

氯对紫外线灭活枯草芽孢杆菌的协同作用

张永吉, 刘文君, 张琳

(清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要: 以枯草芽孢杆菌为研究对象, 研究了紫外线和氯单独及联合作用时的灭菌效果. 结果表明, 单独氯消毒时, 对枯草芽孢杆菌的灭活效果很低, CT 值为 $300(\text{mg}\cdot\text{min})/\text{L}$ 时, 灭活率仅为 0.53 个对数级; 单独紫外线消毒对枯草芽孢杆菌有较好的灭活效果, 紫外线剂量为 $40\text{mJ}/\text{cm}^2$ 时, 对其有 3.3 个对数级的灭活效果. 紫外线和氯联合消毒时, 对枯草芽孢杆菌的灭活效果大大增强, 当紫外线剂量为 $40\text{mJ}/\text{cm}^2$, 氯的 CT 值为 $300(\text{mg}\cdot\text{min})/\text{L}$ 时, 对枯草芽孢杆菌的灭活率可达 6.2 个对数级, 远高于二者单独作用效果之和. 紫外线与氯的作用顺序对消毒效果有明显影响, 以先紫外线照射后再加氯的效果最好. 通过 Berenbaum 公式计算可知, 紫外线与氯联合灭菌是一种协同作用, 并且随着紫外线剂量及氯投量的增加, 协同作用增强.

关键词: 紫外线; 氯; 消毒; 枯草芽孢杆菌; 协同作用

中图分类号: X33, TU991.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)02-0329-04

Synergistic Disinfection of *Bacillus subtilis* Spores by UV Irradiation and Chlorine

ZHANG Yong-ji, LIU Wen-jun, ZHANG Lin

(Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: The inactivation effect of *Bacillus subtilis* spores was studied, both UV irradiation and chlorine disinfection individual and combined application process was examined with laboratory water samples. Results show that only 0.53 lg reduction was achieved by chlorine with CT value of $300(\text{mg}\cdot\text{min})/\text{L}$, UV irradiation is more effective than that of chlorination, at a UV dose of $40\text{mJ}/\text{cm}^2$ results in 3.3 lg reduction. Up to 6.2 lg reduction are achieved with a UV dose of $40\text{mJ}/\text{cm}^2$ following by chlorine with CT value of $300(\text{mg}\cdot\text{min})/\text{L}$. The calculation from the Berenbaum formula verified that the effect of the combined applications of UV irradiation and chlorine in inactivating *Bacillus subtilis* is a kind of synergistic effect.

Key words: ultraviolet irradiate; chlorine; disinfection; *Bacillus subtilis* spores; synergism

氯消毒会产生对人体健康具有危害作用的三卤甲烷、卤乙酸等消毒副产物, 并且对一些抗氯性的原生动物如贾第虫、隐孢子虫等的杀灭效果很低, 因此氯消毒工艺受到人们的质疑^[1,2]. 紫外线消毒技术由于其突出的特点, 近些年来备受人们的关注, 欧洲及北美的许多国家将紫外线消毒列为用水终端和用户进水端及小型给水系统中的首选方法, 尤其是自从发现自来水中存在隐孢子虫以后, 美国已经将紫外线消毒工艺作为自来水消毒的最佳手段写入供水法规中^[3,4].

水中的一些微生物特别是带芽孢的细菌及原生动物, 对消毒剂具有较强的抵抗能力, 即使在较高的消毒剂投量下, 其灭活效果仍较差. 对于这种难以灭活的微生物, 国外通常采用协同消毒的方式对其进行灭活, 如一些研究采用臭氧协同氯、氯胺或者二氧化氯协同氯及氯与一些金属离子的协同消毒, 对这些难以灭活的微生物取得了较好的灭活效果^[5~12]. 而目前针对紫外线与氯联合对水中难灭活微生物灭活效果及机理的研究还较少, 本文选取枯草芽孢杆

菌代表难灭活的微生物, 研究了紫外线和氯单独及联用的作用效果及作用的方式.

1 材料与方法

1.1 试验水样

枯草芽孢杆菌(ATCC 9372)由中科院微生物所提供, 使用时先将枯草芽孢杆菌的冻干培养物溶解于一定量的营养肉汤培养液中, 于 37°C 恒温培养箱中培养 24h 后, 巴氏灭菌(80°C , 10min)以去除细胞繁殖体, 以 $6000\text{r}/\text{min}$ 的速度离心 10min, 弃去上清液, 将沉淀物重新溶解于一定量的无菌生理盐水中, 配制成一定浓度的细菌溶液备用.

1.2 试验仪器

试验采用标准紫外线试验装置准平行光束仪(collimated beam apparatus, 福建新大陆公司), 该装

收稿日期: 2005-02-24; 修订日期: 2005-06-10

基金项目: 高等学校全国优秀博士学位论文作者专项基金(200243)

作者简介: 张永吉(1974~), 男, 博士, 主要从事水质净化和消毒技术的研究工作.

置是将紫外灯管安装在一个封闭的圆柱体内,在筒体的底部中央开口,下方接一段长度为 60cm,直径为 8.8cm 的圆管,其作用是产生平行紫外线,使得紫外线能够垂直到达样品的表面^[13].紫外灯管的功率 40W,其中输出 254nm 波长紫外线的功率为 13.8W,平均紫外线强度为 $64.9 \mu\text{W}/\text{cm}^2$.紫外线强度用 UV-B 型紫外辐照计(北京师范大学科学仪器厂)测定.

1.3 试验方法

(1) 紫外线消毒 在 $\phi 90\text{mm}$ 的培养皿中放入 40mL 试验水样,放在准平行光束仪辐照窗下的磁力搅拌器上进行搅拌,打开遮光板照射一定时间后关闭遮光板,然后进行微生物检测,以未辐射的样品作为对照计算枯草芽胞杆菌的灭活率,枯草芽胞杆菌的数量采用平板计数法测定,以营养琼脂为培养基,于 37°C 恒温培养 24h 后计数.

紫外线剂量的计算如(1)式:

$$\text{Dose} = \bar{I} \cdot t \quad (1)$$

Dose: 紫外线剂量 (mJ/cm^2); $\bar{I}$: 平均紫外强度 (mW/cm^2),根据国际紫外线协会提供的计算表格计算; t : 照射时间(s).

(2) 氯消毒 消毒剂是由分析纯 NaClO 与无氨高纯水配制而成,其浓度为 $10\text{g}/\text{L}$,使用前用 DPD 法检测其氯浓度.在 500mL 棕色试剂瓶中加入 300mL 试验水样和 15mL 磷酸盐缓冲溶液,投加一定量氯达到所需 CT 值(浓度 $\times$ 时间)后取样,加入一定量的 10% 的无菌 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 中止反应,留作进行微生物检测.

(3) 紫外线协同氯消毒 方法如(1)和方法(2).

1.4 消毒效果评价

消毒效果依据不同紫外剂量下水样中微生物的灭活率来计算:

$$\text{灭活率} = \lg(N_0/N) \quad (2)$$

式中, N_0 为消毒前水样中对照微生物个数; N 为紫外线照射一定时间后等量水样中剩余微生物个数.

对紫外线与氯联合作用方式的判定根据 Berenbaum 公式来判断^[14].

$$\sum_{i=1}^n \frac{x_i}{y_i} = 1 \quad (3)$$

式中, x_i 为达到一定消毒效果时各组分的浓度; y_i 为各组分单独使用时产生与混合物同样效果时的浓度.

如果 2 种消毒剂间不存在相互作用关系,该式的值为 1;如计算结果 < 1 ,说明 2 种消毒剂之间为

协同作用;如果计算结果 > 1 ,二者之间为拮抗作用.

2 结果与讨论

2.1 氯对枯草芽孢杆菌的灭活效果

图 1 是氯对枯草芽孢杆菌的灭活情况.可以看出单独氯对枯草芽孢杆菌的灭活效率非常低,在常规的 CT 值范围内,灭活效果不明显,如当 CT 值为 $100(\text{mg} \cdot \text{min})/\text{L}$ 时,对枯草芽孢杆菌的灭活率仅为 0.2 个对数级, $300(\text{mg} \cdot \text{min})/\text{L}$ 时的灭活率也仅有 0.53 个对数级,可见,枯草芽孢菌对氯具有极强的抗性,这也是一些研究者用枯草芽孢杆菌来替代原生动物研究其灭活规律的原因.在实际应用中,要达到相应的灭活效果,就必须提高加氯量,而这样会增加出水中卤代有机物的含量.因而对这种难以灭活的微生物,可以考虑其它的替代消毒技术来达到较好的消毒效果.

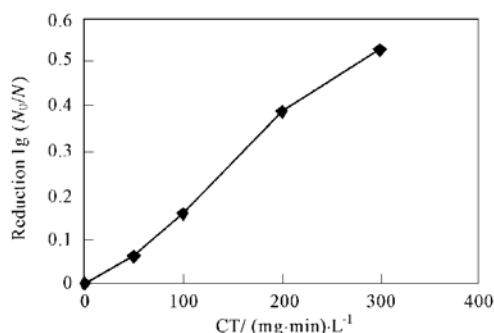


图 1 氯对枯草芽孢杆菌的灭活效果

Fig. 1 Effect of chlorine on reduction of *Bacillus subtilis* spores

2.2 紫外线对枯草芽孢杆菌的灭活效果

图 2 是单独紫外线消毒时,对枯草芽孢杆菌的灭活情况,并与大肠杆菌的灭活效果进行了对比.从图 2 中可以看出,在达到同样的灭活效果时,枯草芽孢杆菌所需的紫外线剂量要明显高于大肠杆菌,如紫外线剂量为 $10\text{mJ}/\text{cm}^2$ 时,对大肠杆菌的灭活率为 3.2 个对数级,而对枯草芽孢杆菌的灭活只有 0.43 个对数级,紫外线剂量为 $30\text{mJ}/\text{cm}^2$ 时大肠杆菌的灭活为 6.4 个对数级,而对枯草芽孢杆菌的灭活仅有 2.44 个对数级.可见,枯草芽孢杆菌对紫外线具有较高的抗性,这与芽孢本身的特性有关,芽孢是某些细菌抵抗不良环境而产生的休眠体,此时细胞处于休眠状态,不进行代谢,细胞壁比较致密,因而对温度、pH、辐射等不良因素具有极强的抵抗能力,所以紫外线对其的灭活效果相对较低.目前饮用水中紫外线消毒系统的设计剂量通常为 $40\text{mJ}/\text{cm}^2$,

在该剂量下,紫外线对枯草芽孢杆菌的灭活率为 3.3 个对数级,具有较好的效果。

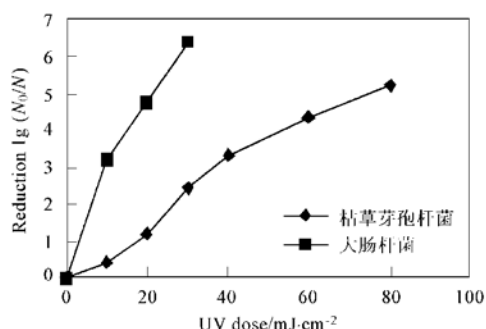


图 2 紫外线对枯草芽孢杆菌的灭活效果

Fig. 2 Effect of UV irradiation on reduction of *Bacillus subtilis* spores

2.3 紫外线与氯联用对枯草芽孢杆菌的灭活效果

紫外线与氯的先后作用方式可能会影响到二者联合作用的效果. 首先考察了先用紫外线照射后,再用氯进行消毒对枯草芽孢杆菌的灭活情况. 从图 3 中可以看出,两者联用的效果与紫外线的剂量和氯的 CT 值有关. 如紫外线剂量为 10mJ/cm², 氯的 CT 值为 50(mg·min)/L 时,对枯草芽孢杆菌的灭活率为 0.74 个对数级,较单独紫外线和氯作用时分别提高了 0.34 和 0.68 个对数级,紫外线剂量增加到 40mJ/cm² 时,灭活率分别提高了 0.5 和 3.24 个对数级. 而当 CT 值达到 300(mg·min)/L 时,紫外线剂量为 10mJ/cm² 和 40mJ/cm² 时对枯草芽孢杆菌的灭活率较单独紫外线分别提高 1.04 和 2.34 个对数级,与氯消毒提高的幅度更大. 并且紫外线照射后再进行氯消毒时,对枯草芽孢杆菌的灭活效果要高于二者单独作用效果之和. 当紫外线剂量一定时,提高氯的 CT 值,对枯草芽孢杆菌的灭活效果也随

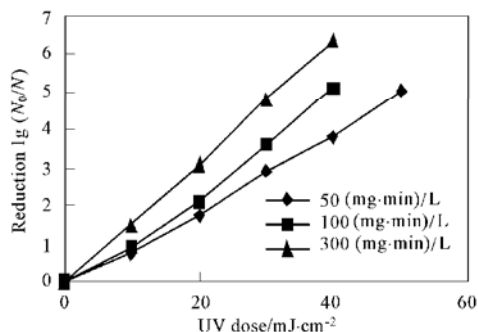


图 3 紫外线和氯对枯草芽孢杆菌的灭活效果
Fig. 3 Effect of UV irradiation and chlorine on reduction of *Bacillus subtilis* spores

着增加,但实际应用中,过多的氯投量会增加处理后水中三卤甲烷的生成量,可以综合考虑二者的量,以达到既可以保证一定的消毒效果,同时又降低消毒副产物生成量的目的。

图 4 是先用氯消毒后再用紫外线进行照射时对枯草芽孢杆菌的灭活情况. 从图中可以看出,投加氯后再进行紫外线消毒,对枯草芽孢杆菌的灭活效果提高不大,如 CT 值为 300(mg·min)/L 时,对枯草芽孢杆菌的灭活率只提高了 0.61 个对数级,基本上等于氯作用与紫外线作用效果之和. 相对于先紫外线照射后投氯的方式,这种方式对枯草芽孢杆菌的灭活效果提高较少. 可见,在紫外线与氯联合作用时,以先紫外线照射后加氯的方式会取得较好的灭活效果。

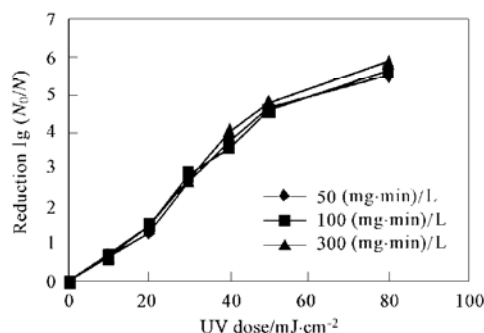


图 4 氯和紫外线对枯草芽孢杆菌的灭活效果

Fig. 4 Chlorine and UV irradiation on the reduction of *Bacillus subtilis* spores

2.4 紫外线与氯联合作用的作用方式探讨

紫外线照射后,再投加氯消毒明显提高了对枯草芽孢杆菌的灭活效果,通过 Berenbaum 公式的计算,可以得出二者之间的作用关系. 表 1 是通过公式计算得到的结果. 可以看出,在试验的投量(剂量)范围内,计算结果均小于 1,即二者间有较好的协同关系. 也就是说,紫外线与氯共同作用是一种相互增强的作用方式. 一些研究者研究了不同消毒剂协同消毒时,认为不同消毒剂可能作用于微生物的不同位置,从而增加了微生物对另一种消毒剂的敏感性,因而 2 种消毒剂共同作用提高了对微生物的灭活效果^[15,16]. 先经过紫外线照射,再进行氯消毒时,紫外线可能对芽孢的某些部位造成了损伤,从而有利于氯通过芽孢致密的细胞壁进入细部内部,与蛋白质发生氧化作用或破坏磷酸脱氢酶,从而提高了消毒效果,其具体机理还需通过分子生物学方法进一步确定。

表 1 用 Berenbaum 方法计算的紫外线-氯消毒体系的 $\sum x_i/y_i$ Table 1 $\sum x_i/y_i$ of UV irradiation and chlorine mixed system

紫外线剂量 / $\text{mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$	氯投量 / ($\text{mg} \cdot \text{min}$) $\cdot \text{L}^{-1}$		
	50	100	300
10	0.98	0.97	0.84
20	0.86	0.75	0.76
40	0.76	0.58	0.53

3 结论

(1) 单独采用氯消毒时, 对枯草芽孢杆菌的灭活效率较低, CT 值为 $300(\text{mg} \cdot \text{min})/\text{L}$ 时的灭活率仅有 0.53 个对数级; 采用紫外线消毒技术, 对枯草芽孢杆菌具有较高的灭活效果, 在紫外线剂量为 $40\text{mJ}/\text{cm}^2$ 时, 对枯草芽孢杆菌的灭活率可达 3.3 个对数级, 远高于氯的灭活效果。

(2) 采用紫外线与氯联用的方式, 提高了紫外线对枯草芽孢杆菌的灭活效果. 紫外线与氯作用的顺序对消毒效果有较大影响, 以先紫外线照射再加氯的效果最好, 其作用效果高于紫外线和氯单独作用的效果之和, 如当紫外线剂量为 $40\text{mJ}/\text{cm}^2$, 氯的 CT 值为 $300(\text{mg} \cdot \text{min})/\text{L}$ 时, 对枯草芽孢杆菌的灭活率较单独紫外线可提高 2.34 个对数级, 通过 Berenbaum 公式计算可知, 二者之间的作用方式是一种协同作用。

(3) 通过紫外线与氯的协同消毒, 提高了对枯草芽孢杆菌的灭活效果, 二者联用还可以降低氯的投量, 从而减少了消毒副产物的生成风险, 同时保证水的微生物安全性和化学安全性。

参考文献:

- [1] Morris R D. Chlorination, Chlorination by-products, and Cancer: A Meta-analysis[J]. Amer. J. Public Health, 1992, **82**: 955~ 963.
- [2] 刘文君. 给水处理消毒技术发展展望[J]. 给水排水, 2004, **31**(1): 2~ 5.
- [3] Frederick W Pontius. Regulations in 2000 and Beyond[J]. J. AWWA, 2000, **92**(3): 40~ 53.
- [4] Zhang Xin. Disinfection development: the Rise of UV in China [J]. Water 21, 2004, **10**: 18~ 21.
- [5] Nicolaa Ballester, James P Malley Jr. Sequential Disinfection of Adenovirus Type 2 with UV-Chlorine-chloramine [J]. J. AWWA, 2004, **96**(10): 97~ 103.
- [6] Min Cho, Hyenmi Chung, Jeyong Yoon. Quantitative Evaluation of the Synergistic Sequential Inactivation of *Bacillus subtilis* Spores with Ozone Followed by Chlorine[J]. Environ. Sci. & Technol., 2003, **37**(10): 2134~ 2138.
- [7] Jason L Rennecker, Amy M Driedger, Sara A Rubin, Benito J Marinas. Synergy in Sequential Inactivation of *Cryptosporidium Parvum* with Ozone/Free Chlorine and Ozone/ Monochloramine[J]. Wat. Res., 2000, **34**(17): 4121 ~ 4130.
- [8] Larson M A, Marifias B J. Inactivation of *Bacillus subtilis* Spores with Ozone and Monochloramine[J]. Wat. Res., 2003, **37**(4): 833~ 844.
- [9] Benito Corona Vazquez, Jason L Rennecker, Amy M Driedger, Benito J Marinas. Sequential Inactivation of *Cryptosporidium parvum* Oocysts with Chlorine Dioxide Followed by Free Chlorine or Monochloramine[J]. Wat. Research, 2002, **36**(1): 178~ 188.
- [10] Michael A Butkus, Michael P Labare, Jeffrey A Starke, et al. Use of aqueous silver to enhance inactivation of coliphage MS-2 by UV disinfection [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, **70**(5): 2848~ 2853.
- [11] 杨艳玲, 孙立欣, 李星, 等. 高锰酸钾与氯胺联用强化消毒技术试验研究[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2004, **36**(1): 24~ 27.
- [12] Li Hanbin, Finch Gordon R. Sequential Inactivation of *Cryptosporidium parvum* Using Ozone and Chlorine. [J]. Wat. Res., 2001, **35**(18): 4339~ 4348.
- [13] Bolton J R, Linden K G. Standardization of Methods for Fluence (UV Dose) Determination in Bench-Scale UV Experiments[J]. J. Env. Eng., 2003, **129**(3): 209~ 215.
- [14] Timothy M Straub, Charles P Gerba, Xia Zhou, et al. Synergistic Inactivation of *Escherichia coli* and MS-2 Coliphage by Chloramine and Cupric Chloride[J]. Wat. Res., 1995, **29**(3): 811~ 818.
- [15] Kouame Y, Haas C N. Inactivation of *E. coli* by combined action of free chlorine and monochloramine[J]. Wat. Res., 1991, **25**(9): 1027~ 1032.
- [16] Driedger A Mn, Rennecker J L. Sequential inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts with ozone and free chlorine [J]. Wat. Res., 2000, **34**(14): 3591~ 3597.