

十管发酵法测定水中总大肠菌群

谢嵘

(淮北市环境保护监测站,安徽 淮北 235000)

中图分类号: X835

文献标识码: B

文章编号: 1006-2009(2008)04 - 0066 - 02

目前,测定水中总大肠菌群多用国际上流行的多管发酵法,我国常用 15 管或 12 管发酵^[1],工作量较大,消耗原材料较多。今通过试验建立了十管发酵法(简称该方法),原理与多管发酵法相同,比五管发酵法^[2]的准确度高,适用于生活饮用水、水源水、地表水和废水中总大肠菌群的测定。

1 试验

1.1 培养基^[1]

单倍和 3 倍乳糖蛋白胨培养液,品红亚硫酸钠或伊红美蓝培养基。

1.2 试验步骤

1.2.1 水样接种体积

每个样品用两种不同的水样体积接种,每种水样体积接种 5 管。将水样充分混匀后,根据污染程度确定接种体积。生活饮用水接种体积为 100 mL、10 mL;水源水和清洁地表水接种体积为 10 mL、1 mL;污染地表水和废水接种体积为 1 mL、0.1 mL。水样污染严重时,稀释倍数应更高。

接种体积为 100 mL 时,试管内应装有 3 倍乳糖蛋白胨培养液 50 mL;接种体积为 10 mL 时,试管内应装有 3 倍乳糖蛋白胨培养液 5 mL;接种体积为 1 mL 或更低时,试管内应装有单倍乳糖蛋白胨培养液 10 mL。

1.2.2 初发酵试验

将水样分别接种在盛有乳糖蛋白胨培养液的发酵管(内有倒管)中,于 37℃ 培养 24 h。

1.2.3 平板分离

经初发酵试验培养 24 h 后,将产酸产气或只产酸发酵管分别接种于品红亚硫酸钠或伊红美蓝培养基上,置 37℃ 恒温箱内培养 18 h~24 h。挑选品红亚硫酸钠培养基上具有紫红色且有金属光泽,深红色、淡红色且中心色较深的菌落,以及伊红美蓝培养基上具有深紫黑色且有金属光泽,紫黑

色、淡紫红色且中心色较深的菌落^[1],分别涂片、革兰氏染色、镜检。

1.2.4 复发酵试验

将镜检为革兰氏阴性无芽胞杆菌的菌落再接种于单倍乳糖蛋白胨培养液中(内有倒管),每管可接种分离于同一发酵管的最典型菌落 1~3 个,置 37℃ 恒温箱内培养 24 h,有产酸产气者证明试验阳性。

1.2.5 计算

根据水样类别及不同接种发酵管所表现的阳性结果,较清洁生活饮用水由表 1、表 2 查得相应的大肠菌群数,受污染的生活饮用水和非生活饮用水由表 1、表 3 查得相应的大肠菌群数。若水样经过稀释,则应将稀释后的测定结果予以换算。

表 1 十管发酵法总大肠菌群检数(1)

出现阳性份数	10 mL	0	0	0	0	0	0	1
	1 mL	0	1	2	3	4	5	0
菌群数 MPN/100 mL			2	4	11	14	18	3
出现阳性份数	10 mL	1	1	1	1	1	2	2
	1 mL	1	2	3	4	5	0	1
菌群数 MPN/100 mL		5	6	18	24	30	7	8
出现阳性份数	10 mL	2	2	2	2	3	3	3
	1 mL	2	3	4	5	0	1	2
菌群数 MPN/100 mL		9	12	52	70	10	12	15
出现阳性份数	10 mL	3	3	4	4	4	4	4
	1 mL	4	5	0	1	2	3	4
菌群数 MPN/100 mL			15	19	24	30	34	
出现阳性份数	10 mL	4	5	5	5	5	5	5
	1 mL	5	0	1	2	3	4	5
菌群数 MPN/100 mL								

再接种水样 100 mL,接种 5 管,由表 2 查得试验结果;再接种水样 0.1 mL,接种 5 管,由表 3 查得试验结果。

收稿日期: 2007 - 11 - 12;修订日期: 2008 - 04 - 16

作者简介:谢嵘(1972—),女,安徽肖县人,高级工程师,学士,从事环境监测工作。

表 2 十管发酵法总大肠菌群检数 (2)

出现阳性份数	100 mL	0	1	2	3	4	5
菌群数 MPN/100 mL		0	3	7	10	15	34

表 3 十管发酵法总大肠菌群检数 (3)

出现阳性份数	1 mL	0	0	0	0	0	0	1	1	1
	0.1 mL	0	1	2	3	4	5	0	1	2
菌群数 MPN/100 mL		23	34	43	110	145	175	33	46	63
出现阳性份数	1 mL	1	1	1	2	2	2	2	2	2
	0.1 mL	3	4	5	0	1	2	3	4	5
菌群数 MPN/100 mL		178	240	310	49	70	94	120	530	690
出现阳性份数	1 mL	3	3	3	3	4	4	4	4	4
	0.1 mL	0	1	2	3	0	1	2	3	4
菌群数 MPN/100 mL		79	110	140	180	130	170	230	280	350
出现阳性份数	1 mL	5	5	5	5	5			5	
	0.1 mL	0	1	2	3	4			5	
菌群数 MPN/100 mL		240	350	540	920	1600	2 400, 做更高倍数稀释			

对于受污染严重、需作更高倍数稀释的生活饮用水和非生活饮用水,先查表求得 MPN 指数,再由下式换算。该式也适用于不需作更高倍数稀释的生活饮用水和非生活饮用水。

MPN 值 = MPN 指数 × 10 (mL) / 最大管的接种体积 (mL)

2 样品测定

取不同水样,采用多管发酵法^[1]与该方法作对照试验。生活饮用水与非生活饮用水的测定结果比较分别见表 4、表 5。

表 4 生活饮用水测定结果比较

水样	12管发酵法			该方法		
	100 mL	10 mL	MPN/100 mL	100 mL	10 mL	1 mL
1	1+	0+	4	0+	2+	4
2	2+	1+	18	3+	3+	17
3	1+	8+	51	2+	4+	52
4	1+	5+	30	4+	3+	30
5	4+	0+	14	4+	0+	15
6	1+	1+	8	2+	1+	8

12管发酵法接种水样 100 mL 2份、10 mL 10份,该方法接种水样 10 mL 5份、100 mL 或 1 mL 5份,+表示出现阳性。

表 5 非生活饮用水测定结果比较

水样	15管发酵法				该方法		
	10 mL	1 mL	0.1 mL	MPN/100 mL	10 mL	1 mL	0.1 mL
1	1+	2+	0+	6	1+	2+	6
2	5+	2+	2+	94	2+	2+	94
3	4+	4+	0+	34	4+	4+	34
4	5+	4+	3+	280	4+	3+	280
5	5+	5+	0+	240	4+	2+	230
6	1+	1+	1+	6	1+	2+	6

15管发酵法接种水样 10 mL 5份、1 mL 5份、0.1 mL 5份。

3 结语

(1)在国家标准方法(多管发酵法、滤膜法)^[1]的基础上,参考相关文献[3-5],通过大量试验,建立了测定水中总大肠菌群的十管发酵法,经验证,该方法与多管发酵法的测定结果差异极小。

(2)在测定过程中,应严格遵守无菌操作规程,避免带来偶然误差。

(3)在实际工作中,总大肠菌群一般是生活饮用水、水源水和较清洁地表水的需测项目,该方法能满足监测要求。

[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: 749 - 754.

[2] 谢嵘, 范玉珍. 五管发酵测定总大肠菌群的研究[J]. 干旱环境监测, 2003, 17(1): 50 - 52.

[3] 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.

[4] 甄清, 李勇, 王一东. 延长初发酵培养时间对大肠菌群结果影响分析[J]. 环境监测管理与技术, 2007, 19(1): 54 - 55.

[5] 刘国辉, 刘志坚, 谢丽芬. 对大肠菌群值认定的探讨[J]. 中国环境卫生检疫, 2001, 24(1): 10 - 13.

本栏目责任编辑 李文峻 薛光璞 陈宝琳 姚朝英