

酶底物法与多管发酵法和纸片法监测 环境水样大肠菌群的比较

赵春霞¹, 张哲海¹, 厉以强², 梅卓华¹, 郭晓颖², 沈燕飞²

(1. 南京市环境监测中心站, 江苏 南京 210013; 2 江苏省环境监测中心, 江苏 南京 210036)

摘 要:用标准菌株对比了酶底物法和多管发酵法及快速纸片法, 监测分析了分组环境水样中的大肠菌群。结果表明, 酶底物法操作快速、简单、结果稳定、无二次污染, 能满足水质监测和应急监测的需求。

关键词:酶底物法; 环境水样; 大肠菌群; 大肠埃希氏菌; 多管发酵法; 纸片法

中图分类号: X830.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-2009 (2009) 02 - 0063 - 02

Enzyme Substrate Technique and Multiple-tube Fermentation Technique and Paper Strip Method Comparison for Monitoring Coliform Group in Water Samples

ZHAO Chun-xia¹, ZHANG Zhe-hai¹, LI Yi-qiang², MEI Zhuo-hua¹, GUO Xiao-ying², SHEN Yan-fei²

(1. Nanjing Environmental Monitoring Centre, Nanjing, Jiangsu 210013, China;

2. Jiangsu Environmental Monitoring Center, Nanjing, Jiangsu 210036, China)

Abstract: The detective results were compared among enzyme substrate technique, multiple-tube fermentation technique and paper strip method by standard strains to monitoring coliform group in environmental water samples. The result indicated that enzyme substrate technique was fast, easy operating, pollution free and the results of stability for the water quality monitoring and emergency monitoring.

Key words: Enzyme substrate technique; Environmental water samples; Coliforms; Escherichia coliforms; Multiple-tube fermentation; Paper strip method

地表水及废水的粪大肠菌群监测, 主要采用多管发酵法, 检测需要 48 h 以上, 步骤繁琐, 实际应用中难以改进。酶底物法操作简单, 耗时短, 并可检测有病原学意义的大肠埃希氏菌 (*E. coli*), 已经在美、日、韩和欧洲许多国家使用^[1-3]。我国《生活饮用水卫生标准》与世界接轨, 已经增加大肠埃希氏菌的检测, 作为评价饮用水水质的指标。因此, 有必要开展酶底物法检测环境水样的大肠埃希氏菌, 并检测粪大肠菌群, 通过其与多管发酵法及快速纸片法的结果比对, 建立新的评价指标, 找出替代多管发酵法的简单、快速方法。

1 实验部分

1.1 材料与试剂

快速监测纸片 (南京三爱实业有限公司); 可立得 (Colilert) 试剂; DEXX 智能封口机 (Quantitray sealer, Model 2X); 波长 365 nm 的 6 W 紫外灯 (DEXX 公司)。

1.2 方法

多管发酵法; 快速纸片法; 酶底物法 (Colilert 法) 35 °C 培养可同时检测总大肠菌群和大肠埃希氏菌, 在 44.5 °C 培养时检测粪大肠菌群。其步骤为: 根据水样的污染程度, 用无菌瓶取合适稀释度的待测水样 100 mL, 加入 Colilert 试剂 1 份, 充分

收稿日期: 2008 - 10 - 30; 修订日期: 2009 - 03 - 09

基金项目: 江苏省环境监测科研基金资助项目 (0702)

作者简介: 赵春霞 (1970—), 女, 四川南充人, 工程师, 学士, 从事城市环境微生物环境监测和研究。

混匀溶解,倒入 51 孔或 97 孔定量盘,封口,置 $(35 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 培养箱中 $(24 \pm 4)\text{h}$ 培养,不超过 28 h 判读结果。与标准比色盘比较,孔中水样变黄并有荧光者为大肠埃希氏菌阳性;若 $(44.5 \pm 0.2)^\circ\text{C}$, $(24 \pm 4)\text{h}$ 培养,孔中水样变黄者为粪大肠菌群阳性,据阳性孔数对照 DEXX 公司提供的 MPN 表,再根据稀释度计算出原水样的大肠埃希氏菌数和粪大肠菌群数。

2 结果

2.1 实验数据的可信度检验

用标准菌株 ATCC25922 (大肠埃希氏菌) 和 ATCC25923 (金黄色葡萄球菌) 的纯培养稀释液,经显微镜初略记数表明,多管发酵法、快速纸片法、酶底物法定性准确,标准菌株检验未出现假阴性或假阳性;平行样的对数值均小于该批数据的精密度判断值 $3.27R$, $R_{\text{多管发酵法}} = 0.1602$; $R_{\text{纸片法}} = 0.2195$; $R_{\text{酶底物法}} = 0.1324$,3 种方法的精密度均在受控范围内,见图 1。

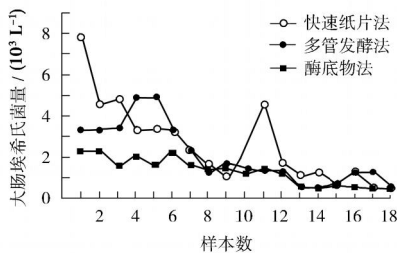


图 1 3 种方法的平行性及精密度

2.2 方法比对

多管发酵法、快速纸片法、酶底物法检测水质粪大肠菌群 (大肠埃希氏菌属于粪大肠菌群) 的定性和定量没有差异,均能应用于环境监测。采用大肠埃希氏菌的检测值替代粪大肠菌群的值,对数处理后作相关性分析,多管发酵法与纸片法的相关性良好 ($r = 0.93$);酶底物法与多管发酵法,也具有良好的相关性 ($r = 0.89$),优于文献 [3] 报道的酶底物法在 $(44.5 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 培养后所得的耐热大肠菌群与滤膜法的相关性 ($r = 0.85$);与文献 [4] 报道的酶底物法在 $(44.5 \pm 0.2)^\circ\text{C}$ 培养后所得的耐热大肠菌群与多管发酵法的相关系数 ($r = 0.902$) 基本一致。因检测结果相关性良好,酶底物法检测大肠埃希氏菌的结果可以替代检测粪大肠菌群的结果。3 种方法水样检测值的相互关系见图 2。

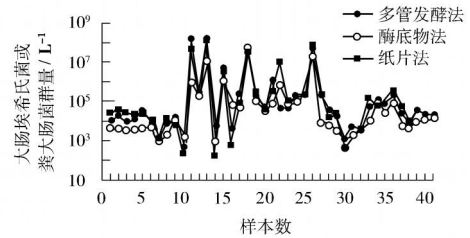


图 2 3 种方法水样检测值的相互关系

3 讨论

多管发酵法稳定性好,结果容易判断,成本低,但检测时间长,不适应环境监测快速简单的要求。纸片法为认可的 C 类方法^[5],消耗物质和用人均不多,操作和结果判断均比较容易,该方法与多管发酵法的相关性也很好 ($r = 0.93$),其他文献也报道该方法的可应用性,但其稳定性不足,二次污染大。酶底物法可检测具有病原学意义的大肠埃希氏菌,用人少,结果产生快,操作简单,容易判断,稳定性好。酶底物法密封培养,无二次污染,实验用品易于集中无害化处理,但检测样品的成本高。

4 结语

多管发酵法、快速纸片法、酶底物法均可应用于环境水样的指示菌监测,可根据不同的条件和要求选择合适的方法。大肠埃希氏菌比粪大肠菌群更有病原学意义,建议增加其为地表水和地下水的生物评价指标,认可酶底物法作为监测该指标的标准方法,并且用大肠埃希氏菌的监测逐步取代粪大肠菌群的监测。同时,在目前检测粪大肠菌群的情况下,可以增加酶底物法为其标准监测方法之一。

[参考文献]

- [1] US EPA. Standard methods for the examination of water and wastewater[M]. 20th ed. Washington D C: Water Environment Federation, 1998.
- [2] US EPA. Ambient water quality criteria for bacteria[S]. Washington D C: Environmental Protection Agency, 1986.
- [3] GARY P Y, DAV D A C. Evaluation of colilert and enterolert defined substrate methodology for wastewater applications[J]. Water Environment Research, 2002, 74(2): 131 - 135.
- [4] 高端坤,汤琳,傅强. 水中粪大肠菌群快速检测方法——固定底物酶底物法与多管发酵法的比较[J]. 中国环境监测, 2008, 24(4): 39 - 41.
- [5] 赵凌宇. 粪大肠菌群快速测定——纸片法的应用[J]. 环境监测管理与技术, 2007, 19(4): 18 - 20.