

产品使用说明书

Product Manual

模拟生活污水(活性污泥对生活污水中有机物的降解)

品牌	Chinook 钦诺克
货号	CN260054
中文名称	模拟生活污水(活性污泥对生活污水中有机物的降解)
英文名称	Synthetic Domestic Sewage
产品别名	模拟生活污水、合成生活污水、入工生活污水
用途	用于活性污泥对生活污水中有机物的降解
配方出处	王英明 徐德强.2019.环境微生物学实验教程.北京: 高等教育出版社

成分 (mg/L) :

葡萄糖 Dextrose	360.0
酵母浸出粉 Yeast Extract Powder	80.0
磷酸二氢钾 KH_2PO_4	14.0
硫酸镁 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	24.0
氯化铵 NH_4Cl	60.0
氯化钙 CaCl_2	18.0
碳酸氢钠 NaHCO_3	24.0
七水硫酸锰 $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6.0
硫酸亚铁 FeSO_4	0.3

用法:

称取本品 0.59g (精确值 0.5863g), 加入 1000mL 蒸馏水中溶解, 混匀。

实验方法与步骤 (供参考) :

实验名称: 活性污泥对生活污水中有机物的降解

材料与器皿:

1. 微生物样品

取自污水处理厂的活性污泥。

2. 试剂

生活污水:用自来水稀释至 BOD_5 约为 500mg/L。

模拟生活污水

测定 COD_{Cr} 用试剂。

3. 仪器设备

序批式污水处理装置(或用恒温水浴锅加空气泵改建), 烘箱, 天平, 分析天平, 离心机, 显微镜以及测定 COD. 用设备。

4. 器皿和其他材料

蒸发皿, 量筒, 干燥器, 离心管, 镜头纸以及测定 COD_{Cr} 用材料和器皿。

实验方法:

1. 活性污泥的准备

(1) 测定活性污泥的 MLSS

① 干燥蒸发皿

蒸发皿在 105°C 烘箱内干燥 1h, 然后在干燥器内冷却 30 min 后称量培养皿干重 (m_1 , mg)。

② 分离活性污泥

从污水处理厂采集活性污泥, 混匀, 量取一定体积(如 40mL)的活性污泥(V_1 , mL), 1500g 离心 15min, 小心弃去上清液, 沉淀移至恒重的蒸发皿中。

③ 活性污泥的干燥

将蒸发皿置于 105°C 烘箱中干燥 2h, 干燥器中冷却 30 min, 称量蒸发皿加活性污泥干重(m_2 , mg)。

④ 计算 MLSS

根据两次称量的质量差及离心的活性污泥体积, 按照如下公式计算活性污泥的 MLSS。

活性污泥的 $MLSS = 1000 \times (m_1 - m_2) / V_1$

(2) 活性污泥的驯化

① 加样

根据序批式污水处理装置的体积和活性污泥 MLSS 值, 在污水处理装置中加入活性污泥和污水, 使污水处理装置内混合液的最终 MLSS 约为 1000mg/L。

② 曝气

打开空气泵, 曝气, 按照 1L 混合液 1min 通入空气 0.1~0.3L, 连续搅拌, 维持 25°C。

③ 驯化

曝气 10h 后沉淀 1h, 沉淀结束后排出总体积 1/3 的上清液, 静置 1h, 再加入等体积污水, 重复上述流程。如发现污泥呈黄褐色, 絮凝和沉淀性能良好, 上清液清透明, 泥水界面清晰, 镜检菌胶团密实, 生物相丰富, 说明活性污泥已驯化成功。一般需要 7~14d 可以达到满意的效果。

④ 测定 MLSS

测定驯化好的活性污泥的 MLSS。

2. 序批式废水处理

(1) 分离活性污泥

将驯化好的活性污泥静置沉淀 30min, 取沉淀物用清水清洗 2 次, 注意不要损坏污泥团。

(2) 加样

在污水处理装置中加入活性污泥, 再加入污水, 使污水处理装置内混合液的最终 MLSS 约为 1000 mg/L。

(3) 采样

搅拌混匀后采样, 测定 0h 的 MLSS 和 COD_{Cr}。样品 1500g 离心 15 min, 沉淀用来测定 MLSS, 上清液用来测定 COD_{Cr}。

(4)曝气

继续搅拌，并通入空气，曝气 2h，采样，测定 MLSS 和 COD_{Cr}。

(5)沉淀

停止曝气，静置沉淀 30min。然后搅拌混匀后取样，测定 MLSS 和 COD_{Cr}。

(6)灭菌和清理

实验结束后，将全部液体灭菌，清洗器皿。

结果与记录：

1.测定不同时间的 MLSS 和 COD_{Cr} 值，记录于下表。

SBR 法对生活污水的处理效果

	时间/h		
	0	2.0	2.5
MLSS/(mg·L ⁻¹)			
COD _{Cr} /(mg·L ⁻¹)			

2.计算最终污水 COD_{Cr} 去除率。

$$\text{COD}_{Cr} \text{ 去除率} = (\text{CO}_{0h} - \text{COD}_{2.5h}) / \text{CO}_{0h} \times 100\%$$

注意事项:

- 1.测定 COD_{Cr} 时，要特别注意安全。
- 2.曝气时间可以根据实验需要缩短为 1h。

储存方式:

贮存于避光、干燥处，用后立即旋紧瓶盖；贮存期三年。

注意事项:

- 1.称量时注意粉尘，佩戴口罩操作以避免引起呼吸道系统不适。
- 2.干粉培养基使用后立即旋紧瓶盖，避免吸潮结块。贮存于避光、干燥处。未开封产品保质期三年。开封后根据存放条件的不同，保质时间存在一定的差异。

废物处理:

检测之后带菌物品置于 121℃下高压灭菌 30 分钟后处理。

附录:

微生物培养基正确配置方法及注意事项

步骤一：称量

根据配方和使用说明上所标注的重量，用 1/100 的电子天平准确称出所需的培养基（称量时可以使用称量纸）**注意：称量一定要准确**，称量不准，则会影响使用效果。

步骤二：溶解

1.搅拌：

将培养基纳入烧杯容器中，加小适量的水，缓慢加水并用玻璃棒小幅度搅拌。

注意：一定要搅拌。特别是在溶解含有琼脂的培养基，在加热的同时一定要进行搅拌。

2.加热：

倘若培养基中**不含琼脂**，一般**不需要对培养基进行加热**；相反**含有琼脂**，需要用**本生灯/电磁炉加热煮沸**。

注意：

(1) 琼脂只有煮沸，且不断搅拌才能溶解充分。

不要把未经加热及搅拌煮沸的培养基溶液直接高压灭菌，这样很容易使琼脂溶解不充分，且粘在容器底部。

(2) 不建议使用水浴加热或微波炉加热，特别是微波炉。

水浴加热：一般需要时间长，也很可能会发生琼脂溶解不充分的情况。

微波炉加热：一般没法进行搅拌，也会容易使琼脂溶解不充分。

(3) 琼脂溶解不充分导致非常严重的后果，会严重影响后续的铺平板、划线以及培养效果等，会导致实验无法完成。

3.待培养基完全溶解后，再加入适量的水搅拌均匀。如准备的培养基较多，在不锈钢锅中融化加热，是可以使用温水加热的，还需不停搅拌，**防止焦化**。

如果不小心出现焦化现象，则表面制备好的培养基将无法使用，必须重新配制培养基。

4.推荐使用玻璃、搪瓷材质的容器来溶解培养基。

注意：一定不要使用铜或铁容器来溶解制备培养基。

因为铜或铁容器可能会导致容器内培养基中铜、铁超标，影响实验结果。

①其中培养基中铜含量大于 0.3 毫克每升，细菌不适宜生长。铁含量超过 0.14 毫克每升，会防止细菌产生毒素。

②实验中，容易发生反应和沉淀的药物应单独溶解，然后加入培养基中，如磷酸氢二钾和硫酸镁。

步骤三：调培养基 pH

1.培养基中一般都已调好 pH 值，不需额外再次调节 pH 值。但如果是配制的培养基达不到实验的要求，则必须要进行调整。

(1) 如果有校准过的 **pH 计**，则可以使用 **pH 计**。如果没有，可以使用精确的 **pH 试纸**。

(2) 然后根据调节需要，使用 **1mol/L 氢氧化钠**或 **1mol/L 盐酸**进行微调，直到调节到配方所需要的 pH 值为止。

培养基有酸性或碱性，pH 值一般为 7.4 ~ 7.6。对于需要用氢氧化钠调节的培养基，需要将 pH 调至比要求值高 0.1 ~ 0.2 个单位，因为用氢氧化钠调节时，高压灭菌后培养基的 pH 值会降低 0.1 ~ 0.2。如果微生物培养基中含有碳酸钙，一般无需调整 pH 值。

步骤四：培养基过滤

1.如果对配制的培养基没有特殊要求，这一步可以省略。

2.培养基如有浑浊和沉淀现象，可将需要澄清的液体培养基进行油纸过滤。固体介质可以用双层纱布过滤，中间有一层薄薄的脱脂棉。

如果过滤法不能满足澄清要求，可以采用蛋清澄清法，即将培养基加热后冷却至五十度至六十度，不超过三角瓶一半的容量。每一千毫升放入 1~2 个蛋清，用力摇晃三至五分钟，用 121°C 高压蒸汽灭菌二十分钟，之后趁热取出过滤。

步骤五：培养基分装

1. 准备好的培养基根据用途不同，分为烧瓶、试管等容器。

①分装试管量大则采用-自动分液器。

②分装试管量小则采用-漏斗分液。

2. 分液量不超过容器体积的三分之二，三角瓶不要超过体积的二分之一，琼脂斜面不要超过试管长度的五分之一。

灭菌后斜面应为培养基量的三分之一，底层应为培养基量的三分之二，半固态琼脂的体积为三分之一。

用于接种或保护细菌的高级琼脂，分装试管长度的三分之一和四分之一，接种厌氧菌的量应达到三分之二；琼脂平板 90 毫米内径 13~15 毫升，内径 70 毫米 8~10 毫升。

3. 如果琼脂平板表面有较多水，可将平板倒置，置于 37°C 培养箱中三十分钟，晾干后使用。每批培养基分装在二十毫升左右的小玻璃瓶中，与该批培养基同时灭菌，在以确定这批培养基的最终 pH 值。

步骤六：培养基灭菌处理

分装完成的培养基应马上进行灭菌。其杀毒灭菌方式主要有三种类型：

(1) 高压蒸汽灭菌方式

此方法可用于大多数耐热培养基。

①对于小份：121°C 十五分钟

②对于大份：121°C 三十分钟

③对于含糖类（碳水化合物）的培养基：则需要进行 113~115°C/15min 灭菌，以避免糖分的破坏，**避免焦化。**

(2) 煮沸灭菌法方式

此方法可用于含有不耐高温物质的培养基。

(3) 过滤除菌方式

此方法可用于当培养基中含有不耐热物质时。采用无菌技术来定量添加培养基。血液和抗生素可以用无菌技术抽取，并加入已经冷却至约五十度的培养基中。

对 LST 培养基进行灭菌时，发酵管内可能存在气泡。为了防止发酵管内形成气泡，可以采取以下措施：

(1) 倒置的小管内充满培养基，不留气泡，然后加入含有 LST 的试管中。

(2) 在关闭灭菌锅的排气阀之前，将锅内的气体排空。灭菌锅内空气是否排净，这个是影响灭菌是温度和压力比例关系的要点，同样达到了相同的压力的情况下，如果空气未能排净，也就是说不是纯蒸汽灭菌，此时的温度不一定能达到目的要求，会严重影响灭菌效果。

(3) 试管塞不要塞得太紧。使用硅胶塞时，请勿使用橡胶塞。

(4) 不可过早打开灭菌锅，等灭菌锅内的气压和温度降到与室温相同或相差不大时，再打开灭菌锅。如果按照以上方法操作还有气泡，可以用水作为培养基组的对照试验。如果培养基组依旧有气泡，对照组没有气泡，可以确定是培养基本身原因。

步骤七：培养基倒入平板

1. 将灭菌溶化的培养基冷却至五十度后，倒入无菌干燥的培养皿中。

微生物培养基制备的温度不能太高，否则培养皿内盖容易形成过多的冷凝水；温度太低，培养基容易凝固成块状，不能做成平板。

2.倒平板时，要靠近酒精的火焰（以此防止外来细菌落入盘中）。左手托住培养皿，右手托住三角瓶底部。用小指和手掌拉出锥形瓶的棉塞，烧灼烧瓶口，用拇指和食指在培养皿盖上打开一条缝，直到烧瓶口刚好伸进去，倒入培养基，直到底部被覆盖。

3.不要超过培养皿高度的三分之一，迅速盖上盖子，放在桌上后轻轻旋转培养皿，使培养基分布均匀，凝结后即可。24 小时后检查，如培养基未长杂菌，即可用来培养微生物。

步骤八：培养基摆斜面

灭菌完成后，将试管中的琼脂培养基放在木架或玻璃架上，并且要有适当的坡度。冷却后使琼脂凝固并变成斜面。（斜面长度不超过试管的二分之一）

步骤九：微生物培养基质检

1. 检验培养基灭菌后，若发现有破损，浸水，颜色异常，棉塞被培养基污染。所有这些问题，都必须丢弃，不能重复使用，并确定其最终 pH 值。

2.无菌检查和效果检查也是必需的。

(1) 无菌检查是取 1~2 瓶无菌培养基，37°C 孵育一两天，确认无细菌生长。

(2) 效果检查是将标准菌株接种到相关培养基上进行细菌检查。菌种的生长、形态和生化条件与已知条件一致。

若两个条件都检查合格，准备好的培养基就可以使用了。