# 城市供水管网生物膜中氨氧化细菌对氯胺消毒效果的 影响

白晓慧12 蔡云龙3 周斌辉1 支兴华1

(1.上海交通大学生命科学技术学院 水质科学与工程实验室 上海 200240; 2.同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室 上海 200092; 3.上海市自来水市南有限公司 上海 200002)

摘要 .供水管网中微生物生长和生物膜形成可对管网水质和运行造成重要影响.利用 MPN-Griess 方法检测了上海某供水系统生物膜中氨氧化细菌的数量 ,分析了管网中氨氧化细菌与管网水中硝化作用和消毒剂之间的相关性.通过实验室实验分析了氨氧化细菌和异养菌对氯胺消毒剂的抗性和消耗影响.结果表明 ,管网中氨氧化细菌数量(以生物膜干重计 )在  $1.0 \times 10^2 \sim 4.3 \times 10^5 \, \text{MPN/g}$ 之间 ,与氨氮、亚硝酸盐氮和硝酸盐氮浓度的相关系数分别为 -0.563、0.603 和 -0.563 ;与总氯和一氯胺浓度的相关系数分别是 -0.659 和 -0.571. 氨氧化细菌对氯胺消毒剂的抗性明显高于异养菌 ,对氯胺消毒剂的消耗能力也强于异养菌 . 关键词 .供水系统 .生物膜 .氨氧化细菌 .硝化作用 .氢胺消毒

中图分类号:X172 文献标识码:A 文章编号 10250-3301(2009)06-

# Effect of Ammonia-Oxidizing Bacteria (AOB) on Chloraminated Disinfection Attenuation in Drinking Water Distribution System

BAI Xiao-hui<sup>1 2</sup>, CAI Yun-long<sup>3</sup>, ZHOU Bin-hui<sup>1</sup>, ZHI Xing-hua<sup>1</sup>

(1. Laboratory of Water Science and Technology, College of Life Science and Biotechnology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China; 2. State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China; 3. Shanghai Municipal Waterworks Shinan Co. Ltd., Shanghai 200002, China)

Abstract The growth of microbe and formation of biofilm in water distribution system were important factors affecting the security of water quality. The number of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) in biofilm of a chloraminated drinking water distribution system in Shanghai was detected by MPN-Griess method, and the relations among AOB, nitrification and chloraminated disinfection were analyzed. Meanwhile, the effects of AOB on chloraminated disinfection fastness and attenuation by simulation experiment were studied. The result indicated that the number of ammonia-oxidizing bacteria in pipe biofilm was between  $1.0 \times 10^2$ - $4.3 \times 10^5$  MPN/g dry biofilm. Correlation coefficients of AOB with ammonia, nitrite and nitrate were -0.563, 0.603 and -0.563. Correlation coefficients of AOB with total chlorine and mono-chloramine were -0.659 and -0.571. Fastness of AOB to chloramine was higher than heterotrophic bacteria and AOB can deplete more chloramine than HPC.

Key words water distribution system; biofilm; ammonia-oxidizing bacteria; nitrification; chloramination

国内外许多供水系统采用氯胺作为消毒剂.相对于自由氯消毒,氯胺具有稳定、消毒功效持续时间长、产生消毒副产物少等优点.然而,氯胺消毒剂也有其局限性,如消毒能力不如同等浓度的自由氯,氯胺可以成为硝化细菌生长的营养物质,促进硝化作用在供水系统中出现等.管网中硝化现象对氯胺消毒效果的影响已成为供水安全重要的关注点之——[1-4]

氨氧化细菌(AOB)可以将管网氯胺消毒过程中的氨氧化成亚硝酸盐,从中获得自身生长需要的能量,而加速氯胺消毒剂的分解和消耗。同时,当氯胺消毒剂浓度较高时,它会抑制氨氧化细菌的生长,主要起消毒作用;当氯胺消毒剂浓度较低时,它会促进氨氧化细菌的生长,主要起营养物质的作用[5~7]。

本试验分析了上海市实际供水管网系统中氨氧化细菌的存在水平与各形态氮及氯胺消毒剂浓度之间的相关性,通过模拟实验,研究了氨氧化细菌和异养菌消耗氯胺消毒剂的规律.

#### 1 材料与方法

#### 1.1 供水管网

以上海市闵行区供水管网为研究对象,该系统以黄浦江上游水作原水,通过絮凝、沉淀、过滤、消毒等常规处理工艺完成对原水的净化处理,其消毒过

收稿日期 2008-07-14 ,修订日期 2008-10-10

基金项目:国家自然科学基金项目(50408012) 污染控制与资源化研究国家重点实验室开放基金项目(PCRRF07004)

作者简介:白晓慧(1969~),男.博士.副教授,主要研究方向为水污染控制理论与技术,E-mail:xhbai@sjtu.edu.cn

程采用氯胺消毒.

#### 1.2 样品采集

采用无菌操作从正在维修的供水管道内壁轻轻 刮取生物膜样品,并在现场采集水样.采样点分布如 图 1.

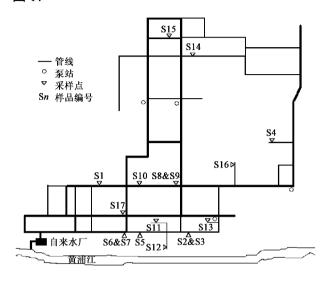


图 1 管网采样点示意

Fig. 1 Collection places of biofilm samples

#### 1.3 指标测定

氨氧化细菌采用 MPN-Griess 计数法测定.取一定量的生物膜样品加入磷酸盐缓冲液,充分旋涡振荡,制备生物膜菌悬液.取菌悬液加入氨氧化细菌液体培养基中,按 10 倍稀释度进行培养,做 5~6 个稀释度,振荡培养 4 周.用 Griess 试剂检验亚硝酸盐的生成情况,取 1 mL 氨氧化细菌培养液,加入 Griess 试剂 若溶液变红色,则为阳性,即有氨氧化细菌存在,若不变色,则为阴性.记录阳性管的数量,通过查MPN 指数表得氨氧化细菌的存在密度.生物膜干重采用重量法测定.

总氯、余氯、一氯胺采用便携式余氯/总氯仪测定 / 氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮等采用国标方法测定

参数之间的相关性分析使用 SPSS 13.0.

# 2 结果与讨论

# 2.1 实际供水管网中氨氧化细菌的存在水平

在所研究的供水管网系统生物膜( 干重 )中, AOB 在  $1.0 \times 10^2 \sim 4.3 \times 10^5$  MPN/g之间( 如图 2 ), AOB 的检出率较高,存在水平也高于以往的研究结果 [ $^2$   $^8$   $^2$   $^1$  ].分析认为,所研究供水系统全年大多数时间温度在  $^2$   $^2$  以上,而硝化细菌适宜生长温度范围

是 22~30℃, 温度条件适合硝化细菌的生长;该供 水系统中饮用水的 pH 变化范围为 7.19~8.20 之 间,而硝化细菌适宜在 pH 为 7.0~8.5 范围的淡水 环境生长,满足硝化细菌生长对 pH 的要求,该供水 系统的饮用水中,氯胺消毒剂的浓度范围是0.04~ 1.83 mg/I( 总氯 ),一氯胺的浓度范围为 0.02~1.13 mg/L ,且由图 3 可以看出 ,大多数样品的一氯胺浓度 在 1.2 mg/L以下.文献表明 氨氧化细菌可以在一氯 胺浓度为 1.2~1.5 mg/L的水体中长期生存<sup>[9]</sup>,这说 明所研究供水系统的消毒剂浓度不足以完全抑制氨 氧化细菌的生长,该供水系统中,所有水样中氨氮浓 度均在 1.0 mg/L以上 绝大多数在 2.0 mg/L以上 ,这 些氨氮为氨氧化细菌的生长提供了充足的营养,可 保证氨氧化细菌的生长,以上各种条件造成了氨氧 化细菌在该供水管网中的普遍存在以及较高的生长 水平.

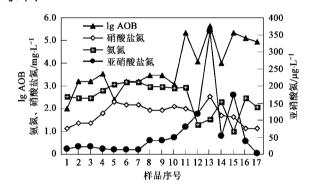


图 2 管网中 AOB 数量与不同形态氮浓度变化规律

Fig.2 Variation of AOB and various nitrogen in pipe system

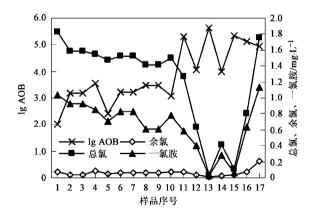


图 3 管网中氨氧化细菌数量与消毒剂浓度变化规律

Fig. 3 Variation of AOB and disinfectors in water distribution system

# 2.2 氨氧化细菌和"三氮"之间的相关性

根据 SPSS 软件分析,在所研究的供水系统中, 氨氧化细菌的存在水平和水样中氨氮浓度的相关系 数为 – 0.563,和亚硝酸盐氮浓度的相关性系数为 0.603 和硝酸盐氮浓度的相关系数为 – 0.563.在所研究供水管网系统中,饮用水中氨氮浓度为 1.00 ~ 3.16 mg/L ,大多数水样的氨氮浓度在 2.0 mg/L以上(如图 2),对于氨氧化细菌,氨氮不再是氨氧化细菌生长的限制因素,如上节所述,可以保证氨氧化细菌的正常生长,而亚硝酸盐浓度与氨氧化菌较好的正相关性也说明了氨氧化菌的生长良好.所取样品中硝酸盐氮浓度范围为 1.14 ~ 2.55 mg/L ,但硝化细菌只有个别样品捡出,因此不能确定产生的硝酸盐是硝化作用产生还是氯氨反应过程产生所致.

# 2.3 氨氧化细菌和消毒剂之间的相关性

根据图 3 及 SPSS 软件分析,在所研究的实际供水系统中,氨氧化细菌的存在水平和氯胺消毒剂的浓度之间具有较好的负相关性,其中和总氯的相关系数是 -0.659,和一氯胺浓度的相关系数为 -0.571.同时,氨氧化细菌的最小存在密度(以生物膜干重计,下同, $1.03 \times 10^2$  MPN/g)存在于对应水样中总氯浓度最高(1.83 mg/L)的生物膜样品中,而最大的存在密度( $4.26 \times 10^5$  MPN/g)存在于对应水样中总氯浓度最低(0.02 mg/L)的生物膜样品中.这说明在所研究供水系统中,氯胺消毒剂对氨氧化细菌起到一定抑制消毒作用.

# 2.4 氨氧化细菌和异养菌对氯氨的消耗规律

采用从管网生物膜中分离出来的 2 种氨氧化细菌 AOB1 和 AOB2( 经分子鉴定分别是 Nitrosomonas sp. Is32 和 Nitrosospira sp. REGAU )和 2 类异养菌 HPC1 和 HPC2( 经分子鉴定分别为 Paenibacillus ehimensis 和 Clostridiaceae bacterium bSSV31 )研究了它们对氯氨消毒剂的抗性和消耗规律.

采用等量投加法 在 5 个分别装有 200 mL 氯胺 消毒剂溶液的锥形瓶中分别加入 1 mL 制备好的浓度相同的以上 4 种菌的菌悬液 ,并在投加菌液后不同时间分别检测各类细菌的剩余量和溶液中的总氯、余氯和一氯胺 ,同时以 1 mL 无菌水做对照 结果如图 4 和图 5.

# 2.4.1 不同细菌对氯胺的抗性

由图 4 可以看出 ,在加入相同浓度的氯胺消毒剂后 ,氨氧化细菌 AOB1 和 AOB2 对氯胺消毒剂的抗性要比 HPC1 和 HPC22 种异养菌高许多 . 在初始氯胺水平( 总氯浓度为 1.46 mg/L )作用 0.5 h后 ,AOB1 的存活率为 8.52% ,AOB2 的存活率为 7.94% ,均远远高于 2 种异养菌的存活率( HPC1 和 HPC2 的存活率分别为 1.19%和 0.79% ).而在暴露 3 h后 ,氨氧化细菌的平均存活率为 2.3%左右 ,而异养菌的平

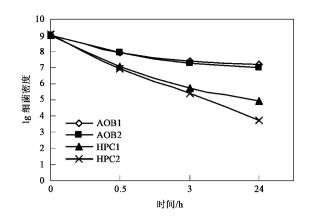


图 4 细菌数量随消毒剂作用时间变化

Fig.4 Change of the bacteria number with the contact time of disinfector

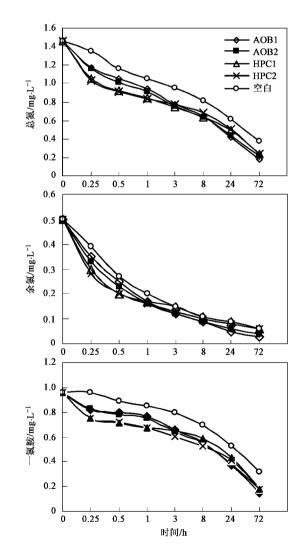


图 5 总氯、余氯及一氯胺浓度随消毒剂作用时间变化 Fig. 5 Change of the concentration of total-Cl , free-Cl and monochloramine with the contact time of disinfector

均存活率仅为 0.04%.

# 2.4.2 消毒剂浓度随作用时间的变化

由图 5 可以看出,在加入细菌的初期(1 h 内), 异养菌对氯胺消毒剂的消耗强于氨氧化细菌;随着 反应过程的进行,氨氧化细菌对氯胺消毒剂消耗的 影响变得明显,一般在 3h 后,氨氧化细菌对氯胺消 毒剂消耗要强于异养菌.分析认为在投加细菌的初期,细菌对氯胺的消耗主要是消毒作用所引起的,而 消毒作用是以细菌的失活或死亡为代价的,这和异 养菌对消毒剂的抗性较弱性质有关;而在 3 h 后,细 菌对氯胺的消耗则以细菌生长需要为主,氨氧化细菌可以利用氯胺中的氨,从而促进氯胺的分解和消耗,这种以细菌生长为机制的消耗是长效的和渐 进的

所以整体上讲,氨氧化细菌对氯胺消毒剂的消耗能力要强于异养菌,并且表现为一种相对比较平缓和长期的消耗,同时由于氨氧化细菌对氯胺的抗性较强,致使在氯胺消毒剂的供水系统中氨氧化细菌的广泛存在以及其对消毒剂消耗的促进.鉴于本实验结果,在自来水生产和输送过程中采用合适的工艺控制硝化细菌的生长繁殖对于减缓消毒剂消耗来说具有重要的实际意义.

#### 3 结论

- (1) 氨氧化细菌在所研究管网中普遍存在 ,浓度在  $1.0 \times 10^2 \sim 4.3 \times 10^5 \text{ MPN/g}$ 之间.
- (2) 氨氧化细菌密度与氨氮、亚硝酸盐氮和硝酸盐氮浓度的相关系数分别为 0.563、0.603 和 0.563 和总氯、一氯胺浓度的相关系数为 0.659 和 0.571.
- (3)氨氧化细菌对氯胺消毒剂的抗性较异养菌强.

(4) 氨氧化细菌对氯氨的消耗能力要高于异养菌. 它对氯胺的消耗既存在于消毒过程, 也存在于氨氧化细菌的生长过程; 异养菌对氯胺的消耗主要存在于消毒过程.

#### 参考文献:

- [ 1 ] Cunliffe D A. Bacterial nitrification in chloraminated water supplies[ J ]. Appl Environ Microbiol , 1991 , 57 : 3399-3402.
- [ 2 ] Ike N R , Wolfe R L , Means E G. Nitrifying bacteria in a chloraminated drinking water system [ J ]. Wat Sci Tech , 1988 , 20 : 441-444.
- [ 3 ] Odell L H , Kirmeyer G J , Wilczak A , et al. Controlling nitrification in chloraminated systems [ J ]. AWWA , 1996 , 88: 86-98.
- [ 4 ] Regana J M , Gregory W H , Leond R D , et al . Diversity of nitrifying bacteria in full-scale chloraminated distribution systems [ J ]. Water Research , 2003 , 37 : 197-205 .
- [ 5 ] Lipponen M T T, Martikainen P J. Occurrence of nitrifiers and diversity of ammonia-oxidizing bacteria in developing drinking water biofilms [ J ]. Water Research , 2004 , 38: 4424-4434.
- [6] Wolfe R L, Lieu N I, Izaguirre G, et al. Ammonia-oxidizing bacteria in a chloraminated distribution system: seasonal occurrence, distribution, and disinfection resistance [J]. Appl Environ Microbiol, 1990, 56: 451-462.
- [7] Hoefel D, Monis P T. Culture-independent techniques for rapid detection of bacteria associated with loss of chloramine residual in a drinking water system [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(11): 6479-6488.
- [ 8 ] Pintar K D M , Slawson R M. Effect of temperature and disinfection strategies on ammonia-oxidizing bacteria in a bench-scale drinking water distribution system [ J ]. Water Research , 2003 , 37: 1805-1817.
- [ 9 ] Lipponen M T T, Suutari M H, Martikainen P J. Occurrence of nitrifying bacteria and nitrification in Finnish drinking water distribution systems [ J ]. Water Research, 2002, 36:4319-4329.
- [10] 白晓慧 涨晓红 涨玲 ,等. 上海市供水管网中异养菌生长水平及相关指标变化 [1]. 环境科学 2006, 27(11):2350-2353.