



中华人民共和国国家标准

GB/T 13277.7—2021

压缩空气 第7部分：活性微生物含量测量方法

Compressed air—
Part 7: Test method for viable microbiological contaminant content

(ISO 8573-7:2003, MOD)

2021-12-31 发布

2022-07-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

目 次

前言 III

引言 IV

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 通过部分流量取样确定活性微生物存在的方法 2

5 工况条件 2

6 活性菌落微生物的确定 2

7 试验报告 3

附录 A（规范性） 定量取样方法 4

附录 B（资料性） 内毒素取样 6

附录 C（资料性） 带培养基的皮氏培养皿的准备 7

附录 D（资料性） 压缩空气中活性微生物数量的测量——取样试验报告 8

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是 GB/T 13277《压缩空气》的第7部分。GB/T 13277 已经发布了以下部分：

- 第1部分：污染物净化等级；
- 第2部分：悬浮油含量测量方法；
- 第3部分：湿度测量方法；
- 第4部分：固体颗粒测量方法；
- 第5部分：油蒸气及有机溶剂测量方法；
- 第6部分：气态污染物含量测量方法；
- 第7部分：活性微生物含量测量方法。

本文件修改采用 ISO 8573-7:2003《压缩空气 第7部分：活性微生物含量测量方法》。

本文件与 ISO 8573-7:2003 相比做了下述结构调整：

- 按附录在正文中所处位置的前后顺序更改附录的顺序。

本文件与 ISO 8573-7:2003 的技术性差异及其原因如下：

- 用规范性引用的 GB/T 13277.1 替换了 ISO 8573-1(见第7章)，两个文件之间的一致性程度为修改，以适应我国的技术条件、增加可操作性；
- 用规范性引用的 GB/T 13277.4 替换了 ISO 8573-4(见第4章和第7章)，两个文件之间的一致性程度为修改，以适应我国的技术条件、增加可操作性。

本文件做了下列编辑性改动：

- 更改了第1章范围的叙述方式和内容，以符合 GB/T 1.1—2020 的规定；
- 用资料性引用的 GB/T 13277.1 替换了 ISO 8573-1(见第1章)；
- 用资料性引用的 GB/T 13277.4 替换了 ISO 8573-4(见第1章和附录D)；
- 更改附录D的“参考工况”为“标准状态”，以便和 GB/T 13277 的其他部分规定一致。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国机械工业联合会提出。

本文件由全国压缩机标准化技术委员会(SAC/TC 145)归口。

本文件起草单位：合肥通用机械研究院有限公司、广东太安伊侨能源设备有限公司、广州市汉粤净化科技有限公司、中山市凌宇机械有限公司、合肥通用机电产品检测院有限公司、重庆鲍斯净化设备科技有限公司。

本文件主要起草人：李金禄、王开锋、任芳、王合广、邢志胜、严文学、陈德祥、瞿赠名。

引 言

经压缩机压缩产生的压缩空气中存在各种污染物,主要包括颗粒、水、油、气态污染物和活性微生物等,这些污染物在不同的用气场合会产生各种不良影响。为了适应压缩空气净化设备的发展、满足压缩空气用气设备的需求,制定压缩空气质量测量方法标准已经成为压缩空气净化领域的重要任务。GB/T 13277 旨在确立普遍适用于压缩空气各类污染物的测量方法,拟由九个部分构成。

- 第1部分:污染物净化等级。目的在于对压缩空气中各类污染物进行说明,并提出各类污染物的描述方法。
- 第2部分:悬浮油含量测量方法。目的在于为压缩空气中悬浮油含量的测量提供可操作、可靠性高的测量方法。
- 第3部分:湿度测量方法。目的在于为压缩空气中气态水含量的测量提供可操作、可靠性高的测量方法。
- 第4部分:固体颗粒测量方法。目的在于为压缩空气中固体颗粒计数浓度的测量提供可操作、可靠性高的测量方法。
- 第5部分:油蒸气及有机溶剂测量方法。目的在于为压缩空气中油蒸气等污染物浓度的测量提供可操作、可靠性高的测量方法。
- 第6部分:气态污染物含量测量方法。目的在于为压缩空气中一氧化碳、二氧化碳等气态污染物浓度的测量提供可操作、可靠性高的测量方法。
- 第7部分:活性微生物含量测量方法。目的在于为压缩空气中活性微生物含量的测量提供可操作、可靠性高的测量方法。
- 第8部分:固体颗粒质量浓度测量方法。目的在于为压缩空气中固体颗粒质量浓度的测量提供可操作、可靠性高的测量方法。
- 第9部分:液态水含量测量方法。目的在于为压缩空气中液态水含量的测量提供可操作、可靠性高的测量方法。

压缩空气

第7部分：活性微生物含量测量方法

1 范围

本文件规定了确定活性微生物(如：酵母菌、细菌、内毒素)存在并对其取样、培养以及确定其数量的试验方法。

本文件适用于根据 GB/T 13277.1 评定净化等级，也适用于结合 GB/T 13277.4 来确定固体颗粒中的活性菌落形成单元。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 13277.1 压缩空气 第1部分：污染物净化等级(GB/T 13277.1—2008, ISO 8573-1:2001, MOD)

GB/T 13277.4 压缩空气 第4部分：固体颗粒测量方法(GB/T 13277.4—2015, ISO 8573-4:2001, MOD)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

微生物 microbiological organisms

有能力形成活性菌群的颗粒。

注：这些可以被认定为细菌、酵母菌或真菌。

3.2

活性微生物数量 number of viable micro-organisms

有新陈代谢活动潜能的微生物数量。

3.3

可培养数量 culturable number

能在固体营养培养基上形成菌落的聚集体、单细胞或微生物的数量。

3.4

菌落形成单位 colony-forming unit

CFU

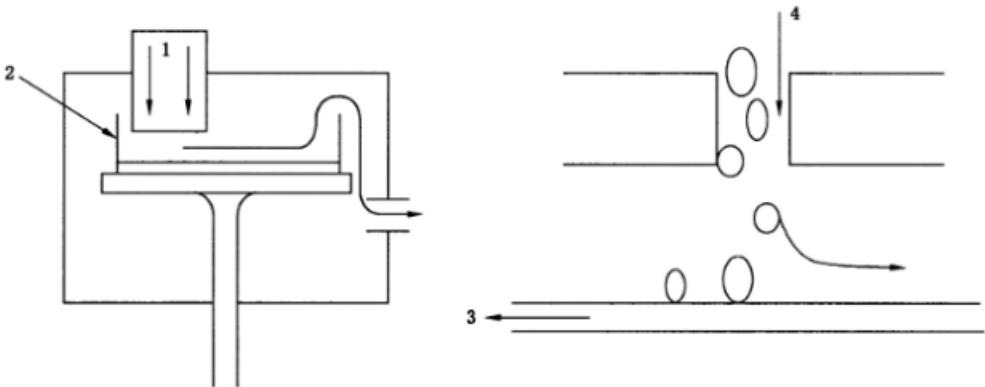
表示可培养数量的单位。

4 通过部分流量取样确定活性微生物存在的方法

确定活性微生物存在的方法就是把琼脂营养物暴露在压缩空气样品中。定量分析可采用附录 A 提供的取样方法。内毒素取样见附录 B。带有琼脂培养基的培养皿的详细准备方法见附录 C。

部分流量取样时,应结合 GB/T 13277.4 中给出的方法使用一个缝隙式取样器(一种撞击式空气测试器)(见图 1)。应对空气进行等动力取样,直到取样量达到取样器制造厂规定的范围内时才可停止取样。应根据制造商的建议或按 GB/T 13277.4 将压力降到大气压条件下,并需要进行流量测量。应在测量流量时同时记录琼脂暴露于压缩空气样品气的时间。

为了能够从微生物中辨别出非微生物,测试应在 4 h 内完成。



标引序号说明:

- 1——空气入口;
- 2——旋转琼脂培养皿;
- 3——空气出口;
- 4——空气。

图 1 缝隙式取样器

应消除液体对颗粒大小和数量的影响,以便得到准确的读数。为了避免影响微生物的活性,不要用加热或干燥空气的方法来减低水的影响,这样反而不合适。

应适当考虑水以外的其他液体的影响。

5 工况条件

实际工况条件应在试验报告中描述清楚(见附录 D)。

6 活性菌落微生物的确定

按 A.3 的规定将样品在琼脂营养物上培养后,应能在琼脂营养物表面直观的检查到并确定活性微生物群落的存在。

7 试验报告

假如证实在固体颗粒中存在活性微生物菌群,在根据 GB/T 13277.4 描述固体颗粒的说明之后,应在试验报告中补充说明这些内容。

“压缩空气符合 GB/T 13277.1 的无菌要求”的叙述后应包含如下内容:

——“无菌”或“有菌”;

——取样日期;

——测试日期;

——地点。

附录 D 提供了样品试验报告格式。

附 录 A
(规范性)
定量取样方法

A.1 采用缝隙式取样器取样(见图 1)**A.1.1 原理**

采用缝隙式取样器(撞击式空气测试器)获取有机微生物的原理既简单又可靠。从压缩空气装置来的空气先通过一特别设计的连接管,然后加速通过一窄缝隙流向潮湿的琼脂表面。由于重量的作用,微生物降落到琼脂表面,而空气分子转向流走。经过适当培养,有机微生物繁殖成菌群,根据一个有机微生物产生一个菌群的假定来记录细菌总数。

缝隙式取样器可以用于细菌、酵母菌、真菌的取样,采用特殊方法还可以用于病毒和抗菌素的取样。因为当一个大琼脂表面(如,140 mm 的皮氏培养皿)在一个径向定位的缝隙(0.5 mm)下旋转时,就可以计算出大量菌落,即有机体。

A.1.2 灭菌技术

取样方法包括采用无菌技术。宜使用消毒剂,例如 70%浓度的乙醇。当不使用(储存)缝隙式取样器时,应采取预防措施,避免装置中微生物的生长。打开试验设备的所有操作应当在最短时间内进行,以避免污染物可能从外部环境进入。此外,还应当采取措施防止通风的影响。

A.2 取样步骤

应按下列步骤进行取样:

- a) 在使用取样设备前立即用合适的清洁剂进行消毒以保证所有取样装置都处于无菌状态,包括管道和软管。
- b) 在未安装皮氏培养皿和琼脂情况下,让试验样品气通过取样设备和相关的管子、软管。这样做的目的是为了让消毒剂蒸发以及调整缝隙式取样器。
- c) 在实际试验的前、后,不启动缝隙式取样器,按步骤 d)~f) 进行盲测。所用的培养皿内不应在随后出现增长。
- d) 取出 14 cm 的装有琼脂的皮氏培养皿。应在其底部贴上可追溯信息(日期、开始时间、试验地点、代码等)的标签。标明开始位置和转向。
- e) 确定缝隙式取样器的空气进口和水平指示器都打开。提起缝隙式取样器的盖子,保证托盘固定架正确安置在微动开关位置。用消毒垫擦拭缝隙式取样器内侧。
- f) 把皮氏培养皿插入缝隙式取样器,让其敞开,以致径向线直接位于空气进口缝隙下。取下的盖子放入无菌塑料袋中。
- g) 取下皮氏培养皿盖子后要迅速更换缝隙式取样器的盖子。
- h) 松开水平指示器并仔细将其降低到琼脂表面上。降低空气进口,使指示箭头直接指向槽道的下边缘。再次将水平指示器升至其上部位置并锁紧。
- i) 启动后开始自动取样。记录下开始时间、取样时间、试验地点以及其他可能影响试验结果的情况或情况。
- j) 当指示灯关闭时,取样结束。当取样设备关闭时,升高空气进口。
- k) 松开并小心地提起缝隙式取样器的盖子,同时把放在无菌塑料袋中的盖子取出并盖在皮氏培

养皿上。应小心操作该过程,以免影响或破坏琼脂和样品。

- l) 把皮氏培养皿从取样装置中取出,并盖上缝隙式取样器。用胶带封住皮氏培养皿,并把它放入无菌袋中,再用胶带封住无菌袋。
 - m) 把皮氏培养皿放在适当的温度环境下进行培养,经过一段时间培养后对其进行观察。见 A.3。在琼脂的中部以及边缘表面应没有菌落。
- 注:开始/结束管线中可能含有“额外”菌群。
- n) 移动托盘固定架的活动臂通过微动开关到新的启动位置。
 - o) 用消毒垫擦拭缝隙式取样器内部。盖好缝隙式取样器的盖子。
 - p) 进行新一轮取样时,从头重新开始这些步骤。

从用琼脂填满皮氏培养皿的制造商到取样点再到实验室的整个过程中,都使用相同的运输方式并对皮氏培养皿进行“地理上”的追踪,以确保能够在污染后进行非预期检查。培养皿随后不应出现菌落生长。

A.3 活性有机污染物的培养

一般来讲,最合适的培养温度是接近取样前活性微生物所处环境的温度。嗜温菌或真菌应当在 20℃~30℃ 温度范围培养。对于特殊的嗜热菌,可能需要其他温度。真菌通常要培养 14 d 以上,而这些嗜温菌通常要培养 2 d~14 d。可以考虑其他培养温度。

选择性培养基(琼脂)可以用来隔离不同细菌,例如,革兰氏阴性肠杆菌;应在给定时间周期内(例如:24 h)计数。

A.4 可培养数量的测量

可在培养开始后 24 h 检查非选择性培养基并计算生长情况,然后每隔 24 h 重新计数一次,持续 10 d~14 d。在培养期间应定期观察,以便当菌群出现时进行计数和记录,也可避免菌群过度成长引起计数误差。

附录 B

(资料性)

内毒素取样

B.1 概述

对压缩空气进行内毒素取样是一项艰难的工作,不仅需要洁净的塑料管和玻璃瓶,还需要操作人员有一定技术和经验。然而,通过测量压缩空气冷凝液中革兰氏阴性肠杆菌的数量就有可能确定压缩空气中内毒素的存在。

同时,还应当对冷凝物中的细菌、真菌或酵母数量进行补充测量。

B.2 取样程序

警告——存在压缩空气中的几纳克内毒素(革兰氏阴性肠杆菌产生的废物)就可能导致疾病。

应按照下列程序测量冷凝液中的革兰氏阴性肠杆菌。应一直保持无菌操作。应使用带有适当琼脂培养基的蘸棒。测试点应是压缩空气系统中待检测的便于收集冷凝液的点。应按下列顺序进行取样:

- a) 取样前用 70%浓度的乙醇溶液对试验点消毒。
- b) 取下附有载玻片的小瓶盖,载玻片上涂有琼脂培养基。
- c) 从测试点直接取冷凝液样品放入无菌小瓶中。
- d) 把附有载玻片的盖子浸入样品 10 s。琼脂基表面要与样品直接接触。
- e) 在大约 3 s 内缓慢地从样品中取出载玻片。
- f) 把小玻璃瓶中的液体排掉。
- g) 培养后,小心地把载玻片放回小玻璃瓶内。在这一阶段,装有载玻片的小玻璃瓶可以储存或运输数小时而不会影响结果。切勿冷冻装有样品载玻片的小玻璃瓶。
- h) 将载玻片在 27 °C 的温度下培养 14 d。如果微生物成长比较慢,培养周期可以延长到一个月。
- i) 培养结束后,小心地把载玻片从小玻璃瓶中取出。根据制造商的说明检验生长和颜色反应。

细菌、酵母和真菌的可接受水平为 10 000 CFU/mL 冷凝液。如果冷凝液中发现一个革兰氏阴性肠杆菌,那么压缩空气中存在内毒素,就应清洗和消毒装置的湿润部分。

附 录 C

(资料性)

带培养基的皮氏培养皿的准备

以下步骤对培养基、装有琼脂和 4% 葡萄糖的沙博罗的计量皿都适用。

- a) 按制造厂规定的质量称取培养基,并溶解在水中。
- b) 在 121 ℃ 的温度下对培养基进行高压灭菌 15 min。
- c) 冷却到 50 ℃ 后,测 pH 值;如有必要,可以用盐酸或氢氧化钠,把 pH 值调整到规定值。
- d) 使用无菌的 14 cm 的塑料皮氏培养皿,每一个培养皿内倒入 65 mL 的培养基。
- e) 当培养基冷却变硬后,将皮氏培养皿装入 2 个无菌塑料袋内:
 - 1) 第一个塑料袋采用简单的双折叠封口;
 - 2) 第二个塑料袋一定要采用热融化方法封口。
- f) 在培养皿上贴上填有日期、内容和批号信息的标签。

附 录 D

(资料性)

压缩空气中活性微生物数量的测量——样品试验报告

按照 GB/T 13277.4 确定出压缩空气中固体颗粒含量后,再将从压缩空气系统中取出的样品空气中检测出的不同于这些固体颗粒的活性微生物数量记录在表格式试验报告(见表 D.1)上。

注:关于琼脂培养基的信息见 A.3。

表 D.1 样品试验报告

_____的实际值,平均测量值(见附录 A)	
有机微生物	CFU/m ³ (标准状态)*
细菌	100
酵母菌	14
真菌	未发现
内生菌	50
测试时压力	MPa
关于适用的不确定度说明……	
校准记录日期	年/月/日
* 标准状态: ——温度:20 ℃; ——压力:0.1 MPa(a); ——相对湿度在此处不影响体积。	