

# 中华人民共和国城镇建设行业标准

**CJ/T 244—2016** 代替 CJ 244—2007

# 游泳池水质标准

Water quality standards for swimming pool

2016-06-14 发布 2016-12-01 实施

# ▲ 版权声明

中国标准在线服务网(www.spc.org.cn)是中国标准出版社委托北京标科网络技术有限公司负责运营销售正版标准资源的网络服务平台,本网站所有标准资源均已获得国内外相关版权方的合法授权。未经授权,严禁任何单位、组织及个人对标准文本进行复制、发行、销售、传播和翻译出版等违法行为。版权所有,违者必究!

中国标准在线服务网 http://www.spc.org.cn

标准号: CJ/T 244-2016 购买者: 光泽疾控中心 订单号: 0100190627043566

防伪号: 2019-0627-0317-3744-0204

时 间: 2019-06-27

定 价: 28元

中华人民共和国城镇建设 行 业 标 准 游泳池水质标准

CJ/T 244—2016

中国标准出版社出版发行 北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029) 北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址:www.spc.org.cn服务热线:400-168-00102016 年 8 月第一版

书号: 155066 • 2-30498

版权专有 侵权必究

# 前言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准是对  $CJ_{244}-2007$ 《游泳池水质标准》的修订,与  $CJ_{244}-2007$  相比,主要技术变化如下:

- ——扩大了使用范围,增加适用于文艺演出池;
- ——增加了水质常规检验、非常规检验等6个术语和定义;
- ——增加了异养菌等8项非常规检验项目及限值和检验方法;
- ——修改了浑浊度、pH 值、菌落总数、总大肠菌群等项目的限值;
- 一一增加了按池水使用消毒剂品种的常规检验项目及限值和检验方法;
- ——增加了三氯化氮的测定方法(见附录 A);
- ——增加了异养菌的检验方法(附录 B);
- ——增加了过氧化氢的检验方法(附录 C)。

本标准由住房和城乡建设部标准定额研究所提出。

本标准由住房和城乡建设部建筑给水排水标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:中国建筑设计院有限公司、北京市疾病预防控制中心、北京恒动环境技术有限公司、江苏恒泰泳池设备有限公司、沃迈(上海)机电有限公司、南宁市万消灵消毒药业有限公司、上海蓝宇水处理有限公司、广东戴思乐泳池装备有限公司、广东联盛泳池水疗设备有限公司、浙江金泰泳池环保设备有限公司、陕西富锐泳池环境科技有限公司、运水高(广州)环保设备有限公司、天津太平洋机电技术及设备有限公司、普罗名特贸易(大连)有限公司、北京工业大学、北京建筑大学。

本标准主要起草人:赵锂、赵昕、傅文华、钱江锋、李建业、杨世兴、钱城、张永、陈雷、陈征宇、范姝兴、余康、袁树东、喻笑迎、施建鹏、王李根、李德斌、叶俊松、朱建巍、张宝山、吴珊、吴俊奇。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:





# 游泳池水质标准

#### 1 范围

本标准规定了游泳池的水质标准和试验方法。

本标准适用于室内、室外人工游泳池的池水水质。文艺演出池的水质可参照执行。

本标准不适用于海水、温泉水游泳池、天然水域游泳场和婴幼儿游泳池的池水水质

#### 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。

- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB/T 5750.4 生活饮用水标准检验方法 感官性状和物理指标
- GB/T 5750.10 生活饮用水标准检验方法 消毒副产物指标
- GB/T 5750.11 生活饮用水标准检验方法 消毒剂指标
- GB/T 5750.12 生活饮用水标准检验方法 微生物指标
- GB/T 18204.1 公共场所卫生检验方法 第1部分:物理因素
- GB/T 18204.2 公共场所卫生检验方法 第2部分:化学污染物
- TY/T 1003 游泳、跳水、水球和花样游泳场馆使用要求和检验方法
- WS 394 公共场所集中空调通风系统卫生规范

#### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

# 游泳池 swimming pools

人工建造的供人们在水中进行各种游泳或活动的水池,以及供人们在水上或水中进行娱乐、休闲健身的不同形状的水池。它是竞赛游泳池、商业游泳池、公共游泳池、专用游泳池、私人游泳池及休闲游乐池的总称。

3.2

#### 氰脲酸 cyanuric acid

一种可以减少由于太阳光紫外线导致水中氯损失的化学药剂,起稳定剂的作用。分子式  $H_3C_3N_3O_3$ 。

3.3

# 浑浊度 turbidity

反映悬浮在水中的微小粒子和固体总量的参数,采用测量这些悬浮微粒对光的散射和吸收来计量。

3.4

#### 游离性余氯 free chlorine residual

水中以次氯酸和次氯酸盐形态存在的余氯。

3.5

#### 化合性余氯 combined chlorine residual

水中所含全部余氯中,与氨、氮、有机物化合的部分;大多数为氯胺。

3.6

#### 氧化还原电位 oxidation-reduction potential, ORP

反映水中化学物质的氧化还原电势强弱的参数,氧化还原电位的高低取决于水中氧化态物质和还原态物质的类型和浓度。其单位为 mV。

3.7

# 异养菌 heterotrophic bacteria

需要利用有机物质碳作为营养和能源的细菌。异养菌又可以分为两类:

- a) 腐生菌 saprophytes 能从无生命的有机物质中摄取营养的异养菌。
- b) 寄生菌 parasites 寄生于活的动植物体内,从宿主体内的有机物质中获得营养和能量的异养菌。

3.8

# 常规检验指标 regular indices

能反映游泳池水质基本状况的水质指标。

3.9

# 非常规检验指标 non-regular indices

根据地区、时间或特殊情况需要实施的游泳池水质指标。

# 4 水质标准

#### 4.1 游泳池原水水质要求

- 4.1.1 选用城市自来水为游泳池原水时,应符合 GB 5749 的要求。
- 4.1.2 当游泳池原水水质不符合要求时,应进行处理,并达到 GB 5749 的要求。

#### 4.2 游泳池水质标准

- 4.2.1 游泳池池水的感官性状应良好。
- 4.2.2 游泳池水中不应含有病原微生物。
- 4.2.3 游泳池水中所含化学物质不应危害人体健康。
- 4.2.4 常规检验项目及限值见表 1。

# 表 1 游泳池池水水质常规检验项目及限值

序号	项 目	限 值
1	浑浊度(散射浊度计单位)/NTU	€0.5
2	рН	7.2~7.8
3	尿素/(mg/L)	€3.5
4	菌落总数/(CFU/mL)	≤100
5	总大肠菌群/(MPN/100 mL 或 CFU/100 mL)	不应检出
6	水温/℃	20~30

表 1 (续)

序号	项目	限值			
7	游离性余氯/(mg/L)	0.3~1.0			
8	化合性余氯/(mg/L)	< 0.4			
9	氰脲酸 $C_3H_3N_3O_3$ (使用含氰脲酸的氯化合物消毒时)/(mg/L)	<30(室内池) <100(室外池和紫外消毒)			
10	臭氧(采用臭氧消毒时)/(mg/m³)	<0.2(水面上 20 cm 空气中) <0.05 mg/L(池水中)			
1.1	过氧化氢/(mg/L)	60~100			
12	氧化还原电位/mV	≥700(采用氯和臭氧消毒时)			
12		200~300(采用过氧化氢消毒时)			
ì	注: 第7~12项为根据所使用的消毒剂确定的检测项目及限值。				

4.2.5 游泳池池水水质非常规检验项目及限值见表 2。

#### 表 2 游泳池池水水质非常规检验项目及限值

序号	项 目	限值
1	三氯甲烷/(µg/L)	≤100
2	贾第鞭毛虫/(个/10 L)	不应检出
3	隐孢子虫/(个/10 L)	不应检出
4	三氯化氮(加氯消毒时测定)/(mg/m³)	<0.5(水面上 30 cm 空气中)
5	异养菌/( CFU/mL)	≤200
6	嗜肺军团菌/(CFU/200 mL)	不应检出
7	总碱度(以 CaCO <sub>3</sub> 计)/(mg/L)	60~180
8	钙硬度(以 CaCO <sub>3</sub> 计)/(mg/L)	<450
9	溶解性总固体/(mg/L)	与原水相比,增量不太于1000

#### 5 试验方法

- 5.1 游泳池经营部门应配备有游泳池水质监测工具,现场检测应符合 TY/T 1003。
- 5.2 池水浑浊度、pH 值和溶解性总固体的检测方法,应按 GB/T 5750.4 的规定执行。
- 5.3 池水中菌落总数、总大肠菌群、贾第鞭毛虫、隐孢子虫的检测方法,应按 GB/T 5750.12 的规定执行。
- 5.4 池水中游离性余氯和臭氧的检测方法,应按 GB/T 5750.11 的规定执行。
- 5.5 池水中三氯甲烷的检测方法,应按 GB/T 5750.10 的规定执行。
- 5.6 空气中臭氧和池水中尿素的检测方法,应按 GB/T 18204.2 的规定执行。
- 5.7 池水中温度的检测方法,应按 GB/T 18204.1 的规定执行。
- 5.8 池水中嗜肺军团菌的检测方法,应按 WS 394 的规定。

- 5.9 池水中三氯化氮的检测方法可参见附录 A 的规定。
- 5.10 池水中异养菌的检测方法可参见附录 B 的规定执行。
- 5.11 池水中过氧化氢的检测方法应按附录 C 的规定执行。
- 5.12 池水中氰尿酸的检测方法,应按附录 D 的规定执行。



# 附 录 **A** (资料性附录)

# 氯消毒室内游泳池空气中三氯化氮的现场测定方法

#### A.1 原理

 $NCl_3$  在 KI 的催化作用下遇 DPD(N,N-二乙基对苯二胺)显粉红色,粉红色颜色深浅与吸取的氯消毒的室内游泳池空气中  $NCl_3$  的质量浓度成正比。

#### A.2 测试装置组成

A.2.1 气体收集装置主要由活芯气体采样器、缓冲瓶、真空泵等组成,见图 A.1。

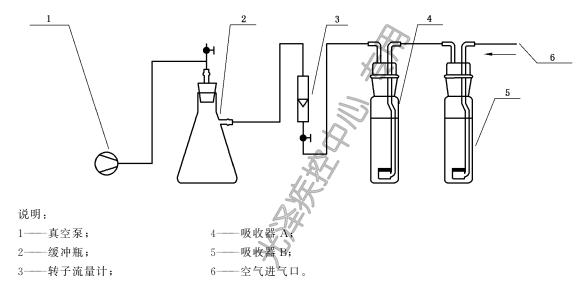


图 A.1 室内游泳池空气中 NCI<sub>3</sub> 现场检测方法装置图

- A.2.2 活芯气体采样器 包括吸收器 A 和吸收器 B。
- A.2.3 抽真空部分 包括真空泵、缓冲瓶、转子流量计和连接管。

# A.3 仪器

- A.3.1 便携式光度计或分光光度计。
- A.3.2 配套比色管。

#### A.4 试剂

A.4.1 DPD1 试剂片,主要成分为 N,N-二乙基对苯二胺。

**A.4.2** DPD3 试剂片,主要成分为 KI。

#### A.5 步骤

- A.5.1 用碱性肥皂清洗玻璃器皿,再用去离子水进行润洗,置温度为 180 ℃烘箱内干燥。
- **A.5.2** 向吸收器 A 和吸收器 B 分别加入 15 mL 纯水,将两组 DPD 试剂片(每组包括 DPD1 和 DPD3 两种试剂片)分别放入吸收器 A 和吸收器 B 中,并用玻璃棒轻轻振捣至完全溶解。
- A.5.3 选取氯消毒的室内游泳馆,在该游泳馆一天人流量最大时段将 NCl<sub>3</sub> 现场检测装置的进气口置于池边水面以上 30 cm 处。如有条件也可以将进气口置于池中水面以上 30 cm 处。
- **A.5.4** 开启真空泵,将抽气流量控制为 1 L/min,抽气时间为 100 min,总抽气量 100 L。
- **A.5.5** 将吸收器 A 内的吸收液倒入 25 mL 容量瓶中,用少量纯水冲洗活芯气体采样器内壁,将残液倒入容量瓶,并定容至 25 mL。容量瓶内待测液体称为溶液 A。对吸收器 B 内的吸收液操作同吸收器 A,容量瓶内待测液体称为溶液 B。
- **A.5.6** 在严格控制抽气量且 NCl<sub>3</sub> 浓度在限定标准以下时,吸收瓶 B 的吸收液能完全吸收 NCl<sub>3</sub>,溶液 A 仅作空白参照。用配套的便携式分光光度计分别对溶液 B 和溶液 A 进行测定,结果分别为 b 值和 a 值。则化合氯值按式(A.1)计算。

 $c = b - a \tag{A.1}$ 

式中:

- c ——化合氯值,单位为毫克每升(mg/L);
- b 吸收液 B 化合氯值,单位为毫克每升(mg/L);
- a 吸收液 A 化合氯值,单位为毫克每升(mg/L)。

# A.6 计算

三氯化氮按式(A.2)计算:

式中:

- 3.4 ——NCl<sub>3</sub> 的分子量(120.5)与 Cl 的原子量(35.5)之比值;
- 25 ——活芯气体采样器中吸收液的定容体积,单位为毫升(mL);

10-3----换算系数;

V ──总抽气量(100 L);

c ——化合氯值,单位为毫克每升(mg/L)。

#### A.7 重复性和最低检测限

重复性为 1.7%,最低检测限为  $3.6 \mu g/m^3$ 。

#### A.8 注意事项

- A.8.1 抽气取样期间转子流量计的浮子应保持稳定。
- **A.8.2** 在氯消毒的室内游泳池中, $NH_2Cl_NHCl_2_CH_3NCl_2$  和  $O_2$  会对实验结果造成干扰,这些化合物所产生的干扰一般不大于 15%。

# 附 录 B (资料性附录)游泳池中异养菌平板计数法

#### B.1 综述

#### B.1.1 应用说明

异养菌平板计数法,即标准平板计数法,是一种测量水中活的异养细菌数目的方法。该方法被应用于游泳池水的处理以及输配过程中微生物量的检测。成对、成链、丛生的,甚至是单个细胞,均被认定是一个菌落,这些都被计算在菌落数中。菌落数也受其成长过程中的相互影响。为了进行数据比较,应采用同样的培养步骤和培养基。

## B.1.2 筛选方法

筛选方法如下:

- a) 倾倒平板法:它针对体积在 0.1 mL~2.0 mL 的水样或稀释水样。该方法形成的菌落较小而紧实,与表面生长的菌落相比,它们之间更不容易产生干扰。另一方面,培养基中的菌落通常生长缓慢并且难以转移。恒温水浴对培养基控温至关重要。
- b) 涂布平板法:涂布平板法不会形成热冲击,并且形成的菌落易于区分。该方法形成的菌落转移方便,菌落形态学特征清晰,易于分辨和对比。这种方法要求被测水样或稀释水样体积小,仅为 0.1 mL~0.5 mL,具体的体积取决于预倾倒平板的干燥程度。采用此方法,需要维持适当的预干燥及具有吸收能力的培养基。
- c) 膜过滤法:膜过滤法适用于大样品量低浊度水样的检测,以及细菌含量较低(<1 CFU/mL~10 CFU/mL)的水样。该法不需要加热,但增加了膜片的成本支出。该法的缺点是,显示区域较小,需要反射光进行菌落计数,过滤压力容易对细胞造成损伤,膜片质量存在的差异等。
- d) 酶底物法:酶底物法通常用于样品的细菌浓度范围很大的情况。该法采用的培养基主要是微生物酶水解形成的底物,该培养基在35℃培养48h后达到甲基伞形酮释放峰值。甲基伞形酮在紫外线照射下呈现荧光特性。荧光亮度高的位置,其相应细菌浓度也较高。该法不能直接提取菌落。

#### B.1.3 环境要求

在一个干净、通风、光线良好的房间或者水平方向通风的罩内,准备一个有足够空间的水平桌子或平面长椅。分析之前,应保证使用的桌子或者椅子表面无孔隙,并做灭菌处理。

#### B.1.4 水样

水样采集后尽快进行分析,以减小细菌数量的变化。水样采集与分析之间的最大间隔时间为8h(水样转移的时间6h,检测时间2h)。如果取样8h内无法进行检测,需将水样置于在4  $\mathbb{C}$  冷藏,采样和分析时间间隔不应超过24h。

#### B.1.5 水样预处理

检测前,需标注水样编号、稀释倍数、日期和其他必要信息。每个水样需要再准备两个平行样。倒

平板或者灌板时,应采用无菌玻璃片(65 cm²)或者一次性无菌塑料培养基(57 cm²)。采用快速的上下(或前后)颠倒 25 次的方法将所有的水样或稀释水样进行充分混匀。用振荡器对每个水样震荡 15 s。

#### B.1.6 培养基

培养基方法如下:

- a) 平板计数培养基:用于倾倒平板和平板涂布法,该培养基营养丰富,但菌落计数低于 R2A 或 NWRI 培养基。培养基配方:蛋白胨 5.0 g;酵母膏 2.5 g;葡萄糖 1.0 g; 琼脂 15.0 g;水 1 L。 121 ℃ 条件下灭菌 15 min 后,将 pH 调节至 7.0±0.2。
- b) m-HPC培养基:该高营养培养基仅适用于膜过滤法(配方:蛋白胨 20.0 g;明胶 25.0 g;甘油 10.0 mL;琼脂 15.0 g;水 1 L),采用 1 mol/L 氢氧化钠将配置的培养基 pH 调节至 7.2。缓慢加热溶解,加入甘油并在 121 ℃条件下灭菌 15 min。商品培养基则不需要消毒和 pH 调节;最终应将 pH 调整到 7.1±0.2。
- c) R2A 培养基:用于倾倒平板、涂布平板、膜过滤法 3 种检测方法。该低营养含量培养基比高营养培养基的产生的菌落数更高。(配方:酵母膏 0.5~g; No.3 蛋白胨或多聚蛋白胨 0.5~g; 酪蛋白氨基酸 0.5~g; 葡萄糖 0.5~g; 可溶性淀粉 0.5~g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.3~g; MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O 0.05~g; 丙酸钠 0.3~g; 琼脂 15~g; 超纯水 1~L)。R2A 培养基的配置方法是:加入琼脂前,采用 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>或 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>将除琼脂以外的成分溶液调节 pH 至 7.2,然后加热溶解琼脂,在 121~C条件下灭菌 15~min。
- d) NWRI 培养基(HPCA):用于倾倒平板、涂布平板、膜过滤法三种检测方法。该低营养培养基的菌落数量相较高营养培养基高。(配方:蛋白胨 3 g;酪蛋白 0.5 g;K₂HPO₄ 0.2 g;MgSO₄ 0.05 g;FeCl₃ 0.001 g;琼脂 15 g;超纯水 1 L)。在 121 ℃条件下灭菌 15 min,最后调节 pH 至 7.2±0.2。

#### B.1.7 培养

依据 EPA 标准,倾倒平板应在 35 ℃下培养 48 h。否则,应该选择建议的培养时间和温度去检测水质的变化。通常情况下,在 20 ℃~28 ℃条件下,培养 5 d~7 d 能够得到最大菌落数。在培养过程中,需要保持培养器中的湿度,以减少培养基的水分散发。对于长期培养,该步骤至关重要。可以将热水置于培养器底部,用于保持培养器温度。考虑到防止培养器锈蚀时,可以用塑料膜对培养皿进行密封来达到保温效果。

#### B.1.8 计数和记录

#### B.1.8.1 倾倒、涂布平板法:

- a) 培养结束后立即对培养皿中菌落数量进行统计。否则,应将培养皿置于 5 ℃~10 ℃环境下保存,但保存时间应不超过 24 h,同时,应尽量避免此类操作。做好每个样品的灭菌控制记录。
- b) 菌落计数时,应用菌落计数器手动计数。也可使用自动计数设备,但应对自动计数器进行校正,以保证数据的准确性。
- c) 培养皿制备时,调整水样体积,以保证培养后的菌落数处于 30~300。
- d) 通常移至培养基中的水样不超过 2.0 mL。如果 2.0 mL 水样形成的菌落数低于 30 个,则可以 视情况增加水样移取量。单位体积的菌落数按照式(B.1)计算:

$$n = \frac{N}{V} \qquad \qquad \dots$$
 (B.1)

式中:

n ——单位体积的菌落数,单位为菌落数每毫升(CFU/mL);

- N-----菌落数量,单位为菌落数(CFU);
- V——接种水样体积,单位为毫升(mL)。
- **注 1**: 如果不同稀释倍数培养基菌落数不在 30 个~300 个范围内,或一个或多个培养皿的菌落数大于 300 个,则以最接近 300 个的培养皿计数。最终以 CFU/mL 为单位撰写报告。
- **注 2**: 如果所有稀释倍数均无菌落产生,应按"<1/试样体积"记录。例如,如果 0.01~mL 体积水样中无菌落形成,应按<100~CFU/mL 计。
- **注 3**: 如果培养皿的菌落形成数量均超过 300 个,且密度超过 10 个/cm²,对 13 个计数格内的菌落数量进行统计。 选取 7 个垂直相连计数格及 6 个水平的计数格进行统计。按下法进行估计:对于 65 cm² 的玻璃培养皿,菌落 数量=13 个单位计数格菌落数量×5,对于 57 cm² 的玻璃培养皿,菌落数量=19 个单位计数格菌落数量×3, 如果培养皿菌落计数数量均大于 100/cm²,报告结果按">最小稀释倍数培养基菌落数量/最小稀释倍数接种 的试样体积×稀释倍数"表示。
- **注 4**: 如果菌落在培养皿上发生了杂菌污染,则仅对清晰分辨的部分进行计数。发生污染的区域不应超过整个培养 皿面积的一半,否则为无效数据。
- e) 对于杂菌数量,按照下列形式进行计数:由菌落分解形成的链状菌落;在琼脂和培养皿底部之间呈胶片状生长的菌落;在边界或琼脂表面形成的菌落。后两种菌落主要是由于菌落形成大量湿气积累所致。
- f) 当菌落之间的距离与最小菌落直径大致相等时,视其为独立菌落。相互重叠的在形态上完全不同的菌落,也视为独立菌落。
- g) 如果培养皿的杂菌污染过于严重,应标注"杂菌污染"。如果由于稀释倍数错误或其他原因,应标注"实验事故(LA)"。

#### B.1.8.2 膜过滤法:

- a) 对膜上的菌落用立体显微镜在 10~15 倍放大倍数下计数。最好将培养皿在显微镜台上 45°倾斜放置,并调整光源垂直菌落照射。每个滤膜的菌落密度宜在 20~200。如果菌落较小,且没有重叠,则待检的菌落密度限值可以相应提高。
- b) 如果单位面积的菌落数量≪2,对膜上所有的菌落进行计数。当单位面积的菌落数量为3个~10个时,对10个单位面积的菌落数量进行计数并取其均值。当单位面积的菌落数量在10个~20个时,对5个单位面积的菌落数量进行计数后取均值。用单位面积上的菌落数乘100后除以样品体积即可算出每100 mL 水样中可形成的菌落数量。对于单位面积菌落数量大于20的情况,应按">2000/水样体积"记录。用平均菌落数量统计菌落形成单位。并且只对独立、分散的菌落进行计数。
- B.1.8.3 酶底物法:见 B.5.6

#### B.1.9 统计、计数报告

统计、计数报告如下

- a) 菌落数量统计均应按菌落形成单位(CFU)记。此外,报告还需要记录方法、培养温度、时间以及培养基类型。例如:CFU/mL,平板计数法,35 ℃/48 h,平板计数琼脂。
- b) 异养菌倾倒平板法、涂布平板法、膜过滤法的细菌浓度以单位体积水样形成菌落表示(CFU/mL)。 酶底物法,应从 MPN 表选择 MPN 数值,并对不同稀释倍数做出调整。记录水样体积、每个培养皿的菌落数量。如果将平皿得到的结果在记录之前进行平均计算,在换算成菌落数时应保留两位有效数字。
- c) 对数据进行四舍五入,如将 142 记录为 140,将 155 记录为 160,但是仍然将 35 记录为 35。

#### B.1.10 分析偏差

应尽量避免操作误差及光源的损坏或污染造成的计数偏差。如果对于同一个培养皿两次计数结果

差别大于5%或两个工作人员对同一个培养皿两次计数结果差别大于10%,应重新读数。

#### B.2 倾倒平板法

#### B.2.1 取样和预处理

见 B.1.4、B.1.5。

#### B.2.2 样品稀释

样品稀释方法如下:

- a) 稀释倍数的选择:根据经验,选择的稀释倍数,应使培养基的菌落数在 30~300。
- b) 样品测试:在提取待测样品时需用无菌移液管,且不同稀释浓度之间用不同的移液管,不可混用。不要在阳光直射下做稀释准备以及倾倒平板操作。将移液管移出容器时,应小心避免污染。注意吸取试液的时候插入水样深度不要超过2 cm~3 cm。
- c) 稀释样品测试: 当排出移液管液体的时候,应保持移液管处于 45°倾斜状态,同时管头应轻轻接触培养皿底部或稀释器皿的瓶口处,培养皿接种时应将培养皿盖打开至刚好能将移液管插入的状态。待液完全流出后,将移液管管头轻触培养皿底部干燥处,使残液顺利流出。当需要接种试样容量小于 0.1 mL 时,应采取倍数稀释(如高浊度水或污水)。对每一个稀释倍数或试样体积,都应做一组平行对照。对加入试样的培养皿,小心加入培养基并小心混匀。从开始移液至倾倒平板应保证在 20 min 内完成。

#### B.2.3 接种

接种方法如下:

- a) 融化培养基:在密闭环境下,用沸水或蒸汽融化培养基,避免长期处于高温环境下。不要二次 灭菌培养基。不使用含有沉淀的培养基。在使用前需将培养基置于 44 ℃~46 ℃水浴中,且 最好不要超过 3 h。在一个独立的容器内放置一支温度计监测温度,而不要仅凭触觉判断。
- b) 倾倒平板:为确保从稀释到最后一个样倾倒完成整个接种过程不超过 20 min(最好不超过 10 min),应控制每一次接种的试样数量。每个接种过的培养皿,倒入水浴保存的培养基 10 mL~12 mL(同样保证培养皿开口刚好够倾倒培养基)。小心避免培养基洒出。此外,在倾倒培养基的时候应先用纸巾吸干水分。确保培养皿壁面清洁,无残留污染物。将培养皿放置于水平面上凝固。凝固后,将培养皿倒置于培养箱中培养。
- c) 空白对照;培养过程中,检查空白对照组是否生成菌落,以推测样品是否发生杂菌感染。

# B.2.4 培养

见 B.1.7。

#### B.2.5 计数、记录、分析、报告

见 B.1.8、B.1.9。

#### B.3 涂布平板法

# B.3.1 样品及预处理

见 B.1.4、B.1.5。

#### B.3.2 试验材料

试验材料如下:

- a) 直径 4 mm,长 200 mm,从一端 40 mm 处开始弯曲 45°的玻璃棒;使用前应经灭菌处理。
- b) 移液管:1.0 mL 玻璃或塑料移液管。
- c) 42 ℃培养皿或干燥箱,或无菌台。

#### B.3.3 培养基

使用 R2A 培养基时,在 28 ℃环境下培养 5 d~7 d。如果使用 NWRI 培养基,在 20 ℃环境下培养 7 d。

#### B.3.4 培养皿准备

15 mL 灭菌培养基置于 100 mm×15 mm 或 90 mm×15 mm 的灭菌培养皿中,待琼脂凝固后,将培养皿倒置,进行干燥处理,这样处理后大约会蒸发掉 2 g~3 g 的水分。干燥后的培养皿可以立即使用,也可以在密封塑料袋 4 ℃保存并在 2 周内使用。如需干燥后立即使用,可在排烟柜中室温下(24 ℃~26 ℃)加 25 mL 培养基于培养皿。

#### B.3.5 流程

流程如下:

- a) 样品稀释见 B.2。
- b) 玻璃棒:移液管移取 0.1 mL 或 0.5 mL 试样于预干燥的培养基表面。用灭菌弯曲玻璃棒,通过用手旋转培养基将水样均匀涂布于培养皿上,完成接种。待培养基完全吸收菌液后进行培养。
- c) 移液管。将培养基置于旋转台上旋转,同时用移液管移取适量试样悬于预干燥培养基表面,移液管从中心开始至距培养皿壁 0.5 cm 止,线性往复运动并缓慢滴加试样。待培养基完全吸收菌液后进行培养。

#### B.3.6 培养

见 B.1.7。

# B.3.7 计数、记录、分析、报告

见 B.1.8、B.1.9。

# B.4 膜过滤法

# B.4.1 样品及预处理

见 B.1.4、B.1.5。

#### B.4.2 实验材料

见 B.2.1。

#### B.4.3 培养基

见 B.1.6。可选用 m-HPC、R2A、NWRI 培养基。

#### B.4.4 培养皿准备

移取 5 mL 灭菌培养基于 50 mm×9 mm 培养皿中,室温下凝固,然后倒置于塑料箱等容器中进行冷藏,冷藏时间不超过 2 周。

#### B.4.5 样品容量

不同细菌浓度的水样,采用不同的样品体积,最大样品容量使每张滤膜形成的菌落数为 20~200 个。

## B.4.6 流程

采用直径为 47 mm、孔径为  $0.45~\mu$ m 的滤膜半真空抽滤水样,抽滤完毕后,用 20 mL $\sim$ 30 mL 纯净水冲洗器壁,以保证实验精度。将滤膜放入培养基中。

# B.4.7 培养

将培养皿置于封闭容器中,封闭容器中放入湿润的纸巾。对于 m-HPC 而言,应在  $35 \% \pm 0.5 \%$  境下恒温培养 48 h。R2A、NWRI 培养基则在  $20 \% \sim 28 \%$  环境下培养  $5 \text{ d} \sim 7 \text{ d}$ 。平行样不应同时培养,但应该采用相同的培养温度。

#### B.4.8 计数、记录、分析、报告

见 B.1.8、B.1.9。报告以 CFU/mL 为单位记录菌落数,同时要记录膜过滤的方法,时间以及培养基类型等信息。

# B.5 酶底物法

#### B.5.1 样品及预处理

见 B.1.4 和 B.1.5。

# B.5.2 试验材料

试验材料如下:

- a) 经灭菌的带刻度玻璃或塑料移液管,体积分别为 0.1 mL、1.0 mL 和 10 mL。
- b) 35 ℃±0.5 ℃的恒温培养箱。
- c) 紫外光源,6 W,365 μm。
- d) 培养皿。

# B.5.3 培养基

培养基要求如下:

- a) 可以采用 100 mL 多次使用培养基,或 10 mL 单次使用培养基。培养基储藏温度为 2 ℃~25 ℃,通常来讲这种培养基只有 12 个月的有效期。
- b) 采用 10 mL 培养基进行空白接种,然后在 35 ℃培养 48 h,如果没有菌落形成,则说明培养基没有被杂菌污染,可以使用。

#### B.5.4 样品稀释

使用去离子水、蒸馏水、缓冲蒸馏水或 0.1%蛋白胨。

#### B.5.5 流程

纯水水化培养基至 100 mL 标线,盖盖,摇匀至培养基完全溶解,无菌条件下移取 1.0 mL 试样和 9 mL 水化培养基于培养皿正中(或 0.1 mL 试样和 9.9 mL 水化培养基)。

注:最终试样和培养基的体积应保证在  $10~\text{mL}\pm0.2~\text{mL}$ 。培养皿盖盖,轻轻摇晃均布混合液。将培养基旋转  $90^\circ\sim120^\circ$ ,倾倒出多余培养液,接种后在  $35~^\circ$ C培养  $48~\text{h}(45~\text{h}\sim72~\text{h})$ 。如果估计试样细菌浓度超过 738~CFU/mL,则应通过向 99~mL 无菌培养液中添加 1~mL 样品对试样进行稀释,以保证其细菌浓度低于 738~CFU/mL。

#### B.5.6 计数、记录、分析、报告

培养后,用UV灯在培养皿上方13 cm处对培养皿进行检查,观察是否有荧光出现,出于安全考虑,此过程需佩戴防UV眼镜。用MPN表格计数,并以MPN/mL表示。



# 附 录 C (规范性附录)

# 游泳池中过氧化氢检测方法

过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)含量的测定:

- a) 配制 2 mol/L 硫酸与 100 g/L 硫酸锰等溶液。另外配制并标定 0.02 mol/L 高锰酸钾滴定液。
- b) 精密吸取样品适量,使其相当于过氧化氢约 0.3 g,于 100 mL 容量瓶中用蒸馏水稀释至刻度,混匀。
- c) 取过氧化氢稀释液 10.0 mL,置 100 mL 碘量瓶中,加入 2 mol/L 硫酸 20 mL 与 100 g/L 硫酸 锰 3 滴,摇匀。用 0.02 mol/L 高锰酸钾滴定液(装于 25 mL 滴定管中)滴定至溶液呈粉红色,记录高锰酸钾滴定液用量。重复测 2次,取 2次平均值进行以下计算。
- d) 因 1 mol/L 高锰酸钾滴定液 1 mL 相当于 0.085 05 g 过氧化氢,可按式(C.1)计算过氧化氢含量。

$$X = \frac{c \times V_{pp} \times 0.085 \ 05}{V} \times 1 \ 000$$
 ..... (C.1.2)

式中:

X ——过氧化氢含量,单位为克每升(g/L);

c ——高锰酸钾滴定液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

 $V_{\text{pp}}$ ——为锰酸钾滴定液体积,单位为毫升(mL);

V ——碘量瓶中所含过氧化氢样液体积,单位为毫升(mL)。



#### 附 录 D

#### (规范性附录)

#### 游泳池中氰尿酸检测方法

#### D.1 范围

- D.1.1 本方法适用于测定游泳池池水中残留氰尿酸。
- **D.1.2** 本方法适用于游泳池水中氰尿酸质量浓度为 5 mg/L $\sim$ 50 mg/L 的水样直接测定。浓度超过 50 mg/L 的水样须经稀释后方可测定。

#### D.2 原理

氰尿酸测试采用比浊测定法。粉末试剂(氰尿酸 2 号试剂)与水中氰尿酸反应后,生成颗粒物沉淀,颗粒物形成的浑浊度与氰尿酸浓度成正比,在 480 nm 的波长下测定浑浊度。

#### D.3 试剂与材料

- **D.3.1** 粉末试剂(氰尿酸 2 号试剂)。
- **D.3.2** 氰尿酸标准贮备溶液:准确称量  $1\ 000\ g$  氰尿酸,溶于去离子水,移入  $1\ 000\ mL$  容量瓶中,用水稀释至标线,摇匀;制成质量浓度为  $1\ 000\ mg/L$  的氰尿酸标准贮备溶液。
- **D.3.3** 氰尿酸标准使用溶液:准确吸取 3 mL 氰尿酸标准贮备溶液 100 mL 容量瓶中,用去离子水稀释至标线,摇匀;制成质量浓度为 30 mg/L 的氰尿酸标准使用溶液。

#### D.4 仪器

- D.4.1 分光光度计。
- D.4.2 25 mL 比色池。

#### D.5 样品采集

应使用洁净的玻璃瓶或塑料瓶取样,采集的样品须在 24 h 内分析测定。

#### D.6 标准曲线修正

- D.6.1 使用配制的氰尿酸标准使用溶液(质量浓度为 30 mg/L)对标准曲线进行修正。
- D.6.2 选择仪器菜单里的"选项"菜单,进入"选项"菜单里的"调整与精度"子菜单,按下"调整"键。
- D.6.3 按下"确认"键,确认显示的浓度。如果使用代替浓度,按下"调节"菜单下的数字键,输入实际浓度,并按下"确认"键。

# D.7 分析步骤

D.7.1 将待测样品倒入 25 mL 比色池中,作为空白对照。放入分光光度计中,盖上器具盖,按下仪器的

"清零"键。此时显示 0.00。

**D.7.2** 在另一个 25 mL 比色池中倒入 25 mL 待测样品,再加入一份粉末试剂,摇匀,反应 3 min。在反应结束后的 7 min 内,将比色池放入分光光度计中,盖上器具盖,按下仪器的"读数"键,仪器将显示测定水样中氰尿酸的质量浓度(以 mg/L 为单位)。

注: 反应时如有氰尿酸存在,会产生白色浑浊物。分析前应除去高浑浊物。

# D.8 方法的有效性

# D.8.1 精密度分析

采用 10 mg/L 放入氰尿酸标准溶液进行测试,结果为:氰尿酸程序,95%置信度区间内,7 mg/L  $\sim$  13 mg/L。

# D.8.2 灵敏度分析

灵敏度分析见表 D.1。

表 D.1 灵敏度分析

曲线范围	吸光度的变化 ΔAbs	浓度变化 $\Delta c$
10 mg/L	0.01	0.3 mg/L 氰尿酸
30 mg/L	0.01	0.3 mg/L 氰尿酸
50 mg/L	0.01	0.4 mg/L 氰尿酸



版权专有 侵权必究