

GB/T 11446. 3~11446. 10—1997

前　　言

GB/T 11446. 3~11446. 10—1997 是分别对 GB 11446. 3—89《电子级水检测方法通则》、GB 11446. 4—89《电子级水电阻率的测试方法》、GB 11446. 5—89《电子级水中痕量金属的原子吸收分光光度测试方法》、GB 11446. 6—89《电子级水中痕量二氧化硅的分光光度测试方法》、GB 11446. 7—89《电子级水中痕量氯离子的离子色谱测试方法》、GB 11446. 8—89《电子级水中总有机碳的测试方法》、GB 11446. 9—89《电子级水中微粒的仪器测试方法》、GB 11446. 10—89《电子级水中细菌总数的滤膜培养测试方法》进行修订。

由于 GB/T 11446. 1 增加了金属镍、硝酸根离子、磷酸根离子、硫酸根离子的技术指标，在本标准中增加了原子吸收分光光度法测定金属镍以及用离子色谱法测定硝酸根、磷酸根、硫酸根的测试方法。细菌的测试方法只用滤膜培养法，对测总有机碳方法也作了全新改写，对测试方法通则，测电阻率的方法、全硅的测定方法等都作了一些修订并重新改写。

本标准从实施之日起，同时代替 GB 11446. 3~11446. 10—89。

本标准由中华人民共和国电子工业部提出。

本标准由电子工业部标准化研究所归口。

本标准起草单位：中国科学院半导体研究所，电子工业部标准化研究所。

本标准主要起草人：闻瑞梅、李晓英、王在忠、徐学敏、孙日盼、刘任重、许秀欣。

中华人民共和国国家标准

电子级水中细菌总数的滤膜培养测试方法 GB/T 11446.10—1997

Test method for total bacterial count in
electronic grade water by membrane filters

代替 GB 11446.10—89

1 范围

本标准规定了电子级水中细菌总数(活菌)的滤膜培养测试方法。

本标准适用于 I ~ N 级电子级水中细菌总数的测量。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 11446.1—1997 电子级水

GB/T 11446.3—1997 电子级水测试方法通则

3 定义

3.1 无菌操作 bacteria-free operation

在无细菌存在的条件下进行的操作。在测定水中的细菌时,必须事先将使用的器皿、仪器设备及实验室进行灭菌,以获得正确的结果。

3.2 菌落 bacterium colony

水中的细菌是极微小的,无法用肉眼观察,将单个菌体或孢子在固体培养基上培养一定时间后,使其生长繁殖形成肉眼可见的微生物集团,即为菌落。

3.3 细菌培养法 bacterium culture method

将一定量水样经超滤膜过滤,再用适当的培养基将留在超滤膜表面的细菌培养以形成菌落,然后计数以测量水中活细菌的数量。

4 原理

水中的细菌经过 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔膜过滤截留于滤膜上,将滤膜贴在衬底(吸透了 TGY 培养基的滤纸)上,在适宜的条件下进行培养,细菌繁殖成肉眼可见的菌落。细菌体内存在的脱氢酶,与 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(简称 T.T.C)在胞内反应使菌体呈红色,反差增大,借此观测及计数。

5 试剂

5.1 空白用水: I 级电子级水于高压无菌器内在 $1.4 \times 10^5 \text{ Pa}$ 压力下,无菌 15 min。

5.2 TGY 培养基:1 L 空白用水中 10.0 g 胰蛋白胨(B.R)6.0 g 牛肉膏(B.R),2.0 g 葡萄糖(A.R),加热溶解,冷至室温,以 1 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至 7.4~7.6,加 15.0 g 琼脂,加热溶解并趁热过滤(以四层纱布、一层脱脂棉为介质),装于 300 mL 三角瓶中,灭菌后备用。

国家技术监督局 1997-09-01 批准

1998-09-01 实施

GB/T 11446.10—1997

5.3 1 mol/L 氢氧化钠溶液:20 g 氢氧化钠(A.R)溶于 500 mL 空白水中,储于聚乙烯瓶中。

5.4 0.1% (W/V)T.T.C 溶液灭菌备用。

6 仪器和设备

6.1 无菌间(或无菌工作台):备有功率大于或等于 2 W/m² 的紫外灯,置于工作台 1.5 m 处。

6.2 电热恒温培养箱:(20~60)℃±1℃。

6.3 高压蒸汽灭菌器。

6.4 恒温烘箱。

6.5 体视显微镜。

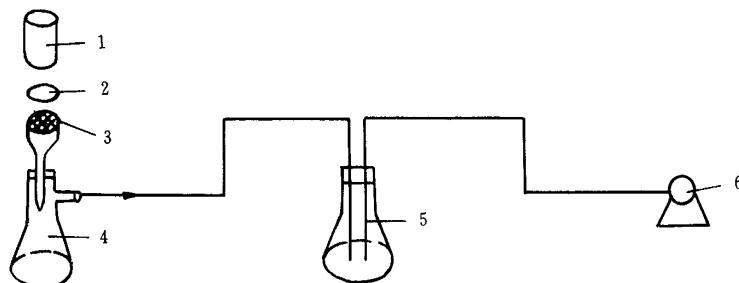
6.6 微孔有机滤膜:φ50 mm,孔径 0.45 μm 格栅膜。

6.7 过滤器:φ50 mm 杯式不锈钢过滤器。

6.8 各种玻璃器皿:广口瓶、三角瓶、培养皿、量筒等。

6.9 酒精灯、平头镊子、纱布、棉花、定性滤纸等。

6.10 抽滤系统:如下图所示:



1—滤杯; 2—滤膜; 3—载膜网; 4—抽滤瓶; 5—缓冲瓶; 6—真空泵

抽滤系统示意图

7 分析步骤

7.1 检测前的准备

7.1.1 开启无菌室及净化工作台 1 h~2 h 后,使之进入稳定工作状态。

7.1.2 器皿的灭菌:将培养皿、取样瓶等玻璃器皿,先用电子级水洗净、烘干,用纸包严后置于铝制专用容器中放入恒温箱(160℃~165℃)内,干热灭菌 2 h。

7.1.3 有机滤膜的灭菌:于电子级水中煮沸 15 min,弃去沸水后,再加新的水煮沸,反复进行三次即可。或在紫外灯下照 1 h~2 h 灭菌。

7.2 水样测定

取 2.0 mL T.T.C 溶液于 100 mL 培养基中,在培养皿中混匀(约 3 mm~4 mm 厚),冷却备用。取摇匀后的适量水样:I~II 级水取 20 mL~100 mL,III 级水取 1 mL,经过过滤装置过滤,用 50 mL 空白用水冲洗,抽干。用镊子将滤膜置于备好的培养基上,膜面朝上,盖好皿盖;待凝固后,将平皿翻转置于培养箱中,于 37℃±1℃ 下恒温培养 48 h 后取出,在体视显微镜下观察菌落并计数。按同样步骤进行空白实验。每个样品平行进行三次测定,取其平均值。

8 分析结果的计算

水中的细菌总数按下式计算:

GB/T 11446. 10—1997

$$A = \frac{n - n_0}{V}$$

式中: A ——每毫升水样中细菌总数,个;

n ——滤膜上的菌落数,个;

n_0 ——空白实验的菌落数,个;

V ——被测水样的体积,mL。

9 试验报告

按 GB/T 11446. 3—1997 第 6 章要求。

10 注意事项

10.1 细菌分析应特别注意外来微生物的污染。

10.2 将载菌膜置于培养基上时,中间不得有间隙或气泡。

10.3 在制备培养基的加热过程中,应补充所损失的水分。