



文章栏目：环境监测技术

DOI 10.12030/j.cjee.202009138

中图分类号 X832

文献标识码 A

张艳芬, 李红岩, 刘明洋, 等. 颗粒物对滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法检测贾第鞭毛虫和隐孢子虫的影响[J]. 环境工程学报, 2021, 15(4): 1458-1464.

ZHANG Yanfen, LI Hongyan, LIU Mingyang, et al. Influence of particles on the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* by membrane concentration/density gradient separation and immunofluorescence method[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(4): 1458-1464.

## 颗粒物对滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法检测贾第鞭毛虫和隐孢子虫的影响

张艳芬<sup>1</sup>, 李红岩<sup>1,\*</sup>, 刘明洋<sup>2</sup>, 郑蓓<sup>1</sup>

1. 中国科学院生态环境研究中心, 中国科学院饮用水科学与技术重点实验室, 北京 100085
2. 天津城建大学环境与市政工程学院, 天津 300384

第一作者: 张艳芬(1991—), 女, 博士, 工程师。研究方向: 水中微生物检测。E-mail: yanfenzhang@rcees.ac.cn

\*通信作者: 李红岩(1976—), 女, 博士, 正高级工程师。研究方向: 水质分析。E-mail: hyli@rcees.ac.cn

**摘要** 滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法因具有成本低廉和性能稳定的特点, 目前已列入《城镇供水水质标准检验方法》(CJ/T 141-2018)用于水源水和城镇供水中贾第鞭毛虫和隐孢子虫(简称两虫)的检测。针对实际生产中, 水中颗粒物会影响该方法回收率和稳定性的情况, 在前期研究的基础上, 结合颗粒物大小, 进一步探索了浑浊度对滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法检测水中两虫的影响。结果表明, 颗粒物大小仅对隐孢子虫回收率有影响, 对贾第鞭毛虫无显著影响。其中, 隐孢子虫在 5 μm 为主要颗粒物的水中获得最高回收率。浑浊度是影响两虫回收率的主要因素, 20 NTU 以下浑浊度水样适合采用滤膜浓缩法富集浓缩其中的两虫, 尤其是 3~5 NTU; 20 NTU 及其以上浑浊度的水样可采用沉淀浓缩法, 在 30~50 NTU 时有最佳回收率。

**关键词** 贾第鞭毛虫; 隐孢子虫; 浑浊度; 颗粒物直径; 密度梯度分离荧光抗体法

鉴于饮用水在隐孢子虫和贾第鞭毛虫(简称两虫)传播以及其在大规模爆发流行病中的明确作用, 两虫不仅被公共卫生部门关注, 更是日益受到各国水行业专家的广泛关注和高度重视, 并被世界卫生组织(WHO)作为原生动植物病原体明确纳入《饮用水水质准则》<sup>[1]</sup>。我国于 2006 年将两虫纳入了《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006), 并规定每 10 L 水中检出不得超过 1 个。目前, 被广泛认可和使用的两虫检测方法是美国环境保护署(EPA)的方法 1623, 即免疫磁分离荧光抗体法, 我国《生活饮用水标准检验方法》(GB/T 5750.12-2006)亦采用此法。但由于该方法耗材和设备成本较高, 难以在一般水质监测单位或实验室推广并广泛应用。本团队在借鉴日本 2007 年颁布的《水道水指示菌及隐孢子虫等检测方法》(健水发第 0330006 号)的基础上, 使用醋酸纤维膜代替滤囊/滤芯过滤样品、膜溶解法代替淘洗浓缩样品、密度梯度离心代替免疫磁分离纯化样品, 建立了基于膜溶解-密度梯度分离的两虫检测方法<sup>[2-3]</sup>。该方法在保障美国 EPA 1623 号方法和国标方法回收率的基础上, 可降低耗材成本 85%, 同时还可降低设备投入成本 75%。目前, 该方法已列

收稿日期: 2020-09-18; 录用日期: 2020-12-21

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2018ZX07502-001-012)

入住房与城乡建设部行业标准《城镇供水水质标准检验方法》(CJ/T 141-2018)。

在行业应用和实际生产过程中, 饮用水及其水源水中通常含有一定量的颗粒物<sup>[4]</sup>。作为反映水中颗粒物的综合参数, 浑浊度是水质检测中的常规指标<sup>[5]</sup>。我国水厂出水的浑浊度中值为0.26 NTU, 95%置信区间为0.07~0.87 NTU<sup>[6]</sup>。水源水根据区域具有不同的浑浊度特征, 北方地区如松花江为水源水的冬季浑浊度低于20 NTU, 夏季浑浊度高达120 NTU<sup>[7]</sup>; 中西部地区以渭河为代表的水源水浑浊度高达150 NTU<sup>[8]</sup>; 而南方水源水具有低浊的特点, 以长江、东江、闽江等12处水源地的调查研究结果显示<sup>[9-10]</sup>, 其78.6%的水源水浑浊度平均值在50 NTU以下。因此, 我国水厂进水的浑浊度变化范围较宽, 中值为11.00 NTU, 95%置信区间则为0.81~208.80 NTU<sup>[6]</sup>。水体中颗粒物可通过吸附沉降或者团聚包裹等影响两虫检测方法的准确性和稳定性<sup>[11-12]</sup>。有研究发现, 高浑浊度水样的两虫回收率均小于低浑浊度水样<sup>[13]</sup>, 且隐孢子虫卵囊的回收率与浑浊度呈负相关<sup>[14-15]</sup>, 这说明高浓度颗粒物不利于两虫的检测。但FENG等<sup>[12]</sup>研究发现颗粒物的添加可以提高隐孢子虫的回收率。同时, 也有部分研究认为, 浑浊度对两虫的回收率无显著影响<sup>[16-17]</sup>。因此, 水中颗粒物对两虫检测回收率的具体影响有待进一步细致深入的研究。

根据我国水质浑浊度状况, 本研究结合颗粒物大小进行了双因素实验, 分析了颗粒物大小和浑浊度对滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法检测两虫影响, 并在此基础上分析了适用于滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法检测两虫的浑浊度条件, 以为实际水样的两虫检测提供参考。

## 1 实验方法

### 1.1 颗粒物大小与浑浊度的双因素实验

天然水体中造成浊度的胶体颗粒主要是黏土<sup>[18]</sup>。高岭土作为一种黏土矿物, 具有良好的吸附能力, 是模拟水样浑浊度最常用的物质, 目前已广泛用于实验室内模拟生活饮用水以及水源水等水样的颗粒物研究<sup>[19-23]</sup>。本研究根据两虫大小(贾第鞭毛虫孢囊椭圆形, 长为8~14  $\mu\text{m}$ , 宽为7~10  $\mu\text{m}$ ; 隐孢子虫卵囊圆形, 直径2~6  $\mu\text{m}$ ), 选用粒径2.5、5、11  $\mu\text{m}$ 的高岭土(麦克林, 上海)和纯水配置成10 L浑浊度分别为5、10、20、40、60 NTU的悬液。2100Q便携式浑浊度仪(哈希, 美国)用于水中浑浊度的测定。100个贾第鞭毛虫孢囊和100个隐孢子虫卵囊(Waterborne, 美国)加入上述不同浑浊度的水样, 每个浑浊度水平的样品制备3个平行。两虫检测使用滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法进行检测, 步骤参考CJ/T 141-2018 10.1。

### 1.2 浑浊度对滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法的影响实验

使用5  $\mu\text{m}$ 粒径的高岭土(麦克林, 上海)和纯水配置10 L浑浊度分别为0.26、1、3、5、10、20、40、60 NTU的悬液。浑浊度使用2100Q便携式浑浊度仪(哈希, 美国)测定。100个贾第鞭毛虫孢囊和100个隐孢子虫卵囊(Waterborne, 美国)加入上述不同浑浊度的水样, 每个浑浊度水平的样品制备6个平行。滤膜浓缩步骤以及密度梯度分离荧光抗体染色步骤参考CJ/T 141-2018 10.1。

### 1.3 浑浊度对沉淀浓缩/密度梯度分离荧光抗体法的影响实验

使用粒径5  $\mu\text{m}$ 的高岭土(麦克林, 上海)和纯水配置10 L浑浊度分别为15、20、30、50、75、100 NTU的悬液。浑浊度使用2100Q便携式浑浊度仪(哈希, 美国)测定。100个贾第鞭毛虫孢囊和100个隐孢子虫卵囊(Waterborne, 美国)加入上述不同浑浊度的水样, 每个浑浊度水平的样品制备6个平行。沉淀浓缩步骤以及密度梯度分离荧光抗体染色步骤参考CJ/T 141-2018 10.1。

### 1.4 统计分析

统计学分析使用PASW Statistics 18软件进行。对颗粒物粒径与浑浊度双因素实验的结果进行双因素方差分析, 比较各因素对两虫回收率影响的大小及其显著性。图形绘制使用OriginPro 2017软件进行。

## 2 结果与讨论

### 2.1 颗粒物粒径和浊度对水中两虫检测的双因素影响

不同颗粒物大小和浊度下水中两虫检测的结果如表1所示。贾第鞭毛虫的回收率为9.00%~63.33%，隐孢子虫的回收率在2.67%~31.00%。其中，在2.5 μm大小颗粒物构成的浑浊水样中，浊度5 NTU时贾第鞭毛虫有最佳回收率59.33%，浊度10 NTU时隐孢子虫有最佳回收率20.67%，相对标准偏差(RSD)分别为4.24%和10.07%。在5 μm大小颗粒物构成的浑浊水样中，浊度5 NTU时贾第鞭毛虫有最佳回收率61.33%，浊度10 NTU时隐孢子虫有最佳回收率31.00%，RSD分别为4.10%和3.23%。在11 μm大小颗粒物构成的浑浊水样中，浊度10 NTU时贾第鞭毛虫有最佳回收率63.33%，浊度10 NTU时隐孢子虫有最高回收率30.67%，RSD分别为3.97%和6.79%。综合以上结果可以看出，该方法在低浊度水样中两虫检测时可获得相对较高的回收率和稳定性，且在相同浊度下对不同颗粒物大小所对应两虫的回收率存在差异。

通过双因素方差分析的结果(表2)可以看出，贾第鞭毛虫的回收率受浊度的影响( $P=0.00$ )和颗粒物大小与浊度交互作用的影响( $P=0.00$ )均为显著( $P<0.05$ )，而受颗粒物大小的影响不显著

表1 不同颗粒物大小以及不同浊度下两虫的回收率

Table 1 Recoveries of *Giardia* and *Cryptosporidium* under different particle sizes and turbidity

| 原虫类型  | 浊度/NTU | 2.5 μm颗粒物 |       | 5 μm颗粒物 |       | 11 μm颗粒物 |       |
|-------|--------|-----------|-------|---------|-------|----------|-------|
|       |        | 回收率均值/%   | RSD/% | 回收率均值/% | RSD/% | 回收率均值/%  | RSD/% |
| 贾第鞭毛虫 | 5      | 59.33     | 4.24  | 61.33   | 4.10  | 33.33    | 4.58  |
|       | 10     | 32.67     | 6.37  | 32.33   | 9.45  | 63.33    | 3.97  |
|       | 20     | 29.67     | 8.48  | 18.33   | 13.73 | 20.33    | 10.24 |
|       | 40     | 16.67     | 3.46  | 15.00   | 6.67  | 22.00    | 4.55  |
|       | 60     | 13.00     | 15.38 | 17.00   | 15.56 | 9.00     | 22.22 |
| 隐孢子虫  | 5      | 15.33     | 19.92 | 27.67   | 4.17  | 4.67     | 53.93 |
|       | 10     | 20.67     | 10.07 | 31.00   | 3.23  | 30.67    | 6.79  |
|       | 20     | 19.00     | 5.26  | 16.33   | 9.35  | 15.67    | 9.75  |
|       | 40     | 14.00     | 7.14  | 12.67   | 12.06 | 5.00     | 40.00 |
|       | 60     | 12.33     | 9.36  | 11.67   | 9.90  | 2.67     | 94.37 |

表2 颗粒物大小和浊度对贾第鞭毛虫回收率的主体间效应检验

Table 2 Intersubjective effects of particle size and turbidity on the recovery of *Giardia*

| 方差来源    | Ⅲ型平方和                   | 自由度 | 均方         | F         | P     |
|---------|-------------------------|-----|------------|-----------|-------|
| 校正模型    | 13 708.444 <sup>a</sup> | 14  | 979.175    | 211.841   | 0.000 |
| 截距      | 39 308.889              | 1   | 39 308.889 | 8 504.327 | 0.000 |
| 粒径      | 16.178                  | 2   | 8.089      | 1.750     | 0.191 |
| 浊度      | 9 947.111               | 4   | 2 486.778  | 538.005   | 0.000 |
| 粒径 * 浊度 | 3 745.156               | 8   | 468.144    | 101.281   | 0.000 |
| 误差      | 138.667                 | 30  | 4.622      |           |       |
| 总计      | 53 156.000              | 45  |            |           |       |
| 校正的总计   | 13 847.111              | 44  |            |           |       |

注：a表示  $R^2=0.990$ (调整  $R^2=0.985$ )。

( $P=0.19>0.05$ ); 根据主体间效应检验后  $F$  值的大小<sup>[24]</sup>, 可以看到, 浑浊度对回收率的影响要大于颗粒物大小与浑浊度的交互作用。

隐孢子虫的回收率经过双因素方差分析之后(表3), 可以看到其受浑浊度、颗粒物大小及颗粒物大小与浑浊度的交互作用的影响均显著( $P<0.05$ ); 根据三者的  $F$  值可以看出, 浑浊度对隐孢子虫回收率的影响最大, 颗粒物大小的影响次之, 颗粒物大小与浑浊度的交互作用影响最小。

表3 颗粒物大小和浑浊度对隐孢子虫回收率的主体间效应检验

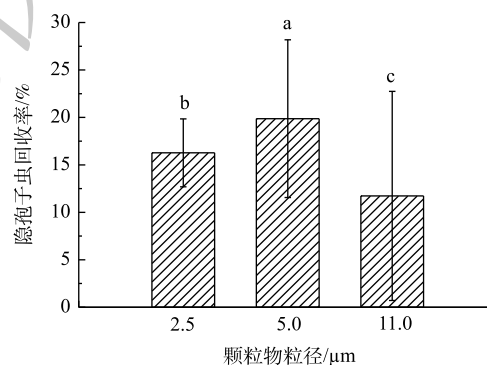
| 方差来源     | Ⅲ型平方和                  | 自由度 | 均方         | $F$       | $P$   |
|----------|------------------------|-----|------------|-----------|-------|
| 校正模型     | 3 246.578 <sup>a</sup> | 14  | 231.898    | 71.476    | 0.000 |
| 截距       | 11 456.089             | 1   | 11 456.089 | 3 530.986 | 0.000 |
| 粒径       | 498.311                | 2   | 249.156    | 76.795    | 0.000 |
| 浑浊度      | 1 909.689              | 4   | 477.422    | 147.151   | 0.000 |
| 粒径 * 浑浊度 | 838.578                | 8   | 104.822    | 32.308    | 0.000 |
| 误差       | 97.333                 | 30  | 3.244      |           |       |
| 总计       | 14 800.000             | 45  |            |           |       |
| 校正的总计    | 3 343.911              | 44  |            |           |       |

注: a表示  $R^2=0.971$ (调整 $R^2=0.957$ )。

综合以上结果可知, 浑浊度是影响两虫回收率的主要因素, 颗粒物大小仅对隐孢子虫的回收率有显著影响, 在颗粒物大小对隐孢子虫回收率的影响中, 粒径为  $5\ \mu\text{m}$  的颗粒物对隐孢子虫回收率要显著高于  $2.5\ \mu\text{m}$  和  $11\ \mu\text{m}$  的颗粒物(图1)。在 HSU 等<sup>[25]</sup> 的研究中发现, 粒径为  $3\sim 10\ \mu\text{m}$  的微粒与隐孢子虫卵囊的检出显著相关, 但与贾第鞭毛虫包囊的检出不相关, 这种相关性则很可能来自于水样中颗粒物的大小对隐孢子虫检测回收率的影响。

## 2.2 浑浊度对滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法检测两虫的影响

将浑浊度对滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法检测两虫的影响进行进一步研究, 结果表明, 不同浑浊度下两虫检测的回收率随着浑浊度的升高呈现先增加后降低的趋势(图2和图3)。贾第鞭毛虫的回收率在  $5\ \text{NTU}$  时有最高值  $46\%$ , 并在  $0.26\sim 20\ \text{NTU}$  内保持在  $20\%$  以上, 在高浑浊度  $40\ \text{NTU}$  和  $60\ \text{NTU}$  下的回收率分别降至  $17\%$  和  $12\%$ 。隐孢子虫的回收率在  $3\ \text{NTU}$  时有最高值( $50\%$ ), 在  $0.26\sim 10\ \text{NTU}$  内保持在  $20\%$  以上, 在  $20\ \text{NTU}$  时的回收率降为  $16\%$ , 在高浑浊度  $40\ \text{NTU}$  和  $60\ \text{NTU}$  下的回收率分别降至  $10\%$  和  $7\%$ 。以上结果说明, 滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法较适合浑浊度小于  $20\ \text{NTU}$  的低浑浊度水样两虫检测, 尤其在浑浊度  $3\sim 5\ \text{NTU}$  时具有较高的两虫回收率。这一结果与文献中通过提高水样浑浊度至  $4\ \text{NTU}$  来有效提高低浑浊度水样的浓缩回收率<sup>[26]</sup> 的结果相一致, 这说明一定浓度颗粒物的存在有利于两虫附着, 使两虫在离心浓缩时更容易被富集<sup>[26]</sup>, 而颗粒物浓度过高则容易堵塞滤膜, 从而使回收率降低。而我国饮用水的浑浊度一般较低, 因此, 推荐采用此方法进行两虫检测, 并且可通过在



注: a, b, c 表示不同颗粒物粒径之间的回收率存在显著差异(单因素方差分析,  $P<0.05$ )。

图1 颗粒物大小对隐孢子虫回收率的影响

Fig. 1 Effect of particle size on *Cryptosporidium* recovery

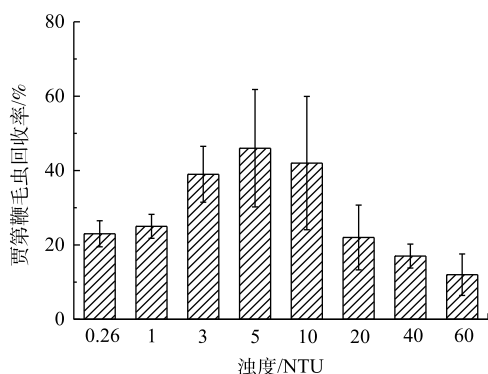


图2 浊度对滤膜浓缩法检测贾第鞭毛虫的影响

Fig. 2 Effect of turbidity on the detection of *Giardia* by membrane filtration concentration

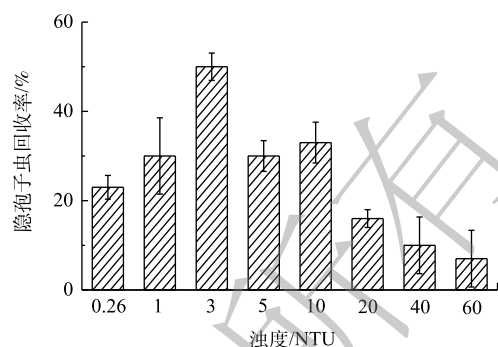


图3 浊度对滤膜浓缩法检测隐孢子虫的影响

Fig. 3 Effect of turbidity on the detection of *Cryptosporidium* by membrane filtration concentration

检测时添加 5  $\mu\text{m}$  的颗粒物将浊度调整至 3~5 NTU 以提高回收率。

### 2.3 浊度对沉淀浓缩/密度梯度分离荧光抗体法检测两虫的影响

为进一步探索高浊度水中两虫检测的适用方法,本研究采用沉淀浓缩/密度梯度分离荧光抗体法进行检测,并考察了不同浊度对两虫检测回收率的影响,实验结果如图4和图5所示。在15~100 NTU内贾第鞭毛虫和隐孢子虫的回收率均随着浊度的升高而呈现先增加后降低的趋势。贾第鞭毛虫在浊度50 NTU时有最高的回收率28%,并在20~75 NTU内保持回收率20%以上,100 NTU时的回收率为10%。隐孢子虫在30 NTU时有最高的回收率42%,并在15~75 NTU内保持回收率20%以上,100 NTU时的回收率为18%。

综上所述可知,高浊度水样适合采用沉淀浓缩/密度梯度分离荧光抗体法进行检测,尤其在30~50 NTU内可获得较好的检测回收率,并且可在20 NTU时获得与滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法相近的贾第鞭毛虫回收率,以及显著( $P < 0.05$ )高于滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法的隐孢子虫回收率。沉淀浓缩法对高浊度水样的检测优势与沉淀浓缩过程中的混凝作用相关,高浊度水样中的离子间碰撞概率增大,有利于两虫在碳酸钙沉淀的生成过程中被裹挟着沉积下来<sup>[27-28]</sup>。周美芝等<sup>[29]</sup>采用此方法对40 NTU水样进行检测,获得的两虫回收率也均高于20%。在实际水样检测中,水源水的浊度范围较宽,建议在检测两虫之前先测定水样浊度,根据水样浊度选择相应的检测方法,20 NTU以下水样采用滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法,20 NTU及其以上浊度水样建议采用沉淀浓缩/密度梯度分离荧光抗体法。

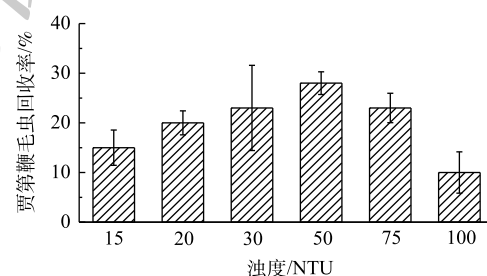


图4 浊度对沉淀浓缩法检测贾第鞭毛虫回收率的影响

Fig. 4 Influence of turbidity on the recovery of *Giardia* by precipitation concentration

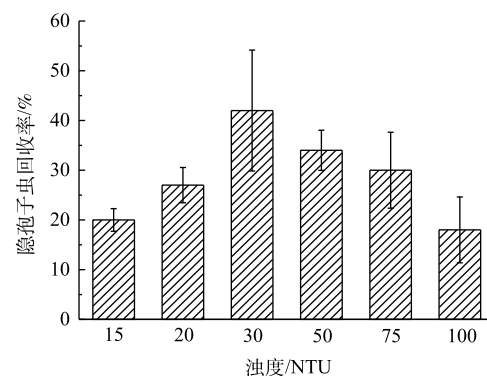


图5 浊度对沉淀浓缩法检测隐孢子虫回收率的影响

Fig. 5 Influence of turbidity on the recovery of *Cryptosporidium* by precipitation concentration

### 3 结论

1) 与两虫大小相近的颗粒物大小对贾第鞭毛虫的检测回收率无显著影响, 对隐孢子虫回收率的影响较为显著, 其中 5  $\mu\text{m}$  大小颗粒物有利于提高隐孢子虫检测回收率。

2) 浑浊度是影响两虫回收率的主要因素。滤膜浓缩/密度梯度分离荧光抗体法适用于浑浊度小于 20 NTU 的低浑浊度水样的检测, 尤其对于 3~5 NTU 时有最佳回收率; 20 NTU 及其以上浑浊度的水样适合采用沉淀浓缩/密度梯度分离荧光抗体法, 并在 30~50 NTU 时可获得最佳回收率。

3) 根据我国水质浑浊度状况, 建议采用滤膜浓缩密度梯度分离荧光抗体法检测生活饮用水, 并可在浓缩水样前通过约 5  $\mu\text{m}$  颗粒物调节浑浊度至 3~5 NTU 来提高方法回收率; 检测水源水中两虫含量时, 可根据实际浑浊度值选择相应的方法进行检测。

### 参考文献

- [1] Water Health Organization. Guidelines for Drinking Water Quality[M]. Forth Edition. London: IWA Publishing, 2011.
- [2] 张冬青, 李红岩, 李栋, 等. 密度梯度分离纯化/免疫荧光技术检测饮用水中两虫[J]. *中国给水排水*, 2009, 25(2): 78-80.
- [3] 陈智敏, 张昱, 杨敏, 等. 密度梯度分离/免疫荧光技术检测再生水中隐孢子虫和贾第鞭毛虫[J]. *环境工程学报*, 2011, 5(5): 982-986.
- [4] 林涛, 王磊磊, 陈卫, 等. 饮用水处理中颗粒物数量变化及粒径分布规律[J]. *河海大学学报(自然科学版)*, 2008, 36(3): 326-329.
- [5] 黄源. T市供水管网浑浊度特性的研究及其风险评估的应用[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2013.
- [6] 韩明毅. 贾第鞭毛虫、隐孢子虫共感染的风险评价及控制策略研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2019.
- [7] 高云亮, 闫雷. 北方某水源水中金属元素与浑浊度的相关性分析[J]. *中国给水排水*, 2017, 33(9): 66-68.
- [8] 孙程. 渭河陕西段水环境污染和水环境容量的计算模拟[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2004.
- [9] 徐鸿凯, 高炜, 高乃云, 等. 浅议某自来水管的黄浦江原水和出厂水质之十年变迁[J]. *城镇供水*, 2011(1): 45-49.
- [10] 刘丽君, 吴芳, 张金松, 等. 南方12城市水源水质特征分析与评价[J]. *中国建设信息(水工业市场)*, 2007(2): 57-60.
- [11] 李青松, 高乃云, 陈国光, 等. 贾第虫与隐孢子虫与饮用水浑浊度的关系[J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2008, 40(6): 985-988.
- [12] FENG Y Y, ONG S L, HU J Y, et al. Effect of particles on the recovery of *Cryptosporidium* oocysts from source water samples of various turbidities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(4): 1898-1903.
- [13] DIGIORGIO C L, GONZALEZ D A, HUITT C C. *Cryptosporidium* and *Giardia* recoveries in natural waters by using environmental protection agency method 1623[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(12): 5952-5955.
- [14] FRANCY D S, SIMMONS O D, WARE M W, et al. Effect of seeding procedures and water quality on recovery of *Cryptosporidium* oocysts from stream water by using U.S. Environmental protection agency method 1623[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(7): 4118-4128.
- [15] KUHN R C, OSHIMA K H. Hollow-fiber ultrafiltration of *Cryptosporidium parvum* oocysts from a wide variety of 10-L surface water samples[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2002, 48(6): 542-549.
- [16] BORCHARDT M A, SPENCER S K. Concentration of *Cryptosporidium*, microsporidia and other water-borne pathogens by continuous separation channel centrifugation[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2002, 92(4): 649-656.
- [17] MCCUIN R M, BUKHARI Z, SOBRINHO J, et al. Recovery of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from source water concentrates using immunomagnetic separation[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2001, 45(2): 69-76.
- [18] 张金凤, 王琴, 马放, 等. 高岭土悬液絮凝形态研究[J]. *图书情报导刊*, 2008, 18(24): 132-133.
- [19] 蒋雪. FSS及PFS混凝影响因素及机理研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.
- [20] 黄滢. 联用强化混凝与化学沉淀法去除水中重金属离子的研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2008.

- [21] 焦淑芳, 李瑾, 马启敏. 羧甲基壳聚糖两性混凝剂对高岭土的混凝特性[J]. 环境科学与技术, 2013, 36(11): 22-25.
- [22] 李永红, 张伟, 张晓健, 等. 浸没式中空纤维超滤膜处理高浊度地表水的试验研究[C]//中国土木工程学会, 中国工业经济联合会, 上海市供水行业协会. 中国土木工程学会水工业分会全国给水深度处理研究会年会. 2010.
- [23] 张友宏, 陈萌萌, 王郑, 等. 聚合氯化铝对高浊度水源水的絮凝效果及机理研究[J]. 化工技术与开发, 2016, 45(12): 39-42.
- [24] 吴俊奇, 李庚, 马龙友. 运用双因素方差分析法分析水处理实验数据[J]. 实验技术与管理, 2015, 32(5): 42-44.
- [25] HSU B M, YEH H H. Removal of giardia and cryptosporidium in drinking water treatment: A pilot-scale study[J]. *Water Research*, 2003, 37(5): 1111-1117.
- [26] 张彤, 胡洪营, 宗祖胜. 污水再生处理系统中隐孢子虫和贾第鞭毛虫检测方法的优化[J]. 环境科学, 2006, 27(12): 2547-2552.
- [27] 刘美霞, 杨忠委, 王华然, 等. 混凝沉淀法富集分离水中隐孢子虫卵囊的实验研究[J]. 环境与健康杂志, 2013, 30(2): 102-104.
- [28] VESEY G, SLADE J S, BYRNE M, et al. A new method for the concentration of *Cryptosporidium* oocysts from water[J]. *Journal of Applied Bacteriology*, 1993, 75(1): 82-86.
- [29] 周美芝, 于建伟, 安伟, 等. 碳酸钙沉淀法检测混浊原水中两虫的研究[J]. 中国给水排水, 2013, 29(7): 37-40.

(责任编辑: 曲娜)

## Influence of particles on the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* by membrane concentration/density gradient separation and immunofluorescence method

ZHANG Yanfen<sup>1</sup>, LI Hongyan<sup>1,\*</sup>, LIU Mingyang<sup>2</sup>, ZHENG Bei<sup>1</sup>

1. Key Laboratory of Drinking Water Science and Technology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2. School of Environmental and Municipal Engineering, Tianjin Chengjian University, Tianjin 300384, China

\*Corresponding author, E-mail: hyl@rcees.ac.cn

**Abstract** Due to its low cost and stable performance, the membrane concentration/density gradient separation and immunofluorescence method has been listed in the Standard of Water Quality Examination Methods for Urban Water Supply (CJ/T 141-2018) for the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* in urban supplied water and source water. In view of the fact that particles in water will affect the recovery and stability of this method, based on the previous research and in combination of particle size, the influence of turbidity and particle size on the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* in water was further explored. Results showed that particle size contributing to the turbidity of water only affected the recovery of *Cryptosporidium*, while had no significant effect on the test of *Giardia*, of which the highest recovery of *Cryptosporidium* occurred in water mainly containing particles with 5  $\mu\text{m}$  size. Turbidity is the main factor affecting the recovery of this method. The membrane concentration method was preferred to monitor *Giardia* and *Cryptosporidium* in water samples with turbidity below 20 NTU, with the best recovery at 3~5 NTU. The sedimentation concentration method was suitable for water samples with turbidity higher than 20 NTU, with the best recovery for *Giardia* and *Cryptosporidium* at 30~50 NTU.

**Keywords** *Giardia*; *Cryptosporidium*; turbidity; particle size; density gradient separation and immunofluorescence method