌落数均不在30~300之间,其中一部分大于300或小于30时,则以最接近30或300的平均菌落数乘以稀释倍数报告之(见表1中例6)。

### 8.6.6 蔓延生长菌落

在求一个稀释度的平均菌落数时，若其中一个平板有较大片状蔓延菌落生长时，则不宜采用，而应以无片状菌落生长的平板作为该稀释度的菌落数；若片状菌落不到平板的一半，而其余一半中菌落分布又很均匀，则可计数半个平板后乘2以代表全皿菌落数，然后再求该稀释度的平均菌落数。

## 9 报告方式

根据菌落计数，凡菌落数在100以内时，按其实际计数表示，大于100时，取二位有效数字，也可用10的指数形式表示，并以每毫升样品中平板菌落个数报告。

## 10 本标准未作规定的按GB 5750和GB 4789.2执行。

表 1 稀释度选择及平板菌落数报告方式

例次	不同稀释度的平均菌落数			两个稀释度的菌落数之比	菌落总数个/mL	报告方式个/mL
	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>			
1	多到无法计数	164	20	—	16400	16000 或 $1.6 \times 10^4$
2	多到无法计数	295	46	1.6	37750	38000 或 $3.8 \times 10^4$
3	多到无法计数	271	60	2.2	27100	27000 或 $2.7 \times 10^4$
4	多到无法计数	650	313	—	313000	310000 或 $3.1 \times 10^5$
5	27	11	5	—	270	270 或 $2.7 \times 10^2$
6	多到无法计数	306	12	—	30600	31000 或 $3.1 \times 10^4$

### 附加说明：

本标准由建设部标准定额研究所提出。

本标准由建设部城镇环境卫生技术标准归口单位上海市环境卫生管理局归口。

本标准由上海市环境卫生设计科研所负责起草。

本标准主要起草人庄启化、章莉娜。

本标准委托上海市环境卫生设计科研所负责解释。