

周稳, 韩雪. 生活饮用水中异养菌平板计数检测方法[J]. 净水技术, 2026, 45(9): 208-215.

Zhou W, Han X. Determination of heterotrophic bacteria by plate count in drinking water[J]. Water Purification Technology, 2026, 45(9): 208-215.

生活饮用水中异养菌平板计数检测方法

周 稳*, 韩 雪

(上海浦东威立雅自来水有限公司, 上海 200120)

摘 要 【目的】 基于 R2A 琼脂培养基的生活饮用水中异养菌平板计数法检测方法长期缺乏统一规范, 导致检测结果缺乏可比性, 影响生活饮用水生物安全评价的科学性。为解决这一问题, 本文对该方法进行方法优化、验证, 并建立统一、可靠的标准检测方法。【方法】 在统一采用 R2A 培养基的基础上, 研究了培养时间、培养温度 (22、25、28 ℃) 和接种方式 (倾注法、涂布法) 等关键检测条件对计数结果的影响; 通过大量对比试验, 确定了最优培养条件组合。在实验室内及实验室间对优化后的方法进行验证, 通过多次重复试验评估了其重复性和再现性。【结果】 通过系统比较与验证, 确定异养菌平板计数法的最优条件为: 采用倾注法接种, 在 28 ℃ 下培养 7 d。该方法验证结果显示, 实验室内相对标准偏差 (RSD) 如下。样品 1: 0.81%~2.70%; 样品 2: 0.60%~2.70%; 样品 3: 0.51%~1.90%。实验室间 RSD 如下。样品 1: 9.5%; 样品 2: 4.0%; 样品 3: 3.8%, 验证结果在标准样品的可接受范围, 准确度符合质控要求。【结论】 本文确立了优化后的饮用水中异养菌平板计数方法, 形成了该方法的团体标准。为生活饮用水中异养菌检测提供了统一技术规范, 对提升检测质量、保障饮水生物安全具有重要应用价值。

关键词 异养菌; 生活饮用水; 平板计数法; 方法验证; 团体标准

中图分类号: TU991 文献标志码: A 文章编号: 1009-0177(2026)09-0208-08

DOI: 10.15890/j.cnki.jsjs.2026.09.023

Determination of Heterotrophic Bacteria by Plate Count in Drinking Water

Zhou Wen*, Han Xue

(Shanghai Pudong Veolia Water Co., Ltd., Shanghai 200120)

Abstract [Objective] Due to the long-term lack of unified standards for the plate count method of heterotrophic bacteria in domestic drinking water based on R2A agar medium, the test results lack comparability, affecting the scientific evaluation of biological safety in domestic drinking water. To address this issue, this paper optimizes and validates the method, and establishes a unified and reliable standard testing method. [Methods] Based on the uniform use of R2A medium, this paper investigated the effects of key testing conditions such as culture time, culture temperature (22, 25, 28 ℃), and inoculation method (pour plate method, spread plate method) on the counting result; the optimal combination of culture conditions was determined through extensive comparative experiments. The optimized method was validated both within and between laboratories, and its repeatability and reproducibility were evaluated through multiple repeated experiments. [Results] Through systematic comparison and validation, the optimal conditions for the plate count method of heterotrophic bacteria were determined as follows: inoculation by pour plate method, and culture at 28 ℃ for 7 d. The validation result of this method showed that the relative standard deviations (RSD) within the laboratory were as follows. RSD of sample 1, sample 2 and sample 3 were 0.81%–2.70%, 0.60%–2.70%, and 0.51%–1.90%, respectively. RSD among laboratories were as follows. RSD of sample 1, sample 2 and sample 3 were 9.5%, 4.0%, and 3.8%, respectively. The validation result were within the acceptable range of standard samples, and the accuracy met the quality control requirements. [Conclusion] This paper establishes an optimized plate count method for heterotrophic bacteria in drinking water and forms a group standard for this method. It provides a unified technical specification for the detection of heterotrophic bacteria in drinking water, which is of great application value for improving testing quality and ensuring the biological safety of drinking water.

[收稿日期] 2025-08-15

[基金项目] 企业自研项目 (2022K-1-10); 企业自研项目 (0K-1-101)

[通信作者] 周稳 (1994—), 女, 工程师, 主要从事质量管理、微生物检测等工作, E-mail: zhouwen@pudongwater.com。

Keywords heterotrophic bacteria; drinking water; plate count; method validation; group standard

饮用水微生物安全问题直接影响人体健康,采用《生活饮用水标准检验方法 第 12 部分:微生物指标》(GB/T 5750.12—2023)中的平皿计数法明显低估了饮用水中异养菌的真实数量^[1]。采用该方法的计数结果来评价水处理的有效性、管网的清洁、卫生程度并不可靠,而饮用水的致病风险很可能较预期高得多^[2-3]。美国、德国等国家采用贫营养的 R2A 培养基、降低培养温度、延长培养时间等方法检测生活饮用水中的异养菌,明显提高了检测技术的灵敏度^[4-5]。提高饮用水中异养菌检测灵敏度对保障供水系统微生物安全具有重要意义。异养菌平板计数(HPC)检测的异养性微生物菌谱范围很广,包括细菌和真菌。其原理是测定微生物在特定的温度下、指定的培养时间内、在不含抑制性或选择性成分的培养基上生长的能力。HPC 方法检测的微生物包括对消毒敏感的微生物(如肠道细菌)、对消毒有抵抗力的微生物(如产芽孢的细菌),以及那些在处理过、无消毒剂残留的水中能快速增殖的微生物。该方法只能检测水中存活的一小部分微生物。检测到的菌落数依试验方法和条件不同而异。当前,尽管已建立了多种标准检测方法,但国际上还没有统一的 HPC 方法。可供使用的培养基种类很多,培养温度范围为 20~37 ℃,培养时间为数小时至 7 d 或更长。

因为生活饮用水具有低营养的特点,所以需要使用评估贫营养水体的培养基,R2A 培养基具有低营养、低离子强度、低培养温度(22~28 ℃)、长培养时间(5~7 d)的特点^[6],能促进受损细胞的恢复性再生,从而获得更多菌落数^[1]。

目前,国内外对生活饮用水中异养菌的研究越来越多,但是使用 R2A 培养基检测异养菌菌落总数的多个标准在培养温度、培养时间等关键参数上存在较大差异。目前存在的使用 R2A 培养基检测异养菌菌落总数且适用范围包含生活饮用水的标准有 3 个:《净水厂用煤质颗粒活性炭选择、使用及更换技术规范》(DB31/T 451—2021)^[7],该标准附录 A 介绍的 HPC 方法中培养基为营养琼脂培养基或 R2A 培养基,培养温度是 35 ℃,培养时间是(48±3) h; *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*(23rd edition) 9215^[8],该标准关于异养

菌检测提到了 5 种培养基、4 种检测方法,其中关于 R2A 培养基,建议的培养温度为 20~28 ℃,培养时间为 5~7 d,并没有给出具体的培养温度、时间、取样量等;《工业循环冷却水异养菌菌数测定平皿计数法》(HG/T 4207—2011)^[9],该标准的培养温度为(29±1) ℃,培养时间为 72 h,同时提供了 2 种培养基供选择。虽然以上标准都可以用于生活饮用水中异养菌的检测,但是各标准要求培养温度、培养基、培养时间、接种方式各不相同。

为统一国内生活饮用水中基于 R2A 培养基的异养菌检测方法,突破异养菌检测灵敏度低等技术瓶颈,本文采用更适合生活饮用水低营养特性的 R2A 培养基,并适当降低培养温度,延长培养时间,确立并验证一套适用于我国生活饮用水生物安全检测的、高灵敏度的 HPC 优化方法。

1 材料和方法

1.1 仪器

致微立式自动压力蒸汽灭菌器;恒温培养箱;生化培养箱;移液器(100~1 000 μL);无菌取样瓶,IDEXX;90 mm 培养皿;电子天平;菌落计数器;三角涂布棒。

1.2 试剂

R2A 培养基,青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;实验室用水,雀巢桶装水;IDEXX 无菌水(WSW-10),IDEXX;美国 ERA 冻干有证参考物质(ERA 084)。

1.3 样品的采集与保存

选择上海市 A 小区和 B 小区 2 个二次供水小区,设置 8 个采样点,其中 A 小区设置 A1、A2、A3、A4、A5 这 5 个采样点,B 小区设置 B1、B2、B3 这 3 个采样点。采样时首先将水龙头开至最大放水 3~5 min,然后关闭水龙头,进行火焰消毒,随后放水 30 s 待水流稳定后接取 100 mL 水样,取样后尽快送回实验室,在 4 ℃的冰箱中保存,尽快检测。

1.4 接种方式

倾注法:用移液器吸取 1 mL 水样(或稀释水样),注入灭菌培养皿内。倾注约 15 mL 已融化并冷却到 44~47 ℃的 R2A 培养基,并立即旋摇培养皿,使水样与培养基充分混匀。混匀后静置使培养基凝固。

涂布法:用移液器吸取 100~500 μL 水样加入培养皿中心位置,使用灭菌三角涂布棒,将中间水样分散开,将涂布棒紧贴在培养皿边缘,同方向转动培养皿,使水样均匀分布在培养基上。完成涂布后静置培养皿使菌液完全被吸收。

1.5 平板计数法优化

1.5.1 培养时间对检测结果的影响

为探究培养时间对检测结果的影响,本文使用 R2A 培养基,采用倾注法和涂布法对水样进行检测。分别在 22、25、28 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 12 d,每个水样做 3 个平行接种,每天计数。

1.5.2 接种方法及培养温度的比较

为探究培养温度及接种方式对计数结果的影响,本文使用 R2A 培养基,采用倾注法和涂布法对水样进行检测。分别在 22、25、28 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 7 d,每个水样做 3 个平行接种,每天计数。

1.6 不同接种方式精密度比较

组织 6 家有丰富分析测试经验的实验室,分别对 2 个水样进行检测,每个水样接种 6 个平行,以相同的培养温度及相同的培养时间对水样进行检测。

1.7 方法验证试验

按照《环境监测分析方法标准制订技术导则》(HJ 168—2020)^[10]的规定,组织 6 家具有国家认证认可监督管理委员会批准设立并授权的实验室,分别对 3 个水样和 2 个质控样进行检测,每个样品接种 6 个平行,以相同的培养温度及相同的培养时间对水样进行检测。其中 $R_{\text{SD}i}$ 为实验室内标准偏差,计算公式如式(1)~式(3); R_{SD}' 为实验室间相对标准偏差,计算公式如式(4)~式(6);重复性 r 和再现性 R ,计算公式如式(7)~式(11);质控样相对误差 $R_{\text{E}i}$ 和相对误差均值 $\overline{R}_{\text{E}}$,计算公式如式(12)和式(13),详细计算如下。

$$\overline{x} = \frac{\sum_{k=1}^n x_k}{n} \quad (1)$$

$$S_i = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^n (x_k - \overline{x})^2}{n-1}} \quad (2)$$

$$R_{\text{SD}i} = \frac{S_i}{\overline{x}_i} \times 100\% \quad (3)$$

$$\overline{x} = \frac{\sum_{i=1}^l \overline{x}_i}{l} \quad (4)$$

$$S' = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^l (\overline{x}_i - \overline{x})^2}{l-1}} \quad (5)$$

$$R_{\text{SD}}' = \frac{S'}{\overline{x}} \times 100\% \quad (6)$$

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^l S_i^2}{l}} \quad (7)$$

$$S_L = \sqrt{\frac{l \sum_{i=1}^l \overline{x}_i^2 - (\sum_{i=1}^l \overline{x}_i)^2}{l(l-1)} - \frac{S_r^2}{n}} \quad (8)$$

$$S_R = \sqrt{S_L^2 + S_r^2} \quad (9)$$

$$r = 2.8 \sqrt{S_r^2} \quad (10)$$

$$R = 2.8 \sqrt{S_R^2} \quad (11)$$

$$R_{\text{E}i} = \frac{|\overline{x}_i - \mu|}{\mu} \quad (12)$$

$$\overline{R}_{\text{E}} = \frac{\sum_{i=1}^l R_{\text{E}i}}{l} \quad (13)$$

其中: x_i ——第 i 个实验室内对某一浓度水平样品进行的第 k 次测试结果;

$\overline{x}_i$ ——第 i 个实验室内对某一浓度水平样品测试的平均值;

S_i ——第 i 个实验室内对某一浓度水平样品测试的标准偏差;

$R_{\text{SD}i}$ ——第 i 个实验室内对某一浓度水平样品测试的相对标准偏差;

l ——参加验证的实验室总数;

n ——每个实验室对某一浓度水平样品进行平行测定的次数;

$\overline{x}$ —— l 个实验室内对某一浓度水平样品测试的平均值;

S' ——实验室间标准偏差;

R_{SD}' ——实验室间相对标准偏差;

S_R ——再现性限标准差;

S_r ——重复性限标准差;

S_L —— 实验室间标准差;
 R —— 再现性限;
 r —— 重复性限;
 μ —— 标准物质的含量, CFU/mL;
 R_{Ei} —— 第 i 个实验室对某一浓度或含量水平标准物质测试的相对误差;
 $\overline{R_E}$ —— l 个验证实验室的相对误差均值。

2 结果和分析

2.1 培养时间对异养菌菌落总数的影响

为探究培养时间对异养菌技术结果的影响,从小区 A 和小区 B 两个小区的 8 个采样点采集 8 个样品,使用 R2A 培养基并采用倾注法和涂布法对样品进行接种。完成接种后的平板分别在 22、25、28 °C 培养箱中培养 12 d,检测结果如图 1 所示。其中图 1(a)~图 1(c)展示了 22、25、28 °C 检测温度下,不同接种方式异养菌菌落总数随时间的变化趋势;图 1(d)~图 1(i)的纵坐标轴是增长量,第 N 天的增长量由第 N 天异养菌菌落总数减第 $N-1$ 天异

养菌菌落总数所得;横坐标代表培养时间。其中图 1(d)~图 1(f)表示 22、25、28 °C 倾注法的生长量,图 1(g)~图 1(i)表示 22、25、28 °C 涂布法的生长量。

由图 1(a)~图 1(c)可知,不同培养温度下,菌落总数会随培养时间延长而增加。从图 1(a)、图 1(d)、图 1(g)中可以看出,在 22 °C 培养条件下,培养前 4 d 异养菌菌落总数增加缓慢,在第 7、第 8 d 迅速增加,第 9 d 后,增加量逐渐减小,菌落总数逐渐稳定;该温度下倾注法与涂布法生长趋势基本一致,计数结果无明显差异。在 25 °C 培养条件下[图 1(b)、图 1(e)、图 1(h)],培养前 2 d 异养菌菌落总数增长缓慢,3~12 d 菌落总数每天都在增长,且两种接种方式趋势相同,计数结果差异不大;在 28 °C 培养条件下[图 1(c)、图 1(f)、图 1(i)],1~4 d 异养菌菌落总数增长缓慢,5~7 d 增长逐渐加快,增长量第 7 d 达到最大,第 7 d 之后迅速降低;值得注意的是,该温度下 2 种接种方式虽呈现相似的趋势变化,但倾注法在各时间点的菌落计数均显著高于涂布法。

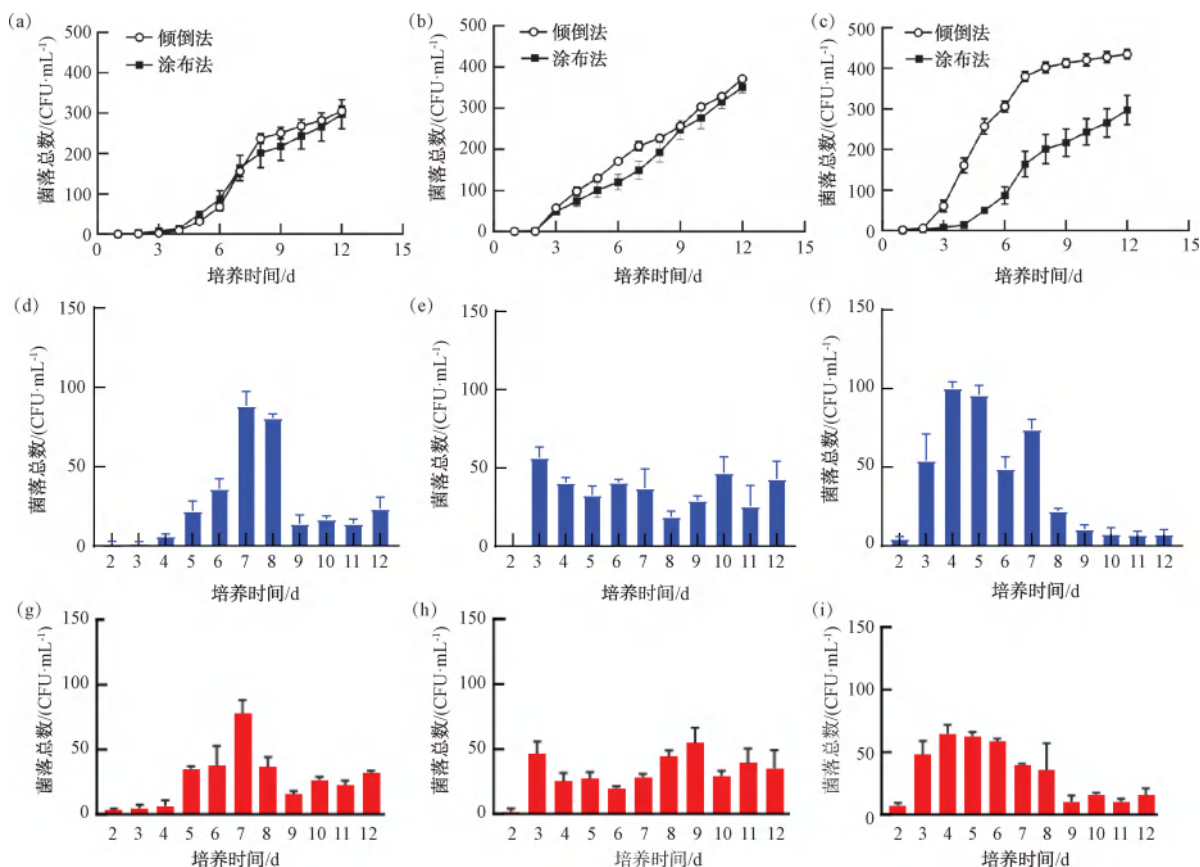


图 1 不同培养时间对异养菌菌落总数影响及相对增长速率

Fig. 1 Effect of Different Culture Time on Total Number of Heterotrophic Bacteria Colonies and Relative Growth Rates

对于平板计数法,菌落总数会随着培养时间的延长而增加。温度越高,达到 50%最高菌落总数所需时间越短^[11]。用第 T 天菌落计数结果除以第 12 d 菌落计数结果,得到第 T 天菌落数占最高计数结果的比例,根据检测结果,分别计算倾注法第 5、7、9、11 d 计数结果占第 12 d 的比例,计算结果如图 2 所示。图

2(a)~图 2(c)分别代表 22、25、28 °C 计算结果。由图 2 可知,22、25、28 °C 达到 50%最高菌落数所需时间分别为 7、7、5 d,28 °C 达到 50%最高菌落数所需时间比 22、25 °C 早 2 d;22、25、28 °C 达到 80%最高菌落数所需时间分别为 9、10、7 d;28 °C 达到 80%最高菌落数所需时间比 22、25 °C 分别早 2、3 d。

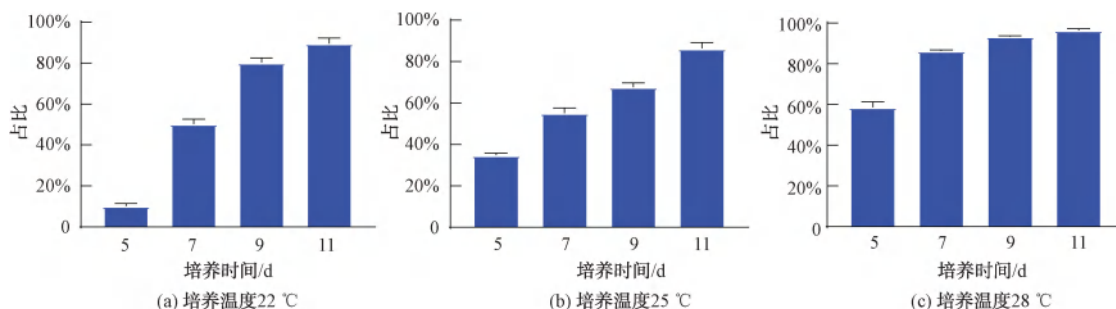


图 2 不同培养时间异养菌菌落总数占最高异养菌菌落总数的比例

Fig. 2 Ratio of Total Number of Heterotrophic Bacteria Colonies to the Highest Total Number of Heterotrophic Bacteria Colonies at Different Culture Time

时间、设备、可操作性在生活饮用水菌落总数的检测中是重要的影响因素。长期培养不适合开展常规检测,所以在短时间内完成计数,同时又能更好检测水中的异养菌菌落总数,对检测生活饮用水中异养菌菌落总数的检测方法来说很重要。故考虑选择能够最快达到最高菌落数 80%的温度作为培养温度。

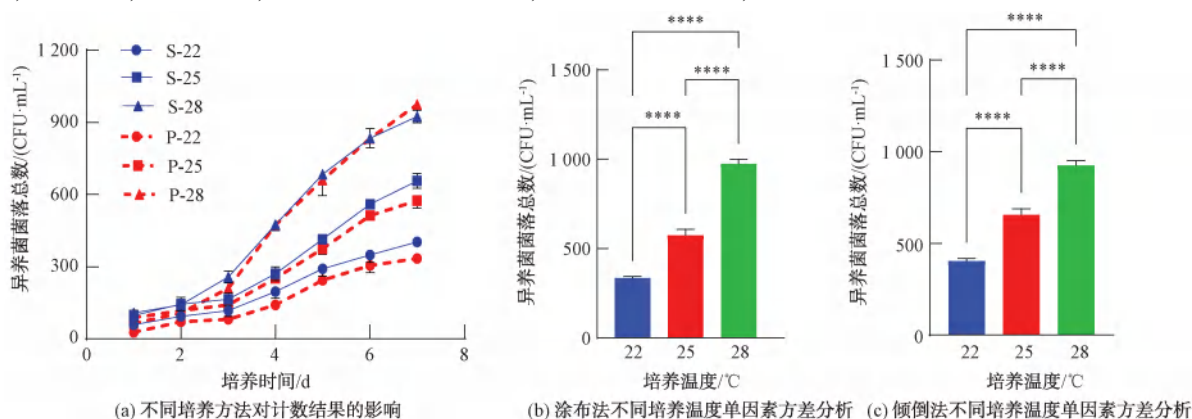
2.2 培养温度及接种方法对菌落计数的影响

同时使用倾注法和涂布法对水样进行检测,每个水样检测 3 个平行。分别在 22、25、28 °C 3 个温度下,培养 7 d,每天计数,计数结果如图 3 所示,其

中图 3(a)表示 1~7 d 的计数结果,图 3(b)~图 3(c)表示第 7 d 倾注法和涂布法不同培养温度之间单因素方差分析。

由图 3 可知,无论是倾注法还是涂布法,培养温度在 28 °C 时计数结果最高,其次是 25 °C,22 °C。从不同检测方法分析菌落计数,结果得到:倾注法(28 °C)>涂布法(28 °C)>倾注法(25 °C)>涂布法(25 °C)>涂布法(22 °C)>倾注法(22 °C),计数结果分别为 975、925、657、575、403、334 CFU/mL。

其中,采用 28 °C 时倾注法菌落计数结果最高



注:“—”代表涂布法;“----”代表倾注法;S-22—采用涂布法,22 °C 培养 7 d;S-25—采用涂布法,25 °C 培养 7 d;S-28—采用涂布法,28 °C 培养 7 d;P-22—采用倾注法,22 °C 培养 7 d;P-25—采用倾注法,25 °C 培养 7 d;P-28—采用倾注法,28 °C 培养 7 d。“****”代表极显著差异($P<0.0001$)。

图 3 不同培养温度对异养菌菌落总数影响及单因素方差分析

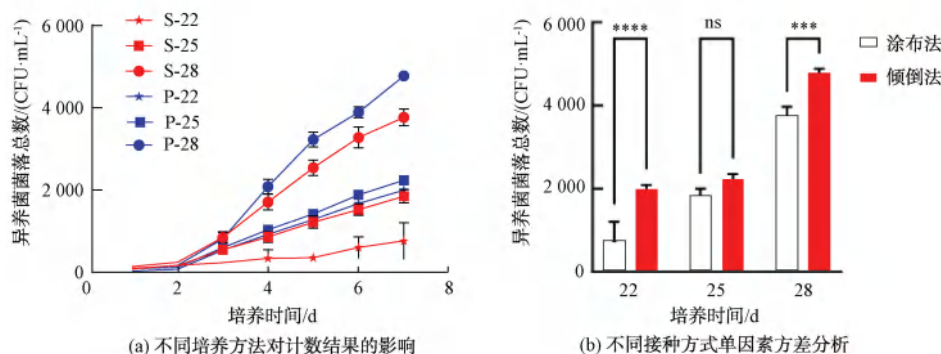
Fig. 3 Effect of Different Culture temperatures on the Total Number of Heterotrophic Bacteria Colonies and Single Factor Analysis of Variance

(975 CFU/mL),采用 22 ℃、倾注法菌落计数结果最低(334 CFU/mL),前者为后者的 2.9 倍。

图 3(b)~图 3(c) 分别表示涂布法和倾倒法检测结果的差异性。从图中可以看出两种接种方式下,不同培养温度之间检测结果有明显差异,即培养温度对检测结果的影响有统计学意义($P<0.05$)。

将相同检测方法的计数结果加和,结果如图 4(a)所示,并将第 7 d 的计数结果进行单因素方差分

析,比较接种方式对检测结果的影响,分析结果如图 4(b)所示。由图 4(a)可知,将检测结果加和后,其规律与图 3(a)基本一致。由图 4(b)可知,22、28 ℃不同接种方式对检测结果的影响有明显差异,具有统计学意义($P<0.05$);而 25 ℃时不同接种方式对检测结果的影响无明显差异,不具有统计学意义($P>0.05$)。且在 28 ℃时,倾注法检测结果明显高于涂布法。



注:“ns”代表无统计学意义($P>0.05$);“***”代表极显著差异($P<0.001$)“****”代表极显著差异($P<0.0001$)。

图 4 不同检测方法之间的相关性分析

Fig. 4 Correlation Analysis among Different Detection Methods

2.3 不同接种方实验室间精密度比较

选择 B 小区的 B2 和 B3 2 个采样点,分别采集样品 A 和样品 B,每个样品采集 6 个平行,组织 6 家实验室对样品 A 和样品 B 2 个水样进行检测,比较 2 种接种方式的实验室间精密度。以相同的培养温度及相同的培养时间对水样进行检测,其中样品 A 使用倾注法,检测及计算结果如表 1 所示;样品 B 使用涂布法,检测及计算结果如表 2 所示。

由表 1 可知,使用倾注法 6 个实验室的实验室室内相对偏差(精密度)是 0.51%~1.91%,实验室间精密度是 3.79%;由表 2 可知,使用涂布法时,实验室内相对标准偏差为 1.36%~6.82%,实验室间精密度是 12.89%。显然,无论是实验室内还是实验室间相对标准偏差,倾注法均低于涂布法,说明倾注法的重复性和再现性都高于涂布法。另外,与涂布法相比,倾注法在实际应用中推广更广泛。因为《生活饮用水标准检验方法 第 12 部分:微生物指标》(GB/T 5750.12—2023)中规定的菌落总数测定方法即采用倾注法,该方法已在饮用水行业内实施多年,具备全国范围内的技术共识与应用基础。

2.4 方法验证

2.4.1 实验室间精密度

选择在 A 小区和 B 小区的 A3、A5、B2 3 个采样点采集 3 个样品,分别为样品 1、样品 2、样品 3,每个样品采集 6 个平行样。6 家实验室统一采样倾注法、在 28 ℃培养箱内培养 7 d,每个样品做 6 次平行检测,最后分别计算实验室内精密度和实验室间精密度。检测结果如表 3 所示。

当平板上菌落数为 30~300 CFU 时,样品 1 的、样品 2、样品 3 实验室内相对标准偏差分别为 0.81%~2.7%、0.60%~2.7%、0.51%~1.9%;实验室间相对标准偏差分别为 9.5%、4.0%、3.8%;重复性限分别为 0.094、0.085、0.10;再现性限分别为 0.47、0.24、0.32。符合微生物检测精密度要求。

2.4.2 准确度

选择 ERA 2 个浓度的异养菌菌落总数质控样分别为质控样品 1(真值 127 CFU/mL,可接受值为 95~194 CFU/mL)和质控样品 2(真值为 179 CFU/mL,可接受值为 122~245 CFU/mL)。每个质控样品采购 6 支,由 6 家实验室进行检测,同时每个质控样品做 6 次重复测定,检测结果如表 4 所示。

表 1 倾注法实验室内、实验室间精密度数据
Tab. 1 Intra-Lab and Inter-Lab Precision Data of Pour Plate Method

项目	异养菌菌落总数/(CFU·mL ⁻¹)						
	实验室 1	实验室 2	实验室 3	实验室 4	实验室 5	实验室 6	实验室间
平行样 1	2. 763	2. 869	2. 708	3. 029	2. 771	2. 903	2. 790
平行样 2	2. 740	2. 792	2. 672	3. 021	2. 763	2. 892	2. 862
平行样 3	2. 820	2. 839	2. 672	2. 996	2. 785	2. 826	2. 689
平行样 4	2. 792	2. 908	2. 778	2. 978	2. 792	2. 857	3. 001
平行样 5	2. 813	2. 919	2. 653	2. 964	2. 799	2. 919	2. 781
平行样 6	2. 806	2. 833	2. 633	3. 017	2. 771	2. 919	2. 887
平均值	2. 789	2. 860	2. 686	3. 001	2. 780	2. 886	2. 835
标准偏差	0. 031 1	0. 048 4	0. 051 6	0. 026 2	0. 041	0. 037 2	0. 107 3
相对标准偏差	1. 11%	1. 69%	1. 91%	0. 87%	0. 51%	1. 29%	3. 79%

注:微生物属于正态分布,检测结果取 log。

表 2 涂布法实验室内、实验室间精密度数据
Tab. 2 Intra-Lab and Inter-Lab Precision Data Table of Pour Plate Method

项目	异养菌菌落总数/(CFU·mL ⁻¹)						
	实验室 1	实验室 2	实验室 3	实验室 4	实验室 5	实验室 6	实验室间
平行样 1	3. 210	3. 004	2. 720	2. 000	2. 940	3. 210	3. 183
平行样 2	3. 196	3. 061	3. 070	2. 279	2. 929	3. 196	3. 003
平行样 3	3. 182	2. 919	3. 088	2. 255	3. 079	3. 182	2. 954
平行样 4	3. 143	3. 114	2. 875	2. 041	2. 973	3. 143	2. 176
平行样 5	3. 238	2. 908	3. 106	2. 255	3. 068	3. 238	3. 001
平行样 6	3. 121	2. 973	2. 653	2. 146	2. 996	3. 121	3. 183
标准偏差	0. 043 3	0. 080 3	0. 199 2	0. 120 1	0. 063 7	0. 043 3	0. 375 9
相对标准偏差	1. 36%	2. 68%	6. 82%	5. 55%	2. 12%	1. 36%	12. 89%

表 3 异养菌平板计数法精密度数据汇总($l=6,n=6$)
Tab. 3 Summary of Precision Data of Heterotrophic Plate Counts Method($l=6,n=6$)

项目	试样								
	样品 1(59 CFU/mL)			样品 2(94 CFU/mL)			样品 3(702 CFU/mL)		
	$\bar{x}_i$	S_i	R_{SDi}	$\bar{x}_i$	S_i	R_{SDi}	$\bar{x}_i$	S_i	R_{SDi}
实验室 1	1. 89	0. 03	1. 7%	1. 98	0. 03	1. 4%	2. 79	0. 03	1. 1%
实验室 2	1. 80	0. 03	1. 5%	2. 03	0. 03	1. 3%	2. 86	0. 05	1. 7%
实验室 3	1. 49	0. 03	1. 8%	1. 89	0. 03	1. 4%	2. 69	0. 05	1. 9%
实验室 4	1. 59	0. 04	2. 7%	1. 86	0. 05	2. 7%	3. 00	0. 03	0. 87%
实验室 5	1. 85	0. 02	0. 81%	1. 99	0. 01	0. 60%	2. 78	0. 01	0. 51%
实验室 6	1. 87	0. 05	1. 7%	2. 06	0. 03	1. 3%	2. 89	0. 04	1. 3%
$\bar{\bar{x}}_i$	1. 77			1. 97			2. 84		
标准偏差	0. 17			0. 08			0. 11		
相对标准偏差	9. 5%			4. 0%			3. 8%		
重复性限	0. 094			0. 085			0. 10		
再现性限	0. 47			0. 24			0. 32		

表 4 异养菌平板计数法准确度数据汇总 ($l=6, n=6$)
Tab. 4 Summary of Trueness Data of Heterotrophic Plate Counts Method

项目	质控样品 1		质控样品 2	
	$\bar{x}_i$	相对误差	$\bar{x}_i$	相对误差
实验室 1	136	0.13%	175	0.45%
实验室 2	106	3.7%	160	2.2%
实验室 3	145	2.7%	185	0.62%
实验室 4	136	1.5%	180	0.05%
实验室 5	139	1.8%	213	3.3%
实验室 6	136	0.10%	182	0.36%
标准样品含量可接受值/(CFU·mL ⁻¹)	95~194		122~245	
相对误差均值	1.6%		1.2%	

由表 4 可知,6 家实验室的准确度验证结果都在标准样品的可接受范围内,准确度符合质控要求。

3 结论

(1)本文以 R2A 培养基为基础,通过对培养时间、培养温度、接种方式进行比较研究,最终确定 28℃、培养 7 d、倾注法接种是最佳的异养菌检测方法。

(2)实验室内 RSD 分别如下。样品 1:0.81%~2.7%;样品 2:0.60%~2.7%;样品 3:0.51%~1.9%。实验室间相对标准偏差如下。样品 1:9.5%;样品 2:4.0%;样品 3:3.8%。验证结果都在标准样品的可接受范围内,准确度符合质控要求。

(3)在以上研究基础上编制了《生活饮用水中异养菌检测 平板计数法》(T/SWSTA 0007—2024)^[12]团体标准,为饮用水中异养菌检测方法的规范统一奠定了基础。

参考文献

[1] 白晓慧,吴汉靓,王海亮,等. 饮用水中异养菌平板计数检测方法的比较[J]. 净水技术, 2007, 26(5): 65-67.
Bai X H, Wu H J, Wang H L, et al. Comparison of different measurement methods of heterotrophic plate count in drinking water[J]. Water Purification Technology, 2007, 26(5): 65-67.

[2] 张骏鹏,王一廉. 基于季节规律和二次供水模式的饮用水水质安全风险[J]. 净水技术, 2023, 42(1): 69-74, 152.
Zhang J P, Wang Y L. Water quality safety risks of different secondary water supply systems in different seasons[J]. Water Purification Technology, 2023, 42(1): 69-74, 152.

[3] 李文明,李伟英,陆辉,等. 供水管网水样 R2A 培养基细菌总数测定及其影响因素探究[J]. 净水技术, 2014, 33(6): 66-70.
Li W M, Li W Y, Lu H, et al. Influencing factors and determination of total bacterial count of water samples on R2A medium in water supply distribution system[J]. Water

Purification Technology, 2014, 33(6): 66-70.

[4] Hambusch B, Sacré C, Wagner I. Heterotrophic plate count and consumer's health under special consideration of water softeners [J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 92(3): 365-373.

[5] Rompré A, Servais P, Baudart J, et al. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: Current methods and emerging approaches [J]. Journal of Microbiological Methods, 2002, 49(1): 31-54.

[6] Reasoner D J, Geldreich E E. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1985, 49(1): 1-7.

[7] DB31/T 451—2021 净水厂用煤质颗粒活性炭选择、使用及更换技术规范[S].
DB31/T 451—2021 Specifications for selection, use and replacement of granular activated carbon from coal for drinking water treatment plants[S].

[8] American Public Health Association, et al. Standard methods for the examination of water and wastewater[M]. 23rd ed. Washington, D. C.: American Public Health Association, 2017.

[9] HG/T 4207—2011 工业循环冷却水异养菌菌数测定 平皿计数法[S].
HG/T 4207—2011 Examination of heterotrophic bacteria in industrial circulating cooling water-standard of plate count[S].

[10] HJ 168—2020 环境监测分析方法标准制订技术导则[S].
HJ 168—2020 Technical guideline for the development of environmental monitoring analytical method standards[S].

[11] 顾孔珍,钱纯,罗岳平. 用 R2A 培养基提高饮用水中细菌总数检出率[J]. 净水技术, 2004, 23(1): 42-44.
Gu K Z, Qian C, Luo Y P. To improve the detection rate of iktal bacteria count using R2A cultural medium[J]. Water Purification Technology, 2004, 23(1): 42-44.

[12] T/SWSTA 0007—2024 生活饮用水中异养菌检测 平板计数法[S].
T/SWSTA 0007—2024 Determination of heterotrophic bacteria in drinking water Pour plate method[S].