

中華民國國家標準	深層海水檢驗法－大腸桿菌群之測定	總號	15091-19
CNS		類號	N7001-19

## Method of test for deep sea water – Determination of coliform

1. 適用範圍：本標準規定深層海水中大腸桿菌群之檢驗。
2. 檢驗方法：檢驗大腸桿菌群常用之方法，是在定溫下將樣本培養在含有乳糖的 Endo 培養基上一段時間後，如產生具紅色色系金屬光澤的菌落數即為大腸桿菌群。
3. 器材及儀器
  - 3.1 採樣容器：50 mL 無菌有蓋之塑膠製離心試管。
  - 3.2 量筒及燒杯：50 mL 量筒及 1000 mL 燒杯各一個。
  - 3.3 培養皿塗抹棒：硼矽玻璃製，需經過消毒。
  - 3.4 培養皿：硼矽玻璃製或可拋棄式塑膠製培養皿。其大小以 60×15 mm、50×12 mm 或其他適當大小者。
  - 3.5 培養箱：溫度能保持在(35±1)℃者。
  - 3.6 無菌濾紙：市售直徑 47 mm、孔徑 0.2 μm 之混合纖維過濾膜(Mixed Cellulose Ester)。
  - 3.7 高溫滅菌裝置。
  - 3.8 加熱板：可調溫度，並附磁石攪拌功能者。
  - 3.9 天平：能精稱至 0.001 g 者。
  - 3.10 過濾幫浦及過濾器材。
4. 採樣與保存
  - 4.1 將樣水直接裝入無菌袋或是無菌試管後隨即放置於 4℃ 的冰箱中保存。
  - 4.2 水樣應於採樣後 24 小時內完成檢測並置入培養箱中培養。
5. 培養基：市售之 LES Endo agar 或 m-Endo broth 培養基粉末。其製作方法如下
  - 5.1 將 48 g 培養基粉末（依使用之藥品廠牌建議方式配製）溶於含 20 mL 酒精(95%，v/v)之 1000 mL 蒸餾水中。
  - 5.2 將此培養基溶液在加熱板上煮沸至完全溶解成透明紫色，此培養基不可高溫高壓滅菌。
  - 5.3 將稍微冷卻但尚未凝固之培養基分裝 5 mL 至直徑 60 mm 的培養皿中，置於室溫下等其凝固後，將之存放在 2~10℃ 的黑暗環境中。
  - 5.4 培養基的使用以不超過兩週為限。
6. 分析步驟
  - 6.1 取定量之樣本(50 mL)過濾於直徑 47 mm、孔徑 0.2 μm 之濾膜上。過濾壓力應小於 100 mmHg。
  - 6.2 將濾膜平貼於培養基上。

(共 2 頁)

公布日期 96 年 6 月 26 日	經濟部標準檢驗局印行	修訂公布日期 年 月 日
-----------------------	------------	-----------------

6.3 蓋上培養皿蓋子，放入 35℃ 的培養箱內，培養 24 小時。

6.4 將培養後之培養皿，以目視方式計數培養皿濾紙上所呈現之具紅色系金屬光澤的光點(CFU; Colony Forming Units)，並記錄之。

7. 大腸桿菌群(coliform)數量計算公式

$$\text{coliform (CFU/100 mL)} = \frac{n}{V} \times 100$$

n：培養皿上計數到之紅色色系金屬光澤之菌落數。

V：樣本過濾於濾紙上之水樣體積(50 mL)。

8. 品質管制

8.1 微生物採樣人員及檢測人員應具備微生物基本訓練及知識。

8.2 進行微生物檢測時，所用的盛裝器具均應經滅菌處理。

8.3 應記錄所有水樣的原始數據，以備查核之用。

8.4 每個水樣需至少進行三重複。

8.5 實驗均在無菌平台上進行。

8.6 檢測紀錄須註明採樣時間、培養起始及終了時間、培養基名稱、培養溫度及各結果的數據等相關資料。

8.7 使用過後器皿於正常棄置前之處理方法(可依以下任一方式執行)

8.7.1 以滅菌釜滅菌。

8.7.2 將使用過之培養瓶、培養皿置於大型鍋內，加滿水(須蓋過器皿)加熱沸騰 45 分鐘。

8.7.3 在每一培養皿中倒入 5 mL(約一茶匙)漂白劑，至少放置 5 分鐘後，置於密封袋內丟棄。

備考 1. 大腸桿菌群是鳥類或是哺乳動物腸管內之常見菌，它隨著糞便排出而散播，但由於大腸桿菌群在高鹽海水狀況下很難存活，因此在自然海洋水體中均無法被檢測出有大腸桿菌群存在。

2. 深層海水泛指位於海平面 200 公尺以下之海水。大腸桿菌群一般無法在此海水中被檢測出，本方法係作為污染指標檢測。