

· 调查与评价 ·

海南红沙港海水中细菌污染调查与评价

朱白婢¹, 陈宏², 李春强¹, 何非², 刘志昕¹, 彭明¹

(1 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 热带作物生物技术国家重点实验室, 海南 海口 571101; 2 海南南海热带海洋生物及病害研究所, 海南 陵水 572426)

摘要: 于 2006 年 4—6 月在红沙港海域进行了四个航次调查, 对海域中 5 个站位的海水样品进行了细菌学检测。结果表明, 四个航次海水粪大肠杆菌群超标率最高为 40%, 异养细菌总数超标率均达 60% 以上。四个航次海水粪大肠杆菌单项污染指数平均值分别为 0.755、1.792、2.215 和 0.578, 异养细菌总数单项污染指数平均值分别为 1.54、2.73、24.04 和 6.11。生物统计学分析显示, 粪大肠杆菌群与异养细菌总数存在一定的正相关关系, 其相关系数 $r^2 = 0.4399$ 。红沙港海水已受到粪大肠杆菌和异氧细菌污染。

关键词: 异养细菌; 粪大肠杆菌; 水污染指数; 红沙港

中图分类号: X826 文献标识码: B 文章编号: 1006-2009(2007)01-0019-03

Investigation and Assessment of Bacterial Pollution in Seawater of Hong Sha Harbor of Hainan Province

ZHU Bai-bi¹, CHEN Hong², LI Chun-qiang¹, HE Fei², LU Zhixin¹, PENG Ming¹

(1 State Key Laboratory of Tropical Crop Biotechnology, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China; 2 South China Sea Institute of Tropical Marine Biology and Disease, Lingshui, Hainan 572426, China)

Abstract Bacteria were detected from seawater samples collected in 5 coastal areas at 4 voyage investigations during the period from April to June in 2006 on the sea area of Hong Sha harbor. The results indicated that highest rate of over permitted standard of clone formula unit (cfu) of fecal coliform reaches 40% and the rate of permitted standard of heterotrophic bacteria goes over 60%. The average value of contamination index of fecal coliform were 0.755, 1.792, 2.215, 0.578 respectively, and that of heterotrophic bacteria were 1.54, 2.73, 24.04, 6.11 in the seawater samples of the 4 voyage. Bio-statistical analysis indicated a positive correlation between the clone formula unit (cfu) of coliform bacteria and the number of heterotrophic bacteria, and the coefficient was $r^2 = 0.4399$. That means coastal seawater of the harbor has already been contaminated by both fecal coliform and heterotrophic bacteria.

Key words Heterotrophic bacteria; Fecal coliform; Water contamination index; Hong Sha harbor

红沙港地处于三亚市榆林内港, 是三亚目前最重要的渔港。该港的面积约 4 km^2 , 海水体积约 $1200 \text{ 万 m}^3 \sim 1600 \text{ 万 m}^3$ 。2002 年海南省海洋环境状况公报指出, 三亚红沙港海水增殖区局部水域的水质劣于国家二类海水水质标准, 超标面积为 3 km^2 。因此调查与评价红沙港海水中细菌污染状况, 对了解红沙港水质, 有效地控制其污染物的产生和排放具有重要意义。

1 调查方法

1.1 采样时间与站位

于 2006 年 4—6 月进行了四个航次调查, 在红

收稿日期: 2006-08-09 修订日期: 2006-12-24

基金项目: 科研院所社会公益研究专项基金资助项目 (2004DIB3J074)

作者简介: 朱白婢 (1982—), 女, 福建三明人, 硕士, 从事海洋赤潮研究。

沙港 18°13'22"N ~ 18°14'59"N, 109°32'49"E ~ 109°34'18"E 的范围内共设了 5 个站点。站点设置见图 1。



图 1 红沙港采样站位

1.2 水样的采集和处理

按照文献 [1] 中规定的方法, 采集 0.5 m 表层海水样品, 采集后立即冷冻保存。从样品的采集到处理时间不超过 6 h。

1.3 培养基制备

(1) 乳糖蛋白胨培养基: 蛋白胨 10 g 牛肉膏 3 g 乳糖 5 g NaCl 5 g 1.6% 溴甲酚紫乙醇溶液 1 mL 蒸馏水 1 000 mL; pH 值 7.2~7.4

(2) EC 培养基: 胰蛋白胨 20 g 乳糖 5.0 g 3 号胆盐 1.5 g 磷酸氢二钾 4.0 g 磷酸二氢钾 1.5 g 氯化钠 5.0 g 蒸馏水 1 000 mL; pH 值约 6.9

(3) ZoBell“2216E”培养基: 蛋白胨 5.0 g 硫酸高铁 0.01 g 酵母膏 1.0 g 琼脂 15.0 g 蒸馏水 1 000 mL; pH 值 7.6~7.8

1.4 检测方法步骤

1.4.1 异养细菌总数采用平板计数法^[1]

将水样稀释成不同梯度, 分别吸取 0.1 mL 水样, 在 ZoBell“2216E”平板上用涂布法接种, 每个梯度做 3 个平行, 于 25 °C 培养 7 d 计数。

1.4.2 粪大肠杆菌采用初发酵和复发酵法^[1]

初发酵实验: 将水样稀释成 3 种梯度, 等量吸取 1 mL 水样, 分别加入 5 支盛有乳糖蛋白胨培养基的试管中, 于 44 °C 培养 24 h, 产酸产气及只产酸的发酵管为阳性。

复发酵实验: 将阳性管转接入 EC 培养液中, (44 ± 0.5) °C, 培养 (24 ± 2) h, 在此期间内所得的产气阳性管即证实有粪大肠杆菌存在。

1.5 分析指标

1.5.1 各站点异养细菌总数和粪大肠杆菌群数

1.5.2 单站污染指数

I_{e-coli} 为各站检测到的粪大肠菌群近似数与海水水质标准中粪大肠菌群数之比; $I_{heter-bac}$ 为各站检测到的异养细菌总数与海水水质标准中异养细菌总数之比。

1.5.3 综合污染指数

I_{e-coli} 与 $I_{heter-bac}$ 的平均值。

1.5.4 细菌超标率

按标准进行统计。

1.5.5 相关系数

计算异养细菌和粪大肠杆菌群之间的相关关系。

1.6 评价标准

《海水水质标准》(GB 3097-1982) 中二类标准。

2 结果分析

2.1 红沙港各站点粪大肠杆菌群数和异养菌总数

第一至四航次各站点粪大肠杆菌群数见图 2。

第一至四航次各站点异养细菌总数见图 3。

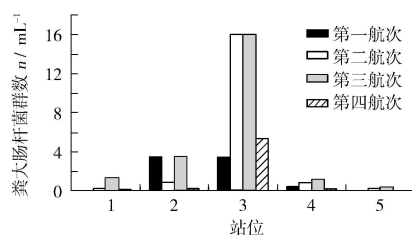


图 2 四个航次各站点粪大肠杆菌群数

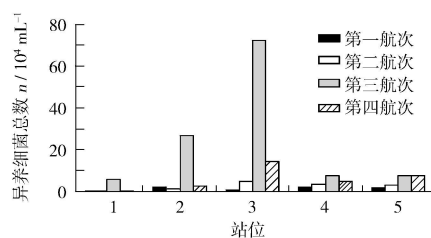


图 3 四个航次各站点异养细菌总数

由图 2 和图 3 可见, 粪大肠杆菌群数第一航次以 2 号和 3 号站点最高, 第二、三和四航次以 3 号站点最高; 异养细菌总数除第一航次最高值出现在 2 号站, 其他航次都是以 3 号站点最高。

2.2 水质细菌学超标状况

海水水质细菌学超标状况见表 1。

由表 1 可见, 四个航次表层海水粪大肠菌群超标率最低为 20%, 最高为 40%, 异养细菌总数超标率均达 60% 以上。

表 1 海水水质细菌学超标状况

项目	粪大肠杆菌菌群数			异养细菌总数		
	范围 n/mL^{-1}	均值 n/mL^{-1}	超标率 %	范围 n/mL^{-1}	均值 n/mL^{-1}	超标率 %
第一航次	0.02~3.50	1.51	40	4.700~24.500	15.400	60
第二航次	0.17~16.00	3.58	20	6.200~48.000	27.280	80
第三航次	0.25~16.00	4.43	40	57.000~722.000	240.800	100
第四航次	0.02~5.40	1.16	20	4.000~146.000	61.100	80

2.3 海水细菌学污染指数

海水细菌学单站污染指数见表 2, 海水细菌学综合污染指数见表 3。

由表 2 可见, 第一航次中的 2、3 号站, 第二航次中的 3 号站, 第三航次中的 2 和 3 号站, 第四航次中的 3 号站表层海水粪大肠杆菌均超标 (污染指数大于 1), 其余站位都 < 1, 全港该指数的平均

值第一、二、三和四航次分别为 0.755、1.792、2.215 和 0.578; 异养细菌总数单项污染指数除第一航次中的 1、3 号站, 第二航次中的 1 号站, 第四航次中的 1 号站没有超标, 其余站位均超标。该项指数全港的平均值分别为 1.54、2.73、24.04 和 6.11。

表 2 海水细菌学单站污染指数

站位	第一航次		第二航次		第三航次		第四航次	
	I_{e-coli}	$I_{heter-bac}$	I_{e-coli}	$I_{heter-bac}$	I_{e-coli}	$I_{heter-bac}$	I_{e-coli}	$I_{heter-bac}$
1	0.010	0.47	0.085	0.62	0.650	5.70	0.025	0.40
2	1.750	2.45	0.395	1.48	1.750	27.00	0.070	2.60
3	1.750	0.80	8.000	4.80	8.000	72.20	2.700	14.60
4	0.245	2.23	0.395	3.73	0.550	7.60	0.085	5.20
5	0.020	1.75	0.085	3.01	0.125	7.90	0.010	7.75
全港平均值	0.755	1.54	1.792	2.73	2.215	24.04	0.578	6.11

表 3 海水细菌学综合污染指数

站位	第一航次	第二航次	第三航次	第四航次
1	0.24	0.35	3.18	0.21
2	2.10	0.94	14.38	1.34
3	1.28	6.40	40.10	8.65
4	1.24	2.06	4.08	2.64
5	0.89	1.55	4.01	3.88
全港平均值	1.15	2.26	13.15	3.34

2.4 粪大肠杆菌群和异养细菌总数的相关性关系
粪大肠杆菌与异养细菌相关性分析见图 4。

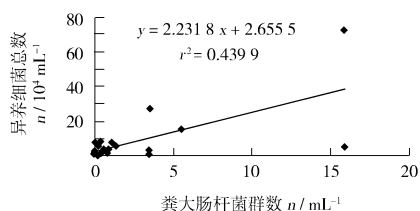


图 4 粪大肠杆菌与异养细菌相关性分析

由图 4 可见, 粪大肠杆菌群与异养细菌总数存在一定的正相关关系, 其相关系数 $r^2 = 0.4399$ 。

3 结论和讨论

(1) 对于异养细菌总数和粪大肠杆菌群在其他海域也有类似的研究^[2-6]。异养细菌对于海洋沉积物的矿化及水质环境的改善起着至关重要的作用, 它通过分解海水中的有机物质而获得能量, 同时消耗海水中的溶解氧, 因此在受有机污染较严重的海域中, 异养细菌数总是较高的^[7]。

研究发现, 异养细菌最高值几乎都出现在 3 号站位, 且污染指数均 > 1。它的单项污染指数最大值出现在第三航次的 3 号站位, 达到了 72.2。全港平均该项污染指数四航次分别为 1.54、2.73、24.04、6.11。表明红沙港海水已明显受到异养细菌的污染, 其中 3 号站位污染最严重。这可能与 3 号站位附近有较集中的渔排养殖区和餐馆排放的污水有关。

(下转第 27 页)

列。总氮工作曲线在 $0.03 \text{ mg/L} \sim 3.0 \text{ mg/L}$ 之间线性关系良好, 回归方程为 $A = 0.2375C + 0.0031$, 相关系数 $r = 0.9995$ 。总磷工作曲线在 $0.01 \text{ mg/L} \sim 2.0 \text{ mg/L}$ 之间线性关系良好, 回归方程为 $A = 0.3796C + 0.0016$, 相关系数 $r = 0.9996$ 。
2.6 检出限

对试剂空白进行 11 次平行测定, 按 3 倍空白值的标准偏差计算总氮、总磷的检出限分别为 0.03 mg/L 、 0.01 mg/L 。

2.7 准确度

按照试验方法, 将国家环保总局标准样品研究所的环境标准样品配制成总氮、总磷混合标样, 测定结果见表 1。

表 1 标样测定结果 ($n = 5$)

标样	标准值	测定均值	相对标准
	$\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	偏差 / %
TN-203214	1.49 ± 0.09	1.52	1.5
TP-203924	0.634 ± 0.028	0.617	1.2

2.8 样品测定

采集的水样经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后调节至中性, 按试验方法测定。水样测定与加标回收试验结果见表 2。

(上接第 21 页)

粪大肠杆菌群数可以作为水体受粪便污染的指标。第一航次粪大肠杆菌单站污染指数全港平均值为 0.755 , 第二航次平均值为 1.792 , 第三航次平均值为 2.215 , 第四航次平均值为 0.578 , 说明红沙港整体水质受到粪大肠杆菌群污染。

(2) 生物统计分析显示, 粪大肠杆菌群数高的站位对应的异养细菌总数也高, 粪大肠杆菌群数少的站位对应的异养细菌总数也少, 其相关系数 $R^2 = 0.4399$, 粪大肠杆菌群与异养细菌总数存在一定的正相关关系。

(3) 综合污染指数表明, 第一、二和四航次指数值相差不大, 比较稳定且均已超标。最大值出现在第三航次, 达 13.15 , 比其他航次高几倍甚至十几倍。说明此航次调查时海水已受到严重污染。

(4) 红沙港的水质污染主要来自港内分布着大面积养殖区和沿岸人为的影响, 加上红沙港特殊

表 2 水样测定与加标回收试验结果

水样	总氮			总磷		
	测定值 $\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	加标量 $\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	加标回收率 / %	测定值 $\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	加标量 $\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	加标回收率 / %
1	0.236	0.2	103	0.032	0.5	102
2	1.295	0.2	102	0.117	0.5	101
3	1.622	0.2	101	0.124	0.5	99.2
4	2.675	0.2	96.7	0.475	0.5	98.8

3 结论

利用微波联合消解水样, 采用流动注射分析技术在线测定水中总氮、总磷, 不仅操作简便、快速、省时、省试剂, 而且方法的准确度和精密度均能达到分析要求。

[参考文献]

- [1] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [2] 方肇伦. 流动注射分析法 [M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [3] 林培喜, 安晓春. 微波消解联合测定水中总磷总氮 [J]. 中国给水排水, 2004(3): 95.
- [4] 刘辉利, 纪锐琳. 地表水总氮总磷联合消解测定方法的研究 [J]. 干旱环境监测, 2005(2): 66.
- [5] 李飞, 王丽. 联合测定水中总磷和总氮 [J]. 环境监测管理与技术, 2004, 16(5): 29-30.

的地理位置, 水体交换不好, 使其水质进一步恶化, 严重影响了红沙港的生态环境。因此, 要有效地控制污染物的产生和排放, 保持该港水质不低于二类海水水质标准。

[参考文献]

- [1] 国家海洋局. 海洋监测规范 [M]. 北京: 海洋出版社, 1991.
- [2] 焦俊鹏, 章守宇, 杨红, 等. 杭州湾粪大肠杆菌和异养细菌的分布特征及其环境因子 [J]. 上海水产大学学报, 2000, 19(3): 209-213.
- [3] 马宁, 肖利红. 不同污染指示菌对河流的细菌学评价 [J]. 环境监测管理与技术, 2002, 14(1): 24-26.
- [4] 王文琪, 钱振儒. 胶州湾水域异养细菌、大肠菌群和石油降解的生态分布 [J]. 海洋科学, 2000, 24(1): 37-39.
- [5] 吕琦, 陈元江. 快速测定地表水中粪大肠菌群 [J]. 环境监测管理与技术, 2003, 15(6): 37.
- [6] 沈杰, 刘效农. 影响大肠菌群革兰氏染色的几个因素 [J]. 环境监测管理与技术, 2001, 13(4): 36.
- [7] 薛延耀编译. 海洋细菌学 [M]. 北京: 科学出版社, 1962.