

酶底物法快速测定地表水中粪大肠菌群的研究

段玉林¹, 张少梅², 温 韬¹, 蒙 泳³, 周 曼¹

(1.广西产品质量监督检验院, 广西南宁530022; 2.广西区环境监测中心站, 广西南宁 530022;
3.广西质量技术监督局, 广西南宁 530022)

摘 要: 采用酶底物法对一地表水水样进行不同倍数的稀释后进行培养检测, 并观察结果变化。结果表明, 地表水水样稀释倍数越小, 检测结果越准确。采用酶底物法测定地表水中的粪大肠菌群具有快速、简便的特点, 但测定水样稀释的倍数对其测定结果有一定的影响。

关键词: 酶底物法; 地表水; 粪大肠菌群; 稀释倍数

DOI:10.3969/j.issn.1674-5043.2011.04.004

中图分类号: X832;X824 文献标志码: A 文章编号: 1674-5043(2011)04-0013-03

地表水中粪大肠菌群是评价水质受粪便污染程度的重要指标之一, 传统检测方法是采用多管发酵法或者滤膜法。但这两种方法检测时间相对较长(48 h左右), 且需要进行验证实验, 实验步骤较为繁琐, 所以多管发酵法或者滤膜法不能对水质状况做出快速评价。因此, 探索快速简便的检测方法显得十分必要。固定底物技术酶底物法可以较好地弥补传统方法的不足。根据《生活饮用水国家卫生标准》(GB/T 5750.12—2006)中推荐的固定底物技术酶底物法, 利用市售产品美国爱德士生物科技股份有限公司的科立得™(Colilert®)试剂, 检测100 mL水样, 只需手工操作1 min, 无需无菌实验室, 即可在24 h内定量检测出水中的粪大肠菌群数。该方法极大地减少了工作量, 避免了使用多管法时逐级稀释带来的操作误差, 也避免了使用滤膜法时肉眼读数的人为误差。

1 实验部分

1.1 实验材料

科立得™(Colilert®)试剂; 100 mL无菌取样瓶(里面装有1.5%的硫代硫酸钠, 用于去除水样中的余氯); 无菌培养定量盘(51孔); 封口机(带51孔定量盘橡胶托垫); 51孔阳性标准比色盘; 便携式培养箱。

1.2 实验方法

在培养温度为 44.5 ± 1 °C条件下, 粪大肠菌群细菌能特异性地产生 β -半乳糖苷酶(β -D-galactosidase), 该生物酶可以分解ONPG(Ortho-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside, β -半乳糖醛苷), 使培养液呈黄色。实验步骤如下:

- 1) 采用100 mL无菌取样瓶取100 mL混匀水样(如果水样粪大肠菌群数大于2 005 个/L, 则酌情少取, 并用新配置的超纯水稀释至100 mL刻度线);
- 2) 在装有水样的取样瓶中加入科立得™(Colilert®)试剂, 充分摇匀, 使试剂完全溶解;
- 3) 把溶解完全的水样倒入无菌培养定量盘(51孔);
- 4) 采用带51孔定量盘橡胶托垫在封口机上进行封装;
- 5) 把封装好的51孔定量盘放入 44.5 ± 1 °C恒温培养箱中培养24 h;
- 6) 培养24 h后, 从培养箱中取出, 与51孔阳性标准比色盘进行比较(黄色孔颜色比51孔阳性标准比色盘深的表明为阳性反应), 根据51孔定量盘上的阳性孔数, 对照IDEXX公司提供的MPN表, 报出结果。

收稿日期: 2011-11-24

作者简介: 段玉林(1982-),男,河南唐河人,硕士,工程师,主要从事食品、化工等产品检测方面的研究。

1.3 统计学分析

数据的整理统计使用exce1软件进行。

2 结果与讨论

对同一地表水样进行1~200倍不等的稀释时,测定结果范围在4 000个/L~8 260个/L之间,偏差较大。测定结果如表1及图1所示。

表1 地表水样的稀释倍数与测定值

| 序号 | 取原水样体积 /mL | 稀释倍数 | 阳性孔数 | 查MPN表得 | 100 mL水样测定值 /个 | 1 000 mL水样测定值 /个 |
|----|------------|------|------|--------|----------------|------------------|
| 1 | 100 | 1 | >51 | >200.5 | >2 005 | / |
| 2 | 50 | 2 | >51 | >200.5 | >2 005 | / |
| 3 | 25 | 4 | 50 | 200.5 | 802 | 8 020 |
| 4 | 20 | 5 | 49 | 165.2 | 826 | 8 260 |
| 5 | 10 | 10 | 40 | 78.2 | 782 | 7 820 |
| 6 | 5 | 20 | 23 | 30.6 | 612 | 6 120 |
| 7 | 2 | 50 | 11 | 12.4 | 620 | 6 200 |
| 8 | 0.5 | 200 | 2 | 2 | 400 | 4 000 |

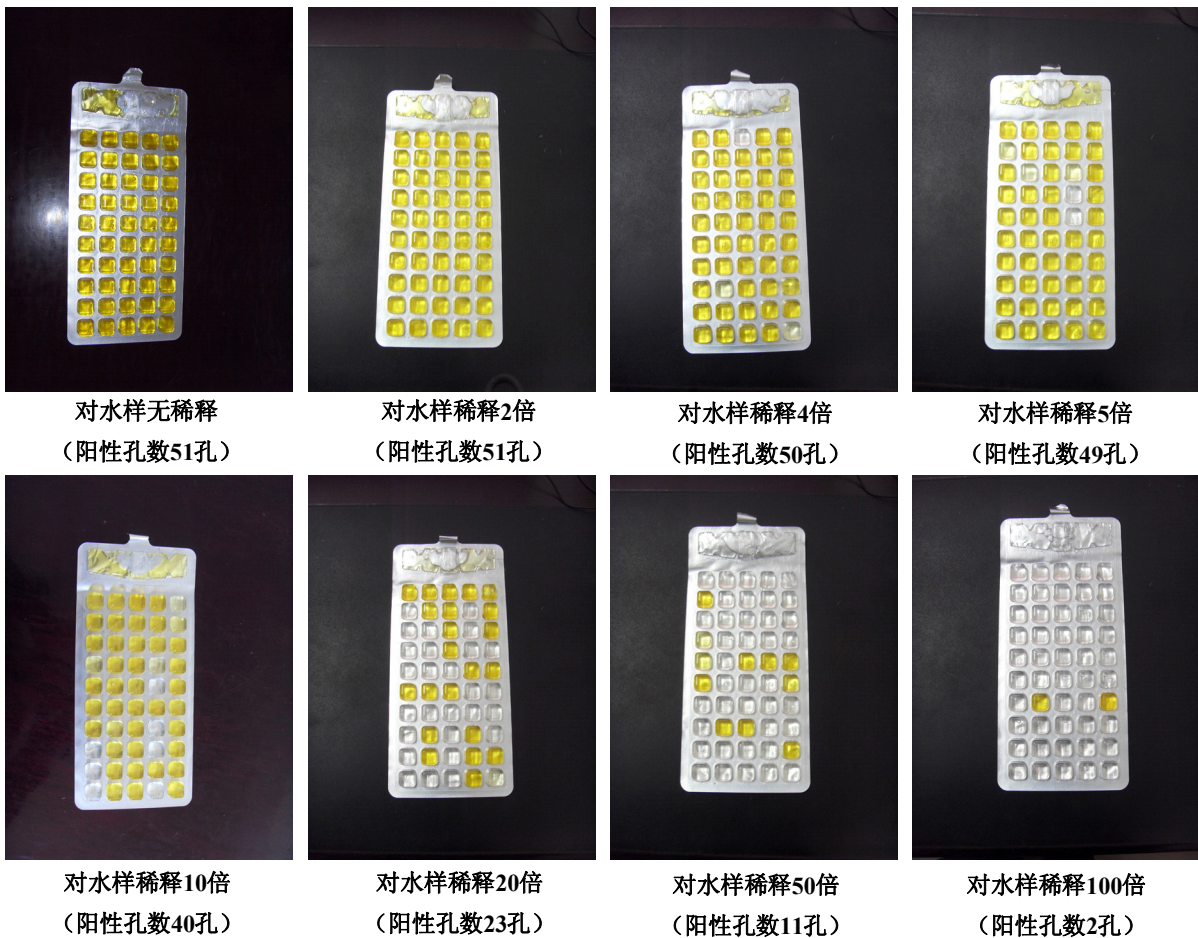


图1 地表水样检测结果

由表1和图1可以看出:对该水样不稀释或者稀释2倍时,51孔定量盘的阳性孔数为51孔,表明该水样

的粪大肠菌群浓度大于2 005 个/L; 对水样进行4倍或5倍的稀释培养检测时, 51孔定量盘的阳性孔数分别为50孔和49孔, 测定结果值为8 020 个/L和8 260 个/L, 两者的平均偏差为1.5%。该结果与传统的多管发酵法^[1-3]的实验结果具有较好的一致性, 结果可信。该组数据说明对该水样进行4倍或5倍的稀释培养检测, 稀释倍数合适, 结果可信。而对该水样进行10~200 倍不等的稀释时, 检测结果值在7 820 个/L~4 000 个/L之间, 结果均偏低。由此可知, 稀释倍数越高, 测定结果值就越偏低。因此, 在日常的检测工作中, 检测人员应根据具体情况对水样进行最小倍数的稀释。

3 结 语

酶底物法测定水样中的粪大肠菌群具有快速、简便、准确的特点。无需清洗玻璃器皿, 无需无菌室, 无需配置培养基, 24 h出结果, 能够较为准确地判断水样的污染状况。但测定水样的稀释倍数对其测定结果有一定的影响, 检测人员应根据具体情况对水样进行最小倍数的稀释, 使结果更加准确真实。

参考文献:

- [1] 孙宗科, 吴榕, 丁培, 等. 水中大肠菌群快速检测方法-酶底物法和多管发酵法的比较[J]. 卫生研究, 2006, 35(4): 497-498.
- [2] 王菊, 潘孝楼, 吴丽. 酶底物法和多管发酵法测定水中大肠菌群的比较[J]. 中国热带医学, 2010, 10(9): 1141-1142.
- [3] 赵春霞, 张哲海, 厉以强, 等. 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[J]. 环境监测管理与技术, 2009, 21(2): 63-64.

Fast Determination of Fecal Coliform in Surface Water by Enzyme Substrate Technique

DUAN Yu-lin¹, ZHANG Shao-mei², WEN Tao¹, MENG Yong³, ZHOU Man¹

(1. Guanxi Product Quality Supervision and Testing Institute, Nanning 530022, China;

2. Guangxi Environmental Protection Monitoring Central Station, Nanning 530022, China;

3. Guangxi Municipal Bureau of Quality and Technical Supervision, Nanning 530022, China);

Abstract: Enzyme substrate technique has been adopted in culture detections of the same surface water sample with different dilution ratios to observe the changes. The result proves a higher accuracy with less dilution ratio. Fecal coliform determination with enzyme substrate technique in surface water is fast and easy, but the dilution ratio of sample has certain effects on the detection result.

Key words: enzyme substrate technique; surface water; fecal coliform; dilution ratio

(上接第12页)

Temperature Analysis of Two-phase Lag Model for Laser Irradiated Biological Tissue

WANG Xu, XIONG Guo-xin

(Henan University of Science & Technology, Luoyang 471003, China)

Abstract: In view of the non-Fourier heat conduction phenomenon of the laser irradiated biological tissue, the two-phase lag bio-heat transfer model (DPL model) has been used in analysis and its results have been compared with those of Pennes model and thermal wave model. When τ_q and τ_T are both very small, DPL model results will be close to the traditional Fourier heat conduction equation. When τ_q increases, it tends to cause more heat waves effects. In the DPL model, τ_q and τ_T take different values and they have different non-Fourier heat conduction performance. The research results will have some theoretical guidance on the clinical problems of laser medicine.

Key words: laser; bio-tissue; DPL model; heat conduction