

中华人民共和国海洋行业标准

HY/T ××××—××××

中空纤维微滤膜组件细菌截留性能检测方法

Testing method for the performance of bacterial retention of hollow fiber
microfiltration membrane module
(报批稿)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

自然资源部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国自然资源部提出。

本标准由全国海洋标准化技术委员会（SAC/TC 283）归口。

本标准起草单位：国家海洋标准计量中心。

本标准主要起草人：于小焱，刘士栋，张川。

中空纤维微滤膜组件细菌截留性能检测方法

1 范围

本标准规定了中空纤维微滤膜组件细菌截留性能测试评价的试验材料、仪器设备、检测准备、检测步骤、计算及检测报告。

本标准适用于最大孔径不大于 $0.22\ \mu\text{m}$ 的中空纤维微滤膜组件的细菌截留性能检测。

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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 20103-2006 膜分离技术 术语

HY/T 061-2017 中空纤维微滤膜组件

3 术语和定义

GB/T 20103-2006及HT/T 061-2017界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为了便于使用，以下重复列出了GB/T 20103-2006及HT/T 061-2017中的一些术语和定义。

3.1

微滤 microfiltration, MF

以压力为驱动力，分离 $0.01\ \mu\text{m}$ 至数 μm 的微粒的过程。

[GB/T 20103-2006，定义5.2.2]

3.2

细菌截留性能 performance of bacterial retention

截留特定细菌的能力。

3.3

替代组件 substitute module

在装置清洗、杀菌期间，用于代替测试膜组件使用的模拟组件。

3.4

跨膜压差 transmembrane pressure, TMP

原水进、出口压力平均值和产水侧压力值的差。

[HY/T 061-2017，定义3.5]

4 试验材料

4.1 试验菌

缺陷假单胞菌 (*pseudomonas diminuta*)。

4.2 培养基

培养基配制步骤如下：

- a) 加氯乳糖肉汤培养基：向锥形瓶中加入 970 mL 水，然后溶解 7.6 g 氯化钠。另外，将 1.3 g 乳糖肉汤溶于 100 mL 水中，取 30 mL 加入锥形瓶中，混匀并用高压蒸汽灭菌器在 121 °C 灭菌 20 min。
- b) 标准琼脂培养基：将 5.0 g 牛肉汁、10.0 g 蛋白胨、1.0 g 葡萄糖和 15 g~18 g 琼脂溶解到 1000 mL 水中并将 pH 值调节至 7.0~7.2，用高压蒸汽灭菌器在 121 °C 灭菌 20 min。
- c) 大豆酪蛋白消化物琼脂培养基：将 17.0 g 胰酶解酪蛋白、3.0 g 大豆木瓜酶消化物、5.0 g 氯化钠、2.5 g 磷酸氢二钾、2.5 g 葡萄糖、15 g~20 g 琼脂溶于 1 L 水中，25 °C 下调节 pH 为 7.1~7.5，在 121 °C 灭菌 15 min。
- d) 大豆酪蛋白消化物培养基：将 17.0g 胰酶解酪蛋白、3.0 g 大豆木瓜酶消化物、5.0 g 氯化钠、2.5 g 磷酸氢二钾、2.5 g 葡萄糖溶于 1 L 水中，25 °C 下以 HCl 或 NaOH 调整 pH 为 7.1~7.5，在 121 °C 灭菌 15min。
- e) 配制用水应符合 GB/T 6682 中三级或三级以上纯度，所用化学试剂应为化学纯及以上。
- f) 可采用合适的商品化的培养基成品。

4.3 微孔滤膜

孔径不大于 0.22 μm 的微孔滤膜。

5 仪器设备

5.1 干热灭菌器

温度应能控制在 (170±2) °C。

5.2 高压蒸汽灭菌器

温度应能控制在 (121±1) °C。

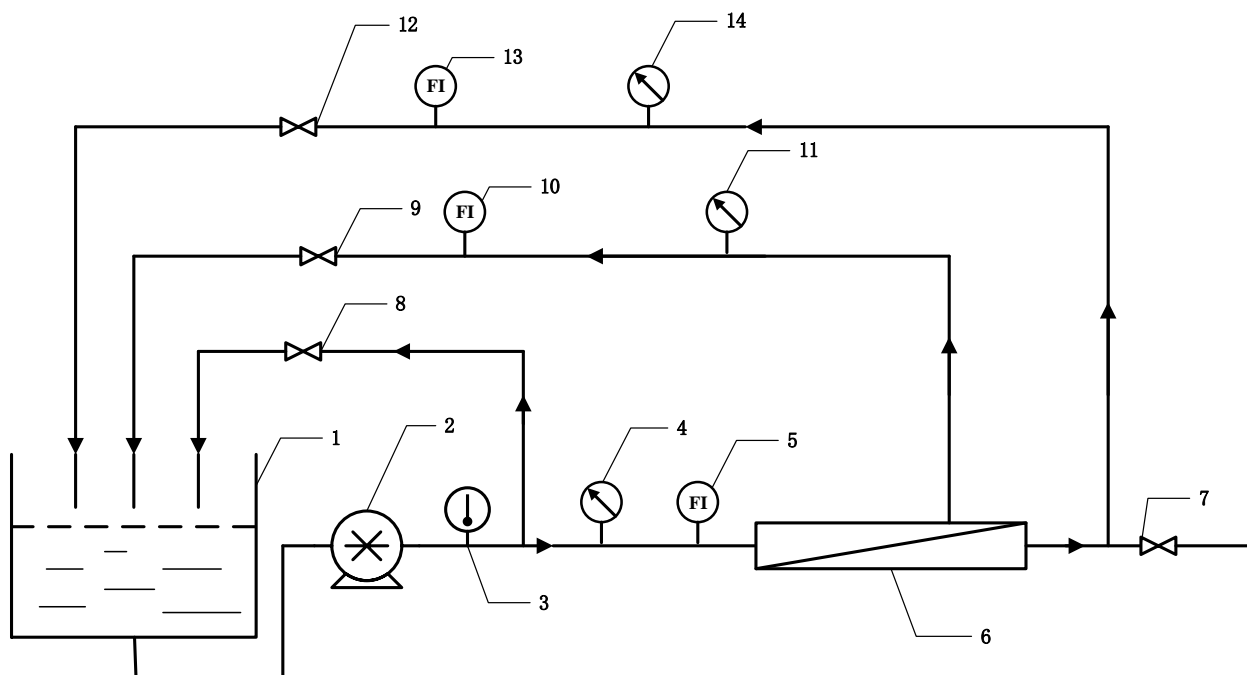
5.3 培养箱

温度应能控制在 (30±2) °C。

5.4 检测装置

5.4.1 装置的结构及部件

装置由水箱、水泵、中空纤维微滤膜组件、压力表、温度计、流量计、调节阀等构成（装置示意图见图1），构成部件应使用食品级不锈钢、塑料等耐腐蚀的材料。装置在构造上应易于清洗和灭菌，管路内残余液体应易于排出，且外界的杂菌不易混入。



说明：

- 1 ——可控温水箱；
- 2 ——水泵；
- 3 ——温度计；
- 4, 11, 14 ——压力表；
- 5, 10, 13 ——流量计；
- 6 ——中空纤维微滤膜组件
- 7, 8, 9, 12 ——调节阀。

图 1 细菌截留性能检测装置示意图

5.4.2 压力表

压力表为隔膜压力表，准确度级别优于1.6级，测量范围应覆盖（0~0.25）MPa。

5.4.3 温度计

温度计应内置于检测装置中，测量范围应覆盖（10~50）℃。最大允许误差 ± 0.1 ℃。

5.4.4 流量计

流量计的量程选择宜为试验流量的1.5倍~2倍，准确度级别优于1.5级。

6 检测准备

6.1 试验菌鉴定

试验菌的鉴定按照附录A的规定操作。如鉴定结果符合试验菌的特征，则可作为试验菌培养。

6.2 器具灭菌

用于细菌培养的试验器具在使用前应用干热灭菌器在170℃灭菌2 h，或用高压蒸汽灭菌器在121℃灭菌20 min。

6.3 试验菌液准备

试验菌液的准备步骤如下：

- a) 按照附录B进行试验菌的培养及保存，并配制浓菌液；
- b) 向获得的浓菌液（B.3）中加入水，将菌液浓度调节为 1×10^6 CFU/mL及以上，若此溶液不能立即用于试验，应于4℃下保存不超过8 h；
- c) 按照附录C的规定测定试验菌液中的活菌数，活菌数应占总菌数的25%以上。

7 检测步骤

7.1 清洗

装置和组件的清洗步骤如下：

- a) 将替代组件安装到检测装置上；
- b) 向水箱内装入水；
- c) 启动水泵，清洗所有的管路；
- d) 待装置洗净后排放检测装置及水箱内的水，取下替代组件，安装待检测组件；
- e) 向水箱中装入水，启动水泵，打开产水侧阀门，调节膜组件浓水侧阀门，使膜组件浓水侧压力表指示为0.02 MPa~0.1 MPa，稳定运行10 min后，排放检测装置内的水。

7.2 杀菌

向水箱内加入适量水，加入一定量的次氯酸钠搅拌均匀，使有效氯浓度达到100 mg/L，启动水泵杀菌15 min。杀菌后排放检测装置及水箱内的杀菌液。

7.3 二次清洗

水箱内加满水，启动水泵，彻底冲洗检测装置及待检测组件。

7.4 空白试验

向水箱中加入适量水，启动水泵，控制跨膜压差为 (0.1 ± 0.02) MPa、系统温度为 (25 ± 2) ℃，连续运行10 min后，取产水1000 mL测定活菌数，空白试验中若检出活菌则说明系统杀菌失效，应检查污染源后重新进行空白试验。

$$\bar{P} = \frac{P_1 + P_2}{2} - P_3 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

\bar{P} —跨膜压差（MPa）；

P_1 —膜组件进水侧压力（MPa）；

P_2 —膜组件浓水侧压力（MPa）；

P_3 —膜组件产水侧压力（MPa）。

7.5 细菌截留检测

细菌截留检测的步骤如下：

- a) 将适量试验菌液（6.3）加入检测装置的水箱中；
- b) 控制试验菌液的温度为（25±2）℃，跨膜压差为（0.1±0.02）MPa；
- c) 加入菌液 10 min 后，记录进水侧、浓水侧、产水侧流量计结果；
- d) 取产水 1000 mL 测定活菌数（B），按照附录 C 的规定测定；
- e) 从水箱中取试验菌液 10 mL 测定活菌数（A'），按照附录 C 的规定测定，并计算出相当于 1000 mL 试验菌液中试验菌的活菌数（A）；
- f) 如 d）、e）步骤采样后不能立刻测定活菌数时，应将样品在 4℃ 下保存，并在 6 h 内完成测定。

8 计算

细菌截留性能的计算方法见公式（2）。

$$U = \lg \frac{A}{B} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

U—细菌截留性能（无量纲）；

A—相当于1000mL试验菌液中试验菌的活菌数（CFU）；

B—1000mL产水中试验菌的活菌数（CFU）。

注：产水中活菌数（CFU）为0的情况下，B用1表示，则可以表示为 $U \geq \lg \frac{A}{B}$ 。

9 检测报告

检测报告应包括以下内容：

- a) 检测样品的信息（样品编号、生产厂家、型号/规格、出厂编号等）；
- b) 检测时的环境温度、相对湿度；
- c) 检测项目所涉及的检测条件（跨膜压差、试验菌液的温度等）；
- d) 空白试验的活菌数；
- e) 细菌截留检测试验产水的活菌数以及试验菌液的活菌数和总菌数；
- f) 细菌截留性能检测结果。

附 录 A
(规范性附录)
试验菌的鉴定方法

A.1 适用范围

本附录规定了缺陷假单胞菌（*pseudomonas diminuta*）的鉴定方法。

A.2 器具

A.2.1 显微镜

放大倍数40倍及以上的光学显微镜。

A.2.2 物镜测微尺

量程（0~1）mm，分辨力不低于0.01 mm。

A.3 形态鉴定

A.3.1 菌群的形态

缺陷假单胞菌的菌落呈米黄色，轻微突起，完整透明。菌落在30℃下培养24 h后，生长至针尖般大小，培养36 h~48 h后直径变为1 mm ~2 mm。

A.3.2 观察

观察步骤如下：

- a) 进行革兰氏染色后，用显微镜来检查所制备的菌株，观察几个视场中微生物的大小和分布情况。经过染色的菌株应为革兰氏阴性、尺寸为（0.3 μm~0.4 μm）×（0.6 μm~1.0 μm）的短小杆状菌，主要以单细胞形式存在；
- b) 进行鞭毛染色（可选）。缺陷假单胞菌具有极生单鞭毛的特征。

A.4 生化特征鉴定

生化特征鉴定的结果应符合表A.1。

表A.1 缺陷假单胞菌生化鉴定试验结果的特征

生化试验的项目	试验结果	生化试验的项目	试验结果
芽孢形成	-	白明胶酶	-
葡萄糖氧化发酵培养基（敞开）	-	需氧性	+
葡萄糖氧化发酵培养基（密封）	-	过氧化氢酶	+
3%乙醇氧化发酵培养基（敞开）	+	细胞色素氧化酶	+
3%乙醇氧化发酵培养基（密封）	-	马康基琼脂培养基的发育	+

表A.1 缺陷假单胞菌生化鉴定试验结果的特征（续）

生化试验的项目	试验结果	生化试验的项目	试验结果
吡哌	-	硝酸盐还原	+
甲基红	-	脱氧核糖核酸酶	-
乙酰甲基甲醇	-		
注：+为阳性，-为阴性。			

附 录 B
(规范性附录)
试验菌的培养、保存及浓菌液配制方法

B.1 适用范围

本附录规定了缺陷假单胞菌 (*pseudomonas diminuta*) 的培养、保存及浓菌液的配制方法。

B.2 试验菌的培养及保存

B.2.1 将缺陷假单胞菌用平板涂抹法进行培养, 并确认菌群的形态是否均一。

B.2.2 取部分形态均一的菌群植入大豆酪蛋白消化物琼脂斜面培养基, 在 $(30\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中, 培养 24 h。

B.2.3 在培养后的斜面培养基上覆盖灭菌的液体石蜡, 在 4°C 环境下保存。需要长期保存菌种时, 应冻结干燥且保存在液氮中。

B.2.4 培养基应在无菌环境中保存。

B.3 浓菌液的配制方法

B.3.1 向 10 mL 灭菌的大豆酪蛋白消化物培养基中植入试验菌 (B.2), 在 $(30\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 24 h。

B.3.2 向 1000 mL 加氯乳糖肉汤培养基中加入培养的菌液 (B.3.1) 2 mL, 不断搅拌。

B.3.3 把菌液 (B.3.2) 在 $(30\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 24 h, 即为浓菌液。这种浓菌液在 4°C 时可保存 8 h。

。

附 录 C
(规范性附录)
活菌数及总菌数测定

C.1 适用范围

本附录规定了缺陷假单胞菌 (*pseudomonas diminuta*) 活菌数及总菌数的测定方法。

C.2 主要器具

C.2.1 过滤杯

微孔滤膜的孔径不大于0.22 μm。

C.2.2 显微镜

放大倍数40倍及以上的光学显微镜。

C.3 试剂及培养基

C.3.1 0.1%葡萄糖溶液

将1 g葡萄糖溶解到1 L水中，在121 °C条件下高压蒸汽灭菌20 min。

C.3.2 活菌数测定用琼脂培养基

大豆酪蛋白消化物琼脂培养基配制方法见4.2。

C.4 活菌数的测定

C.4.1 试验菌液样品测定

C.4.1.1 用吸管取试验菌液，加到0.1%葡萄糖溶液 (C.3.1) 中，配制成适当浓度 (如 10^{-5} 、 10^{-6} 倍) 的稀释液。

C.4.1.2 取稀释液0.1 mL (C.4.1.1)，涂抹到培养基 (C.3.2) 上，在 (30 ± 2) °C 的条件下培养48 h。

C.4.1.3 数出菌群数，并计算试验菌液的活菌数。

C.4.2 产水/空白试验样品测定

C.4.2.1 取试验水样，用过滤杯 (C.2.1) 过滤1000 mL。

C.4.2.2 去除附着在微孔滤膜表面的水分，然后从装置上取下。

C.4.2.3 将微孔滤膜放入含有培养基 (C.3.2) 的培养皿中 (应注意过滤膜和培养基之间不能留有气泡)，倒置培养皿，在 (30 ± 2) °C 的条件下培养48 h。

C.4.2.4 培养后，数出微孔滤膜上生长的菌群数，并计算出相当于试验水样的活菌数。

C.4.2.5 检出活菌的情况下，为了确定检出菌是否为缺陷假单胞菌，按附录A进行鉴定。

C.5 试验菌液中的总菌数 (活菌和死菌的合计) 的测定

- C.5.1 将试验菌液在洁净台内用0.1%葡萄糖溶液（C.3.1）稀释为适当浓度（如 10^{-5} 、 10^{-6} 倍）的稀释液。
 - C.5.2 用显微镜测定稀释液（C.5.1）中的菌数，然后计算出试验菌液中的总菌数。
-