



中华人民共和国国家标准

GB/T 21796—2008

化学品 活性污泥呼吸抑制试验

Chemicals—
Activated sludge, respiration inhibition test

2008-05-12 发布

2008-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前　　言

本标准等同采用经济合作与发展组织(OECD)化学品测试导则 No. 209(1984 年)《活性污泥呼吸抑制试验》(英文版)。

本标准做了下列编辑性修改:

——将计量单位改为我国法定计量单位。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准负责起草单位:环境保护部化学品登记中心。

本标准参加起草单位:环境保护部南京环境科学研究所、中国检验检疫科学研究院、广东省微生物研究所。

本标准主要起草人:刘纯新、卢玲、沈英娃、刘济宁、周军英、陈会明、梅承芳。

化学品 活性污泥呼吸抑制试验

1 范围

本标准规定了化学品活性污泥呼吸抑制试验的方法概述、试验准备、试验程序、质量保证与质量控制、数据与报告。

本标准适用于大多数水溶性、低挥发性、易滞留于水体的物质；不适用于在氧作用下可能发生磷酸化而分解的物质。对于水溶性有限的受试物，可能无法测定半效应浓度。

本标准提供一种快速筛选方法，鉴定哪些物质可能对污水处理厂的好氧微生物产生不利影响，并为生物降解试验提供相应的无抑制受试物浓度。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

呼吸速率 respiration rate

单位时间内污泥或污水中好氧微生物消耗的氧气量，通常以每小时每升污泥或污水消耗的氧气毫克数表示[$\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$]。

2.2

半数效应浓度 median effective concentration, EC₅₀

与对照组比较，引起微生物呼吸速率下降 50% 的受试物浓度。

3 受试物信息

- a) 结构式；
- b) 纯度；
- c) 水中溶解度；
- d) 蒸汽压。

4 方法概述

4.1 原理

在活性污泥中加入一定量的合成污水，接触 30 min 或 3 h，测定好氧微生物呼吸速率。在相同的条件下，测定试验系统中加入不同浓度受试物后同一活性污泥的呼吸速率。用占两个对照组呼吸速率均值的百分数表示特定浓度受试物的抑制效应。由不同浓度的测定结果计算出 EC₅₀ 值。

4.2 参比物

本标准推荐 3, 5-二氯苯酚作为参比物。

4.3 注意事项

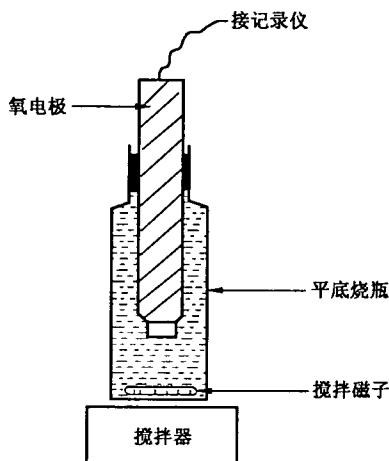
活性污泥可能含有潜在致病生物，应小心处理。

5 试验准备

5.1 仪器和设备

- a) 测定装置，见图 1(包括磁力搅拌器，平底烧瓶)；
- b) 曝气装置；

- c) pH 计;
- d 氧电极。



注：该装置为非标准装置，但需确保试液装满烧瓶顶部，电极探头与烧瓶瓶颈紧密相配，隔绝瓶外空气。

图 1 测定装置

5.2 微生物接种液

采用主要处理生活污水的污水处理厂的活性污泥作为接种物。污泥取回实验室后用自来水冲洗，离心，倒出上清液。重复操作 3 次。取少量洗过的污泥称重、干燥，计算出试验所需污泥的量(湿重)。配制浓度为 $4 \text{ g/L} \pm 0.4 \text{ g/L}$ 的活性污泥混合悬浮液。若采集的活性污泥当天不使用，应在每升上述活性污泥中加入 50 mL 合成污水，在 $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 下曝气培养，使用前测定 pH，必要时用碳酸氢钠溶液调节 pH 值至 $6.0 \sim 8.0$ ，并测定混合液中悬浮物含量。

5.3 试验用水

曝气除氯的自来水。

5.4 合成污水配制

分别称取 16 g 蛋白胨、11 g 牛肉膏、3 g 尿素、0.7 g NaCl、0.4 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 2.8 g K_2HPO_4 ，用水溶解，定容至 1 L。

6 试验程序

6.1 受试物贮备液

若受试物水溶解度大于 1 g/L ，则称取 0.5 g，用蒸馏水溶解并定容至 1 L，得 0.5 g/L 的贮备液。否则，将受试物直接加入试验容器中，或者用有机溶剂配置贮备液。若使用有机溶剂，则该溶剂应对微生物无明显的呼吸抑制或促进作用。此外，需增加含活性污泥和溶剂但不含受试物的对照。

6.2 参比物配制

用 10 mL 的 1 mol/L NaOH 溶解 0.5 g 3,5-二氯苯酚，用蒸馏水稀释到约 30 mL，边振荡边加入 $0.5 \text{ mol/L H}_2\text{SO}_4$ 直到刚刚出现沉淀，大约需要 H_2SO_4 4 mL，最后用蒸馏水稀释到 1 L，pH 值为 $7 \sim 8$ 。

6.3 试验操作

受试物和参比物的 3 h 接触试验可按下列步骤进行：

准备一定数量的烧杯(如 1 L 的烧杯)。

试验开始时(0 时刻)把 16 mL 合成污水加试验用水至 300 mL，再加 200 mL 微生物接种液，混合为 500 mL，倒入第一个烧杯中，为对照组 1(C_1)。在 $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 条件下，用洁净无油空气以 $0.5 \text{ L/min} \sim 1 \text{ L/min}$ 的速度曝气培养。

在 15 min 时(15 min 的时间间隔是任意选定的)，在 16 mL 合成污水中加入 100 mL 受试物贮备液，再加水至 300 mL，然后再加 200 mL 微生物接种液，充分混合为 500 mL。混合液倒入第二个烧杯曝

气培养。随后,每隔 15 min 按此法制备试验液,受试物溶液用量根据浓度设计选定,从而得到一系列不同浓度的受试物试验液。受试物至少设置 5 个浓度组,参比物最少设置 3 个浓度。最后制备对照组 2(C₂)。

3 h 后,把 C₁ 试验液倒入测定装置,测定 10 min 的呼吸速率,也可直接在烧杯中测量。同法测定其他处理液及 C₂。每批微生物接种液,都要按同样的方法用参比物溶液检验其活性。

如果试验周期为 30 min,试验体系可根据情况作相应改动。

7 质量保证与质量控制

两组空白对照呼吸速率差不高于 15%。

参比物 3,5-二氯苯酚 3 h 的 EC₅₀ 为 5 mg/L ~ 30 mg/L。

8 数据与报告

8.1 数据处理

可以根据记录仪所画的曲线在 6.5 mg/L 和 2.5 mg/L 之间计算呼吸速率,如果呼吸速率低,可根据 10 min 以上的耗氧量计算,测定呼吸速率的呼吸作用曲线部分应为线性。

根据溶解氧测定值计算呼吸速率,为了计算受试物的抑制效应,将呼吸速率以两组空白对照呼吸速率的百分比形式表达。见下式:

$$R = 1 - \frac{2R_s}{R_{C_1} + R_{C_2}} \times 100$$

式中:

R——受试物呼吸抑制率,%;

R_s——受试物受试浓度的耗氧速率,单位为毫克每升小时[mg/(L·h),以 O₂计];

R_{C₁}——对照组 1(C₁)的耗氧速率,单位为毫克每升小时[mg/(L·h),以 O₂计];

R_{C₂}——对照组 2(C₂)的耗氧速率,单位为毫克每升小时[mg/(L·h),以 O₂计]。

按上述公式计算每一试验浓度的抑制百分率,在对数-正态(或对数-概率)纸上绘制抑制百分率对浓度的曲线,计算出 EC₅₀。

EC₅₀ 值的 95% 置信限可用标准程序计算求得。鉴于结果的可变性,推荐用量级大小表示试验结果,例如小于 1 mg/L,1 mg/L~10 mg/L,10 mg/L~100 mg/L 等。

8.2 结果报告

试验报告应包括以下内容:

a) 受试物:

——化学特性鉴别数据。

b) 试验条件:

——接种物:状态和取样地点,浓度和预处理方式;

——试验周期与温度;

——受试物和参比物的 EC₅₀;

——非生物耗氧量(若存在)。

c) 结果:

——测量数据;

——呼吸抑制曲线和 EC₅₀ 计算方法;

——EC₅₀(有条件,提供 95% 置信限)、EC₂₀ 和 EC₈₀;

——所有观测结果以及任何偏离本方法并可能影响试验结果的情况。

d) 结果讨论。

参 考 文 献

- [1] International Standard ISO/TC 147/SC 5/WC 1, N53 No. D (1981)
 - [2] B. Broecker and R. Zahn, Water Research 11, 165 (1977)
 - [3] D. Brown, H. R. Hitz and L. Schaefer, Chemosphere 10, 245 (1981)
 - [4] ETDA (Ecological and Toxicological Association of Dyestuffs Manufacturing Industries)
 - [5] B. Robra, Wasser/Abwasser 117, 80 (1976)
 - [6] W. Schefer, Textilveredlung 6, 247 (1977)
-