

水中微生物能力验证菌落总数的方法研究

朱馨妍

海宁万润环境检测有限公司

DOI:10.32629/eep.v2i3.192

[摘要] 随着我国社会的不断发展,人们的生活水平有了很大的提升,也越来越意识到环境的维护对于人们生活品质提升的重要性。水中菌落的总数会直接影响到水质的实际情况,现阶段,国际上应用最为广泛的水中菌落计算方法有平皿计数法以及复合酶底物法,这两种方式所适用的地区会有一些的不同,平皿计数法是国家标准规定的方法,而复合酶底物法是地方标准应用的方法。采用两种方式进行数据计算,其结果均接近样品的真实值。本文对水中微生物能力验证菌落总数的方法进行了探索分析。

[关键词] 水中微生物; 能力验证; 菌落总数; 方法研究

水中菌落总数是判断水被细菌污染程度的重要标志,并且长期被作为常规指标观察水体中细菌性质以及发展动态的关键依据,对水质达标情况有较为精准判断。通常情况下,不同的环境或者不同的操作人员使用不同的器皿水中的菌落总数都会受到一定的影响,这是很难避免的,因此,在进行能力验证的时候,应该尽量挖掘检验中所存在的不足之处,然后对其进行有针对性的优化。现阶段,国际上通用的微生物能力验证技术方法已经非常成熟,在实际应用的过程中取得了较为理想的效果,有着十几年的实践探索经验。最近几年,我国在此项技术方面也有了很大的进步,开始引进了此系列的能力验证方式,其主要包括菌落总数、粪大肠菌群以及总大肠菌群、埃希氏菌群、甲第鞭毛虫、隐孢子虫等六项微生物实验间能力验证,并且受到了国际上的认可。

1 需要准备的实验材料以及实验方法

1.1 实验材料与器械

1.1.1 培养基和试剂

在进行培养基准备的时候,应该严格按照《生活饮用水标准检测方法》来进行选择,要选择广东环凯微生物科技有限公司所生产的营养琼脂培养基。在进行试剂选择的时候,应该严格按照《水中菌落总数复合酶底物检测方法》中的相关规定来进行选择,并且要包含 100 毫升的瓶装无菌培养基以及 84 孔穴样品盘^[1]。

1.1.2 实验仪器的应用

实验过程中主要应用到的仪器包括高压灭菌锅、生化培养箱以及便携式紫外灯等。

1.2 实验方法以及实验原理

1.2.1 样品处理

首先,要将装有样品的冻存管从冰箱中取出,将其放置在常温下平衡到 10 摄氏度左右,然后将 100 毫升的无菌水导入到无菌取样瓶当中,将其充分震荡之后,静止放置 10 到 15 分钟左右,一直到圆形胶盘已经完全溶解,这时也就得到了待检测的样品原液。然后再从盲样当中随机选取 90 毫升无菌水倒入到无菌取样瓶当中,将其进行充分混合,最终得到稀

释之后的样品。通常情况下,从样品一开始接触到无菌水一直到完成检测的一系列操作,应该将其控制在 45 分钟之内。

1.2.2 平皿计数法

在上文当中我们已经提到,平皿计数法是我国国家标准规定应用的一种计数水中菌落的方法,此种方法的应用具有较高的普遍性,在实际应用的过程中效果较为理想。首先要用灭菌之后的移液管吸取 1 毫升样品,将其注入到灭菌平皿中,然后再将其倾入 15 毫升已经融化的营养琼脂培养基中,并且要立即旋摇平皿,从而使样品与培养基可以充分的混合,然后再将混合之后的样品与培养基放置在培养箱当中,培养 48 小时^[2]。

此外,要注意对样品原液进行质量控制,这是非常重要的,还应该做好盲样样品原液的平行接种操作,设立营养琼脂以及 1 毫升无菌水各当做一个空白对照。在对平皿计数法进行应用的时候,应该注意对细节进行精确定,在具体操作的过程中经常会受到一些外界因素的影响,这就要求操作人员自身要具有较强的专业素质,并且要保证各个环节之间的衔接准确性。

1.2.3 复合酶底物法

复合酶底物法是我国地方标准中应用较为广泛的方式,在实际操作的过程中,首先应该用灭菌的移液管吸取 1 毫升的样品以及 9 毫升的培养基,将其加入到样品盘的中心,然后盖上样品盘盖子,将样品盘平拖在手中轻轻晃动,使样品盘中的液体可以平均分配到每个小孔当中,当液体分布均匀之后,将样品盘慢慢竖起到 90°至 120°,将多余的液体导入到样品盘中,然后将样品盘慢慢倒置,放入培养箱当中,培养 48 小时。

现阶段,已知的盲样样品原液浓度在该方法上的限值为 738MPN/mL 范围之内,因此,只需要使用原液做 5 个平行接种就可以实现对样品的对比分析,将其合为一组样品。再用 10 毫升的培养基做 1 个空白的培养基,然后用 1 毫升的无菌水来代替样品做一个纯水的空白对照^[3]。复合酶底物法也有非常广泛的应用,并且取得了理想的应用效果,不用地区的应用可能

会存在着一定的不同,但是在整体应用效果上大同小异。

2 水中微生物能力验证菌落总数的方法研究结果讨论

2.1 两种方法菌落总数的生长情况分析

我们将每5个平行样作为一组样品,然后将样品转移到平皿或者样品盘当中,按照时间的顺序对其进行排序,通常情况下,要将整套操作控制在45分钟之内完成,对四组样品变化的规律进行查看,然后做出总结评价。当检验操作完成之后,数据的可信度也就得到了很大的提升,通过对质控样结果的判断之后,我们会发现在此次实验操纵的过程中,很多数据都是具有较高准确性的。

在进行效果值选取的时候,因为每组样品的样品量相对较小,并且微生物的培养菌结果往往会受到多种因素的影响。在进行微生物检验的时候,取偏差的合理范围应该以本次实验的实际情况作为依据,这样才能够保证各组样品的检验结果都在合理的范围之内,这也会使最终所得到的平均值具有较高的准确性^[4]。

当选用平皿计数法对稀释的样品进行最终结果总结的时候,要严格按照我国现阶段所执行的标准要求来选择“平均菌落数在30~300控制键的进行计算”,这样可以保证最终计算结果的真实性以及科学性,但是从实验展开的实际情况来看,对平皿进行观察比较之后,发现盲样中的菌落形状较为多样化,并且菌落体积相对较小,轮廓分明、分布均匀、数量可记录^[5]。由于考虑到二次稀释的需求,需要将外来的菌种带到样品当中,这样也会对最终的结果造成一定的影响,因此,在进行培养皿计数操作的时候,要注意选取不同稀释结果的培养皿进行计算,然后将计算结果上报。

2.2 质量控制样品与考核样品菌种大小以及形状的对比

在应用200倍的显微镜对水中的菌落进行放大之后,会发现考核样品中菌落的大小以及形状是存在一定区别的,质控样品最长的直径较大,并且其整体呈现出椭圆形,两头较为圆润,菌落具有较强的通透性,在密度较高的时候,容易出现多个菌落连成一片的情况^[6]。而对于盲样来说,其最长的

直径是质控样的25%,大概是质控样的四分之一左右,其整体形状呈现锥形,两头相对较窄,并且菌落的整体透明度较低,当菌落浓度较高的时候,培养液中的菌落分布情况会变得清晰可见,并且不容易出现结块团结的情况。经过对质控样品与考核样品菌种的形状以及大小对比之后,我们会发现质控样与考核样菌种的外观表现还是存在很大区别的,质控样菌种的体积要比考核样大出很多,并且其形状也有很大的区别。

3 结束语

随着人们生活水平的提升,自身环保意识也有了很大的提升,充分意识到了环境对于人们生存的重要意义。水资源是人们赖以生存的自然资源,并且水资源的提供是有限的,因此在对水资源进行利用的时候,一定要有节制。水中的微生物含量会直接影响到水的品质,因此,对水中微生物的含量情况进行探索分析是非常有必要的。无论选择何种方式,都应该保证实验过程中各个环节步骤的精准衔接,才能够有效的提升结果的准确性。

[参考文献]

- [1]陈晓瑜.水中微生物能力验证菌落总数的方法研究[J].环境与可持续发展,2017,42(2):104-105.
- [2]方莹,樊惠华,刘亚芬.生活饮用水中微生物学检验能力验证的结果与分析[J].食品安全质量检测学报,2018,9(11):2652-2656.
- [3]毛漫漫.生活饮用水水质微生物检验分析[J].中国医药指南,2018,16(27):297-298.
- [4]赫永虎,李梅基,张晓梅,等.2011-2015年某市农村饮用水微生物指标分析[J].环境卫生学杂志,2017,7(6):449-452.
- [5]刘红霞,路孝梅.酶底物法和国标法测定饮用水中菌落总数的比较[J].福建分析测试,2017,26(4):60-62.
- [6]孙丽丽,钟巍,黎晓彤,等.2008年-2016年广州市农村饮用水微生物监测结果分析[J].中国卫生检验杂志,2018,28(22):2773-2775+2778.