doi:10.3969/j.issn.1672－5425.2011.09.026

两种检测水中耐热大肠菌群方法的等效性比较

冯 玫,杨 玮

(上海市自来水市北有限公司水质检验中心,上海 200082)

摘 要:用多管发酵法和酶底物法检测水源水样本中耐热大肠菌群,比较了两者检测结果的等效性。结果表明,多管发酵法与酶底物法检测水中耐热大肠菌群的结果是等效的。酶底物法可以用作评价水中粪源性微生物污染的可替代方法。

关键词:多管发酵法;酶底物法;科立得™(Colilert®);耐热大肠菌群

中图分类号:X 832 **文献标识码**:A **文章编号**:1672－5425(2011)09－0090－03

生活饮用水标准检验方法(GB/T 5750.12－2006)中传统的耐热大肠菌群检测方法为多管发酵法和滤膜法,目前,这两种方法被国内各水司和卫生防疫及环境等部门广泛采用。多管发酵法多用于传统检测;滤膜法多用于浊度较低的Ⅰ、Ⅱ类[1]水源地水质检测。但是我国七大水系地表水中水源地大多为Ⅲ类水或以上,如采用多管发酵法,需 4 d 时间,且需做多次发酵和验证实验,步骤繁多,不能快速评价水中的粪源性微生物污染状况。多管发酵法的最低检出限为每 100 mL 水样中 2 个耐热大肠菌群。

酶底物法采用固定技术酶底物法(Defined substrate technology,DST)[2],其原理是:基于大肠菌群所产生 β-半乳糖苷酶(β-D-Galactosidase)能分解 Ortho-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside(ONPG)使培养液变成黄色来检测水样中的大肠菌群;大肠埃希氏菌能产生 β-葡萄糖醛酸酶(β-Glucuronidase)分解 4-Methyl-umbelliferyl-β-D-glucuronide(MUG),在波长 366 nm 紫外光下可以观察到培养液有蓝色荧光,以此检测水样中的大肠埃希氏菌。酶底物法可检测水中总大肠菌群、大肠埃希氏菌、耐热大肠菌群,能抑制 200 万个异养细菌,避免了由于多次稀释造成的结果不准确。同时,酶底物法可以选用市售商品化培养基,将传统方法中繁琐的检测步骤简化为一步,且省去了培养基配制和器皿清洗消毒的过程,操作简单,仅需 18～24 h 即可检测出水样中目标菌群的最可能数(MPN)值。酶底物法的最低检测限为每 100 mL 水样中 1 个耐热大肠菌群。世界上许多国家都选用酶底物法检测水中总大肠菌群、大肠埃希氏菌、耐热大肠菌群,酶底物法已经通过了美国 EPA 的认证,写入《水与废水标准检测方法》[3];在我国,酶底物法也写入了《生活饮用水标准检验方法》[4]。

作者在此用多管发酵法与酶底物法检测水源水样本中的耐热大肠菌群,比较了两者检测结果的等效性。

1 实验

1.1 试剂与仪器

多管发酵法所用的培养基和试剂按《生活饮用水标准检验方法》(GB/T 5750.12－2006)配制。酶底物法所用培养基为市售商品化培养基科立得™(Colilert®)。

97 孔无菌定量盘,100 mL 灭菌样品瓶、程控定量封口机、培养箱,爱德士公司。

1.2 方法

多管发酵法:参见《生活饮用水标准检验方法》(GB/T 5750.12.3.1－2006)。

酶底物法:将 100 mL 测试水样倒入灭菌样品瓶中,然后在水样中加入科立得™(Colilert®)试剂,摇匀使培养基全部溶解,将样品瓶中水样全部倒入 97 孔无菌定量盘中,用手轻抚定量盘背面,将孔穴内气泡赶出,放入 97 孔专用模板,用程控定量封口机封口。然后放入(44.5±0.5)℃培养箱中,培养 18～24 h 后取出。与空白对照的样本比较,如果结果可疑难以判断,再培养到 28 h,28 h 以后再出现的颜色反应不认为是

收稿日期:2011－07－13

作者简介:冯玫(1964－),女,浙江宁波人,工程师,从事水质分析微生物领域方向研究,E-mail:feng_m212@hotmail.com。

阳性结果。如果定量盘孔穴内的水样变成黄色,则表明该孔穴中有耐热大肠菌群。数出黄色的孔穴个数,对照 MPN 表查出对应的耐热大肠菌群最可能数(MPN),以 MPN/100 mL 表示结果。如果所有孔都没有显色,可报告未检出耐热大肠菌群。

1.3　数据统计

用 Excel 软件和 SPSS10.0 软件整理并统计数据。

2　结果与讨论

2.1　水样检测

取 70 个水源水样本进行耐热大肠菌群的检测。结果见图 1。

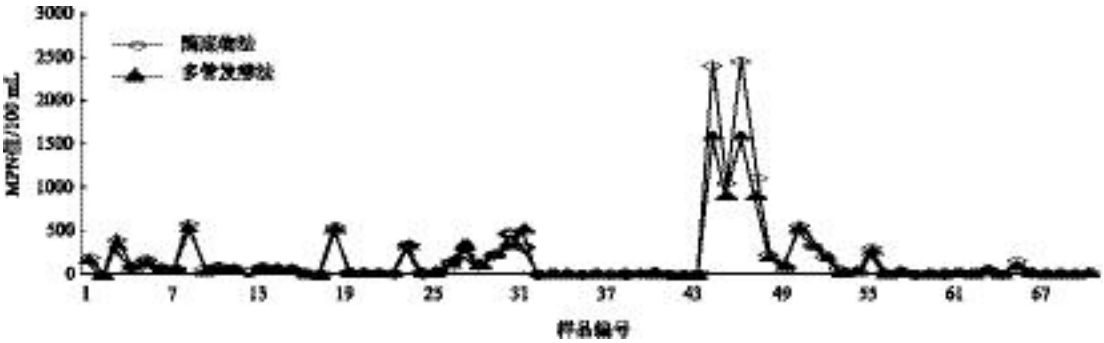

图 1　70 份样品酶底物法和多管发酵法检测结果

Fig. 1　Results to 70 samples tested by enzyme substrate method and multiple-tube fermentation method

对多管发酵法与酶底物法检测耐热大肠菌群的结果进行了配对 t 检验。首先对两组数据进行对数处理,使其呈正态分布,然后对数据进行 t 检验[5~7]。两种方法的配对变量统计描述见表 1、配对变量间的相关性分析见表 2。

表 1　配对变量统计描述

Tab. 1　Statistical description about matching variables

方法	平均值	分析样本量	标准偏差	标准误差
多管发酵法	1.6564	70	0.74868	0.08948
酶底物法	1.6679	70	0.76448	0.09137

表 2　配对变量间的相关性分析

Tab. 2　Correlation analysis between matching variables

方法	分析样本量	相关系数	P 值
多管发酵法 酶底物法	70	0.981	0.00

由表 2 可以看出,酶底物法和多管发酵法的相关系数 $R=0.981$,接近于 1,说明两组数据相关性很好;P 值为 0.00,说明两组数据的相关性趋于一致[6]。

多管发酵法与酶底物法检测结果的线性回归分析见表 3。

表 3　结果的线性回归分析

Tab. 3　Results of linear regression analysis

	差异性比较					t	df	Sig(双侧)
	均值	标准差	均值的标准误差	差分的 95%置信区间				
				下限	上限			
酶底物法－多管发酵法	0.01329	0.14899	0.01781	−0.02224	0.04881	0.746	69	0.458

由表 3 可以看出,检测结果 Sig=0.458,回归系数 t 检验 $t=0.746$,即多管发酵法和酶底物法检测耐热大肠菌群没有显著差异[5~7],具有等效性。

2.2　讨论

以上实验结果表明,多管发酵法和酶底物法用于检测水中的耐热大肠菌群,在统计学意义上其检测结果没有明显差别,两种方法具有良好的相关性。检测过程显示,酶底物法操作简单,检测时间较多管发酵法短,因而操作中的人为误差可能明显低于多管发酵法,同时又由于其检测限较低,100 mL 水样中可以检出 1 MPN 的耐热大肠菌群,从而可及时快速地判断水中微生物的污染状况,保证供水安全,因此有望成为评价

水中微生物粪源性污染的主要检测方法。

3 结论

用多管发酵法和酶底物法检测水源水样本中耐热大肠菌群,比较了两者检测结果的等效性。结果表明,多管发酵法与酶底物法检测水中耐热大肠菌群的结果是等效的。酶底物法可以用作评价水中粪源性微生物污染的可替代方法。

参考文献:

[1] GB 3838-2002,地表水环境质量标准[S].
[2] SM Committee 9223-2004, Chromogenic substrate coliform test [S].
[3] AWWA 10084-2005, Standard methods for examination of water & wastewater[S].
[4] GB/T 5750.12-2006,生活饮用水标准检验方法[S].
[5] ISO 17994-2004, Water quality-criteria for establishing equivalence between microbiological methods[S].
[6] 卢纹岱. SPSS for Windows 统计分析(第三版)[M]. 北京:电子工业出版社,2006:179-180,267-285.
[7] 罗应婷,杨钰娟. SPSS 统计分析 从基础到实践[M]. 北京:电子工业出版社,2008:160-162,190-199,207-246.

Equivalence Comparison Between Two Methods for Detecting Thermotolerant Coliform Group Bacteria in Water

FENG Mei, YANG Wei

(*Water Quality Analysis Center of Shanghai Waterworks Shibei Co., Ltd., Shanghai* 200082, *China*)

Abstract: Two detection methods, multiple-tube fermentation technique and enzyme substrate technique are applied to thermotolerant coliform bacteria detection in source water, and their detection effects are compared. Results demonstrate that multiple-tube fermentation technique shows equivalence with enzyme substrate technique. It is proposal that enzyme substrate technique can be used as an alternative method to evaluate water microbiological pollution evaluation which comes from fecal.

Keywords: multiple-tube fermentation technique; enzyme substrate technique; Colilert®; thermotolerant coliform bacteria

(上接第 79 页)

Study on Basicity and Coagulation Effect of Coagulant from Red Mud

YAO Jun, ZHAO Ye, SHU You-ju

(*Department of Chemical and Environmental Engineering, Luoyang Institute of Science and Technology, Luoyang* 471023, *China*)

Abstract: The preparation of coagulant using red mud as raw material was investigated in detail according to basicity determination and coagulation test. With $MgCO_3$ as basicity adjustment agent, the best coagulant polymerization conditions were determined through orthogonal experiment as follows: polymerization temperature of 80 ℃, pH=4, polymerization time of 24 h, basicity adjustment agent dose of 60 g·L^{-1}. By comparison of the coagulants prepared with four kinds of basicity adjustment agent $MgCO_3$, $CaCO_3$, $Ca(OH)_2$, Na_2CO_3, it was found that the coagulant prepared with Na_2CO_3 possessed the highest basicity of 36.96% and removal rate of turbidity. Its coagulation effect was comparable to that of coagulant PAC on the market.

Keywords: red mud; polymerization condition; basicity; coagulation effect