

全自动菌落计数仪的污水微生物检测应用

一般水体和废水以及污水处理中常见的微生物有：细菌 Bacteria，真菌 Fungi，藻类 Aglae，原生动物 Protozoa，轮虫 Rotifers，甲壳纲动物 Crustaceans，虫类 Worms（线虫 Nematodes 与扁虫 Flatworms）。

主要的检测项目有细菌总数、酵母菌总数、霉菌总数、大肠杆菌总数等。

1. 细菌总数测定

1.1 生化池水样稀释 103 倍、104 倍、105 倍、106 倍和 107 倍后，分别取各稀释液 1mL 接种于培养皿中，倒平板，于 37℃生化培养箱中培养 24h 后，选取菌落数在 30~300 个之间的培养物进行计数，每个稀释倍数做 5 个平行样。

1.2 取 100mL 水样水浴至残留少量水后，于 105℃烘箱中烘至恒重，称量水样中活性污泥的干重，计算生化池水样中每克干污泥的细菌总数。

2. 酵母菌总数测定

2.1 生化池水样稀释 102 倍、103 倍、104 倍和 105 倍后，分别取各稀释液 1mL 接种于培养皿中，倒平板，于 30℃生化培养箱中培养 48h 后，选取菌落数在 30~300 个之间的培养物进行计数，每个稀释倍数做 5 个平行样。

2.2 取 100mL 水样水浴至残留少量水后，于 105℃烘箱中烘至恒重，称量水样中活性污泥的干重，计算生化池水样中每克干污泥的酵母菌总数。

3. 霉菌总数测定

3.1 生化池水样稀释 102 倍、103 倍、104 倍和 105 倍后，分别取各稀释液 1mL 接种于培养皿中，倒平板，于 30℃生化培养箱中培养 72h 后，选取菌落数在 30~300 个之间的培养物进行计数，每个稀释倍数做 5 个平行样。

3.2 取 100mL 水样水浴至残留少量水后，于 105℃烘箱中烘至恒重，称量水样中活性污泥的干重，计算生化池水样中每克干污泥的霉菌总数。

4. 大肠菌群总数测定

4.1 初发酵试验：以无菌操作将各盛有 3 倍浓缩乳糖蛋白胨培养液 5 毫升的 5 支发酵管内，各接种污水样 10 毫升，将各盛有单料乳糖蛋白胨培养液约 10 毫升 5 支的发酵管内，各接种污水样 1 毫升，再将各盛有单料乳糖蛋白胨培养液约 10 毫升的 5 支发酵管内，各接种 1：10 稀释的污水样 1 毫升（相当于原污水样 0.1 毫升）。将此 15 支管已接种的发酵管置于 37℃恒温箱内，培养 24 小时。

4.2 平板分离：经培养 24 小时后，将产酸产气及只产酸不产气的发酵管，分别接种于伊红美兰培养基或品红亚硫酸钠培养基上，置 37℃恒温箱培养 18~24 小时，挑选符合下列特征的菌落，取菌落的一小部分，进行涂片、革兰氏染色、镜检。

菌落总数检验工作中会遇到各种实验平板的菌落计数工作，如倾注法平板，螺旋接种平板，3M 菌落总数测试纸片，滤膜法平板等。而且人工计数既消耗时间又耗人力，统计随着人的疲劳度而加大，有的工作人员甚至为了减轻工作量草草了事。

迅数全自动菌落计数仪具有着不同类型平皿的精确统计功能，能够保存平皿图像和数据库，方便查看验证，迅数菌落分析仪器采用了菌落放大图象拍摄，高分辨率的 1000 万像素 CCD 数字成像技术和 Colonfast 菌落智能识别技术。

1. 针对细菌总数测定

在菌落自动计数方面，仪器可以快速完成包含细菌、霉菌、酵母菌等样品的各类倾注法平板、涂布法平板、滤膜法平板、空气沉降法平板、螺旋接种平板、3M 纸片的菌落自动计数和浓度计算。自动计数菌落的速度高于 500 个菌落/秒，最小可以分辨的菌落直径可达 0.01mm；可构建专用计数模板以适应复杂实验室环境，计数误差控制在 10%以内。

2. 针对酵母菌和霉菌

迅数菌落分析仪器内置特殊算法，支持对包含霉菌和酵母菌样品的各类倾注法平板、涂布法平板、滤膜法平板、螺旋接种平板的菌落自动计数和浓度计算。

3. 针对大肠杆菌

迅数仪器的自动菌落计数能力可帮助实验人员快速准确选取“菌落数在 30 到 150 的 VRBA 平板”；利用彩色高像素 CCD 成像及 Colonfast 图象智能识别软件，迅数菌落仪能迅速识别“紫红色，有沉淀环，且直径不小于 0.5 毫米”的大肠菌群菌落，只需 1 秒就计算出大肠菌群典型菌落的菌落数。

4. 些特殊的污水中还存在着高致病性病原微生物，比如枯草芽胞杆菌黑色变种芽孢。

检测方法：

1) 取适量枯草芽胞杆菌黑色变种芽孢悬液，混入收集罐，使污水中菌液终浓度达到 $(2\sim 8) \times 10^4/\text{mL}$

2) 按照污水处理程序依次进行化学消毒和物理消毒。

3) 将滤膜在蒸馏水中煮沸消毒3次，每次15min；滤器用压力蒸汽灭菌（121℃，20min）。

4) 检测采样：消毒处理完毕后，用分度吸量管从污水收集罐的采样口吸取100mL待排放的污水，在无菌的条件下用微孔滤膜过滤。

5) 滤膜用50mL PB缓冲液洗涤，除去残留消毒剂。

6) 收集洗涤液，在无菌的条件下用微孔滤膜过滤。

7) 将微孔滤膜在无菌条件下移放置胰大豆琼脂平皿上进行细菌培养。滤膜应与培养基完全紧贴，当中不得留有气泡。

8) 采样平皿倒置于温箱中 $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 培养 24 ± 2 h后，进行枯草杆菌菌落计数。

对于滤膜、3M 纸片等菌落计数，迅数的 Colonfast 菌落智能识别技术能够精确识别菌落特征，实现快速自动计数。

杭州迅数科技有限公司是专业从事微生物分析测试技术研究与仪器装备生产的高科技公司。目前主要生产自动菌落计数仪、螺旋接种微生物菌落分析仪、抑菌圈测量仪、 β -内酰胺测定仪、抗生素效价分析仪、藻类计数仪、藻类辅助鉴定系统、浮游动物计数仪、生物显微分析系统等产品。产品广泛应用于科学研究、检验检疫、质量监督、环境监测、疾控中心、药品与生物制品检定、食品药品日化生产、以及钢铁石化化工电力等领域。

目前公司产品已成为中国科学院、中国农业科学院、中国检验检疫科学院、中国药品生物制品检定所、中国动物卫生与流行病学中心、国家水产品质量监督检验中心、国家海洋局、以及上海宝钢、兰州石化等国内数千家企事业单位的首选产品。并成功服务于澳大利亚 AMS 实验室的耐药监测、法国威立雅水务集团的水质检测、荷兰皇家帝斯曼集团的菌种耐药分析、美国药明康德的毒理中心试验、美国辉瑞药业的抑菌圈（抗生素效价）自动检测等场合。公司产品及优良的售后服务，受到国内外广泛好评和欢迎。(迅数科技：www.shineso.com)