

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第2期

Vol.34 No.2

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办

科学出版社出版



ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第2期 2013年2月15日

目 次

16 届亚运会期间广州城区 PM _{2.5} 化学组分特征及其对霾天气的影响 陶俊,柴发合,高健,曹军骥,刘随心,张仁健(409)北京地区秋季雾霾天 PM _{2.5} 污染与气溶胶光学特征分析 赵秀娟,蒲维维,孟伟,马志强,董璠,何迪(416)上海市秋季大气 VOCs 对二次有机气溶胶的生成贡献及来源研究
上海市秋学人气 VOCs 对二次有机 飞格放的生成页献及未添切充
杭州市大气超细颗粒数浓度谱季节性特征
保定市大气气溶胶中正构棕层的污染水平及来源识别 参本菇 杜熙强 王英锋 王跃思(441)
去节期间而安城区融气滚胶污浊转征研究
作为四日文为是城 (市成17年7年底)
平东区域同山目泉层 ΓM_{10} 和 ΓM_{25} 目泉且及万朱行征 亦称的,刘公东,陶文(455)
基于电丁鼻工集与地下水污染修复现场 TVOC 和恶臭的评估 田务央, 祭赋, 刈犹, 张水明(462)
枳儬雪拴制卜土壤大气间永父换进量特征
靖海湾重金属污染及铅稳定问位素溯源研究 徐林波,高勤峰,董双林,刘佳,傅秀娟(476)
正构烷烃及单体碳同位素记录的石臼湖生态环境演变研究 欧杰,王延华,杨浩,胡建芳,陈霞,邹军,谢云(484)
干旱区城市昌吉降雪及积雪中 PGEs 含量分布及其影响因素 刘玉燕,刘浩峰,张兰(494)
降尘收集方法对降尘效率的影响
海河流域水生态功能—级二级分区
长江中下游浅水湖泊水下辐照度漫射衰减特征研究
内性水体叶绿麦后流精刑並活性及甘影响因麦研宏
的加小件中国苏及澳快宝自足且及来影响四京明儿 凌信对官住拉美的河口浪址主尼汀和师信信化苗夕轻胜乃信信化市波的影响
价书列苗朱均介的得口健地农区机价份效料化图乡什住区效制化还罕的影响 "呼啦哎,乡々庆,ღ代村,顾自田(J52) 百品从伊工社科学院建设中、建筑工作、建筑工作、建筑工作、建筑工作、建筑工作、建筑工作、建筑工作、建筑工作
目然余件下盆观两浜湿地工集水分/盆及至间分开及具与植物大系研究
家华央,刘红玉,李玉风,女静,眸星于,疾明行(540)
准河流域农业非点源污染空间特征解析及分类控制
高岚河不同降雨径流类型磷素输出特征 崔玉洁,刘德富,宋林旭,陈玲,肖尚斌,向坤,张涛(555)
城市雨水径流水质演变过程监测与分析 董雯,李怀思,李家科(561)
复合人工湿地系统强化处理单元的运行特性与效果 任峰,陆忆夏,刘琴,汤杨杨,王世和,高海鹰,乔红杰,王为进(570)
给水管网中耐氯分枝杆菌的灭活特性及机制研究 郑琦,陈超,张晓健,陆品品,刘源源,陈雨乔(576)
1 株溶臺菌的部分生物学特性及溶鱼腥蔥作用 李三华、张奇亚(583)
水生植物热解生物油对中肋骨条蘑拍氧化酶活性的影响
TiO 来做化胜全技术降假某款却制及动力为
102 / LIE LUNG 12 / THE PARTY TO THE PARTY
及平及小月7亿分米初生物呼解行任则九
班每困 FAO45 对倾氮条件丝 AR3U 的障脏化制研究 网络瓜, 方塞 胆, 为塞 胆, 为塞 胆, 分塞 胆, 为寒 胆, 也是是一里,这是一里,这是一里,这是一里,这是一里,这是一里,这是一里,这是一里,
松融当星前下工壤人气间水叉换迎星行肛。
基于污泥资源化利用的蛋白核小球藻(Chlorella pyrenoidosa) 培养研究 ····································
温和热处理对低有机质污泥片氧消化性能的影响
天然和水热合成针铁矿对有机物厌氧分解释放 CH ₄ 的影响 姚敦璠,陈天虎,王进,周跃飞,岳正波(635)
蚀刻废液及其回收后生产的铜盐产品中 PCDD/Fs 含量水平及分布特征 青宪,韩静磊,温炎桑(642)
基于特定场地污染概念模型的健康风险评估案例研究 钟茂生,姜林,姚珏君,夏天翔,朱笑盈,韩丹,张丽娜(647)
短刻废被及其凹取后生产的铜盘产品中 PCDD/Fs 含量水平及分布特征
地下水有机污染源识别技术体系研究与示范 ····································
郑连山不同海拔十壤有机碳库及分解特征研究
型十方机碳 氮及其活性对长期施肥的响应
相差连续证用对每运边农用上墙由每时左形太和生物有效性的影响
似在建筑建口的确行未从田上接下溯域行龙心相主物有双压的影响
外源Cr(Ⅲ)在我国 22 种典型土壤中的老化特征及关键影响因子研究······· 郑顺安,郑向群,李晓辰,刘书田,姚秀荣(698)
某林丹生产企业搬迁遗留场地土壤中六六六的残留特征 潘峰,王利利,赵浩,尤奇中,刘林(705)
大型炼锌/周边土壤及疏菜的汞污染评价及来源分析
大津成人头发指甲中有机氟污染物的残留特征 姚丹,张鸿,柴之芳,沈金灿,杨波,王艳萍,刘国卿(718)
沉积物中雌激素及壬基酚、辛基酚、双酚 A 的测定 ····················· 吴唯,史江红,陈庆彩,张晖,刘晓薇(724)
动物饲料中砷、铜和锌调查及分析 姚丽贤,黄连喜,蒋宗勇,何兆桓,周昌敏,李国良(732)
氟虫双酰胺在水稻和稻田中的残留动态研究 王点点,宋宁慧,吴文铸,由宗政,何健,石利利(740)
2 株降解菲的植物内生细菌筛选及其降解特性 倪雪,刘娟,高彦征,朱雪竹,孙凯(746)
嗜盐拟香味菌 Y6 降解硝基苯的特性研究
某林丹生产企业搬迁遗留场地土壤中六六六的残留特征
16S rDNA 克隆文库分析高含盐生物脱硫系统细菌多样性
每氨浓度对 CANON 丁 丁 功能微生物主度和 莊 荻
16S rDNA 克隆文库分析高含盐生物脱硫系统细菌多样性 ····································
四月母(1 cmcmmm sumpucessumum)/7]小灰月壮余时序册及旧入四门目行正 。
一
口佃门米工场顺生物研育的阿司万里付任明九····································
工每系任冯买对判准肥过性中的阵牌及共为相大参数的影响 土柱纱, 学兆右, 旅树洧, 与晓彤, 栾永超(795)
生活垃圾填埋过程含水率受化研究····································
一次是,胡天觉,曾光明,黄丹莲,尹璐,刘杨,吴娟娟,刘晖(781)石油污染土壤微生物群落结构与分布特性研究····································
《 外境科字》 征 7 后事(447) 《 外境科字》 征 倘 前 则(493) 信息(508,588,610,731) 专 辑 征 楊 通 知(788)

给水管网中耐氯分枝杆菌的灭活特性及机制研究

郑琦,陈超*,张晓健,陆品品,刘源源,陈雨乔(清华大学环境学院,北京 100084)

摘要:近年来,在饮用水管网中检测到耐受消毒剂的微生物,对于饮用水安全造成威胁.课题组由南方某城市自来水管网中分离出 1 株耐氯的产黏液分枝杆菌($Mycobacteria\ mucogenicum$),并对其灭活特性和耐氯机制进行了研究.使用自由氯、一氯胺和二氧化氯对其进行消毒实验,测定 CT 值. 99.9%灭活产黏液分枝杆菌时,自由氯的 CT 值为(76.25 ± 47.55) mg·min·L⁻¹,一氯胺为(1396 ± 382) mg·min·L⁻¹,二氧化氯为(13.5 ± 4.9) mg·min·L⁻¹.采用透射电镜对产黏液分枝杆菌的消毒过程进行观察,发现消毒后细菌结构疏松,细胞器层次变得不清晰,核心肿胀溶解.产黏液分枝杆菌具有较好的疏水性,测定其表面疏水率为 37.2%,远高于其他细菌,使得亲水性消毒剂不易进入细菌内部,是其耐受含氯消毒剂的原因之一.

关键词:产黏液分枝杆菌;消毒特性;细胞表面疏水率;给水管网;耐氯机制

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)02-0576-07

Inactivation of *Mycobacteria mucogenicum* in Drinking Water: Chlorine Resistance and Mechanism Analysis

ZHENG Qi, CHEN Chao, ZHANG Xiao-jian, LU Pin-pin, LIU Yuan-yuan, CHEN Yu-qiao (School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: In recent years, chlorine-resistant bacteria were detected in drinking water distribution systems which threatened the drinking water safety. Our group detected one strain named *Mycobacteria mucogenicum* from the drinking water distribution system of a city in south China. This paper studied chlorine resistance and mechanism of *Mycobacteria mucogenicum*. Inactivation experiments of one strain *Mycobacteria mucogenicum* were conducted with free chlorine, monochloramine and chlorine dioxide. The CT values of 99.9% inactivation by free chlorine, monochloramine and chlorine dioxide were detected as $(76.25 \pm 47.55) \, \text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$, $(13.96 \pm 382) \, \text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$, $(13.5 \pm 4.9) \, \text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$. Using transmission electronmicroscopy (TEM) observed the inactivation process of *Mycobacteria mucogenicum*. The bacteria surface hydrophobic of *Mycobacteria mucogenicum* was 37.2%. *Mycobacteria mucogenicum* has a higher hydrophobicity than other bacteria which prevented the diffusion of chlorine into cells. *Mycobacteria mucogenicum* is more resistant to chorine than other bacteria.

Key words: Mycobacteria mucogenicum; inactivation characteristics; bacteria surface hydrophobic; drinking water distribution system; chlorine resistance mechanism

消毒是保障饮用水安全的最后一道防线.含有充足消毒剂的出厂水,在经过供水管网时仍然会出现微生物指标增加的现象.1947年,Bogolyuboy就在氯浓度足够大的水中发现细菌的存在^[1].之后又有关于大肠埃希菌、肠球菌、军团菌对次氯酸钠有抗性,克雷伯杆菌、铜绿假单胞菌、伤寒杆菌对氯胺有抗性的报道^[2].由于耐受消毒剂的微生物存在而导致的水质风险问题是当前国内外饮用水消毒和生物稳定性研究的热点之一.

在消毒剂耐受菌中,分枝杆菌的出现几率最高,报道也较多. 近年来,国际同行在天然水体、饮用水、饮用水生物膜、污水、医院用水、热水系统中都检测到分枝杆菌^[3-10]. 分枝杆菌分为结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌和非结核分枝杆菌. 饮用水中研究较多的是非结核分枝杆菌. 非结核分枝杆菌根据其生长速率,又分为慢速生长型、快速生长型和不

可培养型. 它可导致慢性肺部疾病、淋巴结炎、皮肤和软组织感染等[11,12]. 研究报道称,分枝杆菌对常规消毒剂具有较好耐受性[13,14],并且能适应广泛的 pH 和温度[15],给饮用水带来较大的安全隐患. 分枝杆菌耐氯性可能是因为特殊的细胞壁膜结构[16]或者分枝杆菌基因多态性[17].

本研究使用的产黏液分枝杆菌(Mycobacterium mucogenicum)由课题组从南方某城市自来水管网中检出.该菌属于快速生长非结核分枝杆菌,为致病菌,可引起创伤后皮肤感染和败血症.目前对产黏液分枝杆菌的研究主要集中在医学领域,鲜见在饮用

收稿日期: 2012-04-11; 修订日期: 2012-06-24

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2009AA06Z308); 国际科技交流与合作专项(2010DFA91830);国家水体污染控制与治理科技重大专项(2008ZX07420-005)

作者简介: 郑琦(1989~),女,硕士研究生,主要研究方向为饮用水 消毒,E-mail:zhengq06@ mails. tsinghua. edu. cn

^{*} 通讯联系人, E-mail: chen_water@ tsinghua. edu. cn

水中的报道.

本研究使用含氯消毒剂对产黏液分枝杆菌进行 灭活分析,得出消毒剂灭活产黏液分枝杆菌的特性 参数,并且通过透射电镜和细菌表面疏水性测定,尝 试分析分枝杆菌的耐氯机制.

1 材料与方法

1.1 产黏液分枝杆菌和参比细菌

在南方某城市自来水管网中检出 1 株分枝杆菌,能在1 mg·L⁻¹的一氯胺溶液中长期(10 h 左右)存活. 委托中国工业微生物菌种保藏管理中心(CICC)开展生理生化和16S rRNA 序列系统发育分析,鉴定为产黏液分枝杆菌(Mycobacterium mucogenicum).

为了便于比较,选择了1株鞘氨醇单胞杆菌 (Sphoingomonas)和1株藤泽式甲基杆菌(Methylobacterium fujisawaense). 这2株菌同样是从该城市自来水管网中分离出来,并委托 CICC 进行了鉴定.

1.2 实验用细菌悬液的制备

实验室培养采用 R2A 平板划线 22 恒温培养 7 d,挑取典型菌落,接种到盛有 R2A 培养基的小试管中,水浴摇床 22 C培养 7 d. 将培养物于离心机中以5 000 r·min $^{-1}$ 的速度离心 10 min,弃上清液.将沉积物用磷酸盐缓冲溶液(PBS,pH=7)洗涤 2 次后,用 PBS (pH=7)稀释到菌液浓度约为 10^5 CFU·mL $^{-1}$,制成污染水样,进行消毒实验.

1.3 消毒实验流程

向含有 250 mL 人工污染水样的棕色玻璃瓶中加入消毒剂,接触一定时间后,从棕色玻璃瓶中快速取出 10 mL 样品测定消毒剂含量; 另取出 10 mL 样品,加入 100 μ L 无菌终止剂 (0.01 mol·L⁻¹ $Na_2S_2O_3$ 溶液)终止消毒反应,测定残余菌株数量 [18].

1.4 消毒剂的配置和测定

自由氯采用次氯酸钠溶液 (有效氯浓度为 10 g·L⁻¹,北京益利精细化学品有限公司)稀释配制. 一氯胺采用次氯酸钠溶液和硫酸铵溶液按照 $m(Cl_2): m(N) = 4:1$,在 pH = 9 的条件下,冰浴 $(1^{\circ}C)$ 搅拌反应 15 min 配制. 二氧化氯通过稀释二氧化氯溶液 (有效二氧化氯浓度为 20 g·L⁻¹,北京维尔康净化工程技术有限公司) 配制.

自由氯和一氯胺采用余氯仪(Hach Pocket Colorimeter™ II, Cat No. 58700-51, USA)测定,二氧化氯采用二氧化氯测定仪(Hach Pocket Colorimeter™ II, Cat No. 58700-00, USA)测定.

1.5 细菌计数方法

初始的细菌浓度和反应过程中残余细菌浓度均采用异养菌平板计数法(HPC)测定^[19],采用 R2A 平板,22℃培养7 d 计数,每个水样设置2个稀释梯度,每个梯度3个平行样,取菌落数30~300的平板计数.

1.6 透射电镜

透射电子显微镜具有高分辨率,能够揭示微生物内部的超微结构特征,为研究消毒剂对细菌结构等方面的破坏作用及消毒机理提供有价值的形态学依据.取已经培养好的纯菌菌液进行离心,弃上清,沿管壁缓慢加入 20 倍体积的 2.5% 的戊二醛,4℃静置固定 4 h 以上.加入磷酸盐缓冲液(0.1 mol·L⁻¹,pH = 7.4)漂洗,以洗去多余的固定液.离心后,再使用 1% 锇酸 0.5 mL 固定 2 h. 然后使用磷酸盐缓冲液漂洗 3 次,洗去多余的锇酸.最后依次用酒精、丙酮、环氧丙烷脱水,以除去细胞中的游离水^[20].将样品送至中国科学院微生物所电镜室制备超薄切片,在透射电镜(JEM-1200EX)下观察、拍照.

1.7 细胞表面疏水率测定

本实验采用微生物粘着碳烃化合物法^[21] (microbial adhesion to hydrocarbons, MATH)测定细胞表面疏水性.向 10 mL磨口圆底玻璃比色管(d=10 mm,实验前用铬酸洗液浸泡,用自来水,纯水洗净)内加入4 mL菌悬液(约10⁸ CFU·mL⁻¹),再加入1.5 mL正己烷作为有机相.用玻璃塞封口,室温下剧烈振荡 60 s,静置 15 min 分层.用无菌注射针头快速吸取水相溶液 3 mL,以磷酸盐缓冲液为空白对照,在 600 nm 波长下测定吸光度值.每个样品重复测定 3 次.同时以不加有机相作为对照组.

细胞表面疏水率 CSH =

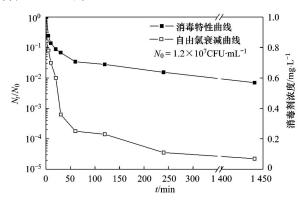
2 结果与讨论

2.1 菌液浓度对实验的影响

菌液浓度对消毒实验的开展存在较大的影响. 在前期研究中发现菌液浓度过高会导致消毒剂衰减过快,不能正确反映消毒剂灭活细菌的特性^[22]. 如图 1 所示,初始菌液浓度 N_0 = 1. 2 × 10^7 CFU·mL⁻¹, 加人 1. 0 mg·L⁻¹ 自由氯, 30 min 时衰减为 0. 4 mg·L⁻¹, 60 min 时,自由氯衰减为 0. 2 mg·L⁻¹左右. 随着消毒剂浓度的降低,细菌的灭活曲线逐渐减缓,达到平台期. 平台期的形成并不是因为消毒剂灭

活细菌的特性,而是因为消毒剂浓度衰减为一个较小值. 将分枝杆菌初始菌液浓度 $N_0=1.2\times10^7$ CFU·mL⁻¹和 $N_0=3\times10^5$ CFU·mL⁻¹的 1 mg·L⁻¹自由氯 0 ~ 60 min 的消毒特性曲线进行比较,如图 2 所示. 初始菌液浓度为 $N_0=1.2\times10^7$ CFU·mL⁻¹,消毒特性曲线初期有下降,之后下降缓慢,达到平台期;初始菌液浓度为 $N_0=3\times10^5$ CFU·mL⁻¹,消毒特性曲线一直有下降的趋势,没有平台期.

因此本实验采用的细菌浓度约为 10^5 CFU·mL⁻¹,并在实验过程中不断检测消毒剂的含量,适时补加到设定值,游离氯的上下波动范围不超过 0.1 mg·L^{-1} ,氯胺和二氧化氯的上下波动范围控制在 20% 以内.



 N_t 为 t 时刻细菌数目, N_0 为初始时刻细菌数目,下同

图 1 自由氯灭活分枝杆菌特性曲线

Fig. 1 Inactivation curve and free chlorine decay curve of Mycobacteria mucogenicum

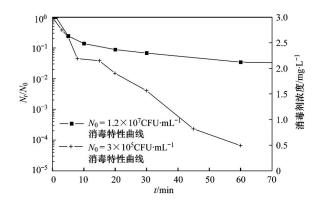


图 2 自由氯灭活不同初始菌液浓度消毒特性曲线比较

Fig. 2 Inactivation curve of *Mycobacteria mucogenicum* with different initial bacteria concentrations

2.2 消毒剂灭活分枝杆菌特性

分别用 $0.3 \times 0.5 \times 0.7 \times 1.0 \text{ mg·L}^{-1}$ 自由氯, $1.0 \times 2.0 \times 3.0 \text{ mg·L}^{-1}$ 一氯胺, $0.2 \times 0.35 \text{ mg·L}^{-1}$ 二氧化氯灭活分枝杆菌,根据实验结果,分别作消毒特性曲线和消毒剂衰减曲线,并将不同浓度的自由氯、

一氯胺和二氧化氯消毒过程中细菌存活率与 CT 进行直线拟合. 如图 3~5 所示.

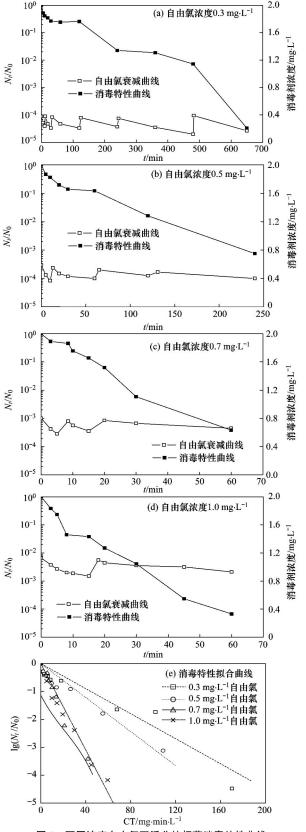


图 3 不同浓度自由氯灭活分枝杆菌消毒特性曲线

Fig. 3 Curves of different concentrations of free chlorine inactivate *Mycobacteria mucogenicum*

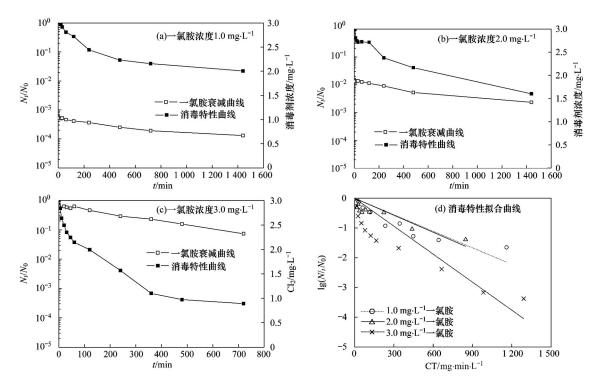


图 4 不同浓度一氯胺灭活分枝杆菌消毒特性曲线

Fig. 4 Curves of different concentrations of monochloramine inactivate Mycobacteria mucogenicum

在消毒的过程中通过补加消毒剂可以将剩余消毒剂稳定在设定的范围内,此时分枝杆菌的消毒特性曲线没有出现明显的平台期.如图 3 所示,由于自由氯衰减较快,补加频率相对较快,可以使其稳定在设定的范围内.如图 4 所示,一氯胺衰减较慢,在初始浓度为 3.0 mg·L⁻¹时,只在 20 min 时补加一氯胺.如图 5 所示,二氧化氯含量稳定,实验中没有补加.

利用 Chick-Watson 公式: $\lg(N_t/N_0) = -kCT$ CT 值计算采用积分的方法:

$$CT = \int_{0}^{t} c(\lambda) d\lambda$$

做出细菌存活率随 CT 值的变化曲线,对其进行直线拟合,如表 1 所示.可以看到其 R^2 均在 0.84 以上,具有较好线性关系.

表 1 不同消毒剂灭活分枝杆菌消毒特性曲线拟合结果

Table 1 Curves of different disinfections inactivate Mycobacteria mucogenicum

消毒剂种类	浓度/mg·L-1	消毒特性拟合曲线	R^2
	0.3	$\lg(N_t/N_0) = -0.02245CT$	0. 944 03
自由氯	0. 5	$\lg(N_t/N_0) = -0.03047CT$	0. 957 79
日田 承	0. 7	$\lg(N_t/N_0) = -0.08614CT$	0. 985 79
	1.0	$\lg(N_t/N_0) = -0.07744\text{CT}$	0. 982 03
	1.0	$\lg(N_t/N_0) = -0.00185CT$	0. 881 47
一氯胺	2. 0	$\lg(N_t/N_0) = -0.00191CT$	0. 848 77
米以及	3. 0	$\lg(N_t/N_0) = -0.003 14CT$	0. 877 66
二氧化氯	0. 2	$\lg(N_t/N_0) = -0.17838CT$	0. 903 06
一子(心水)	0. 35	$\lg(N_t/N_0) = -0.29558CT$	0. 942 54

根据以上结果得出不同消毒剂,灭活率为99.9%时的 CT 值,以 CT 99.9%表示,如表 2;并将其与常用指示菌——大肠埃希氏杆菌的 CT 99.9% ^[24]进行比较.自由氯灭活分枝杆菌的 CT 99.9%为大肠埃希氏杆菌的 847 倍,一氯胺 CT

99.9%分枝杆菌为大肠杆菌的19倍,二氧化氯CT99.9%分枝杆菌为大肠杆菌的675倍,说明分枝杆菌的耐氯性远远强于大肠杆菌,需要采取有效的消毒方式对其进行处理.

可以看到,二氧化氯对分枝杆菌的消毒效果好

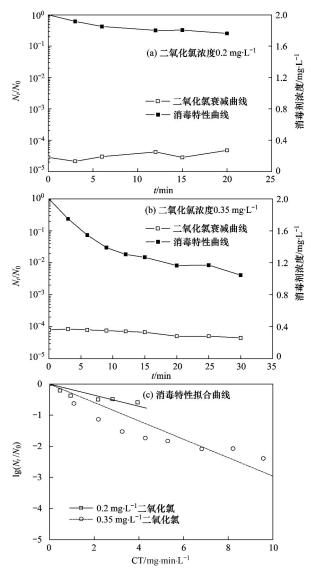


图 5 不同浓度二氧化氯灭活分枝杆菌消毒特性曲线

Fig. 5 Curves of different concentrations of chlorine dioxide inactivate Mycobacteria mucogenicum

表 2 不同消毒剂灭活分枝杆菌与大肠埃希氏 杆菌的 CT 99.9%比较/mg·min·L-1

Table 2 CT 99. 9% of different disinfectants on Mycobacteria

m	ucogenicum and Esch	erichia coli/mg·1	min•L -1
南名		消毒剂	
困石	自由氯	一氯胺	二氧化氯
分枝杆菌	76. 25 ± 47.55	1396 ± 382	13. 5 ± 4.9
大肠杆菌	0.09 ± 0.003	73 ± 28	0.02 ± 0.003

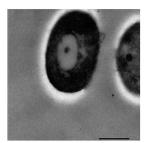
于自由氯,自由氯好于一氯胺. 3 种含氯消毒剂具 有不同的特性. 二氧化氯对微生物细胞壁有较好的 吸附和渗透性能,可有效氧化细胞内含巯基(SH)的 酶,快速抑制细胞内蛋白质的合成,使蛋白质中的氨 基酸氧化分解,从而灭活微生物[24].自由氯对细菌 的灭活机制主要表现为次氯酸的强氧化性. HOCl 为

很小的中性分子,它能扩散到带负电的细菌表面,并 通过细菌的细胞壁穿透到细菌内部,氧化破坏细菌 的酶系统而使细菌死亡[25].一氯胺消毒一般认为是 通过缓慢水解释放的 HCIO 达到灭菌效果,其消毒 的持久力比较强,但是消毒能力比较弱,杀菌作用不 及自由氯.

因此,对于存在分枝杆菌潜在威胁的饮用水,推 荐采用二氧化氯、自由氯消毒方式,或者在使用氯 胺消毒时,定期停止加氨,用自由氯消毒来提高对分 枝杆菌的灭活效果.

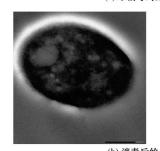
2.3 分枝杆菌形态结构

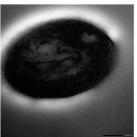
将未消毒和用 2 mg·L-1自由氯消毒 30 min 后 的分枝杆菌进行电镜扫描,见图 6.





(a) 未消毒的分支杆菌





(b) 消毒后的分支杆菌 图 6 分枝杆菌透射电镜照片

Fig. 6 TEM image of Mycobacteria mucogenicum

透射电镜观察结果显示,正常的分枝杆菌菌体 为椭球状、杆状,表面光滑,细胞壁及细胞膜结构完 整,外壳较厚,壳内层次结构清晰,核区明显,电子密 度均匀. 经过自由氯消毒 30 min 后,细菌结构有较 明显的变化. 分枝杆菌结构疏松, 体积增大, 层次变 得不清晰,核心肿胀溶解.

由此可以推测,自由氯消毒过程中,消毒剂有效 成分首先作用于细胞表面,使细胞的通透性屏障受 损,导致菌体内外渗透压遭到破坏,进而消毒剂有效 成分进入菌体后,氧化菌体内部的结构,可能使一些 酶类失去活性,以致细菌死亡.

2.4 分枝杆菌细胞表面疏水率

有研究表明分枝杆菌对于消毒剂的耐性是由于 其特殊的细胞壁膜结构,如图7所示,其细胞壁上富 含疏水分枝菌酸、长链分枝羟基脂肪酸、特殊脂类和糖脂,使得整个分枝杆菌的细胞壁具有极强的疏水性,亲水性物质必须通过通道蛋白的作用才能进出细胞,使得多数消毒剂难以进入其细胞内部发挥作用^[26].

实验通过测定分枝杆菌的细胞表面疏水率,探讨其耐氯性的原因,为了便于比较同时测定了1株鞘氨醇单胞杆菌和1株藤泽式甲基杆菌的细胞表面疏水率,其耐氯性均远低于分枝杆菌^[27](表3).

鞘氨醇单胞杆菌、藤泽式甲基杆菌和分枝杆菌的细胞表面疏水率分别为 $-0.437\% \pm 1.061\%$, $1.04\% \pm 0.33\%$ 和 $37.22\% \pm 2.50\%$ (表 3). 其中前

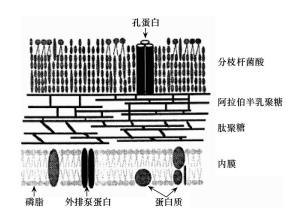


图 7 分枝杆菌细胞壁结构示意[27]

Fig. 7 Cell wall structure of Mycobacteria mucogenicum

表 3 细菌细胞表面疏水率

Table 3 Hydrophobic of bacteria surface

_	$A_{600\;\mathrm{nm}}$				细类细胞素素
菌名	对照组	实验组			— 细菌细胞表面 — 疏水率 CSH
	利炽组	1	2	3	—
鞘氨醇单胞杆菌	0. 381	0. 378	0. 385	0. 385	-0.437% ±1.061%
藤泽式甲基杆菌	0. 706	0. 696	0.700	0.700	$1.039\% \pm 0.327\%$
产黏液分枝杆菌	1. 021	0. 631	0.670	0. 622	37. 218% ± 2. 499%

2 株细菌的疏水率基本为 0,即完全亲水,鞘氨醇单胞杆菌的疏水率 < 0,主要是由于实验误差造成. 分枝杆菌的细胞表面疏水率高于鞘氨醇单胞杆菌和藤泽式甲基杆菌,说明分枝杆菌具有较好的疏水性,亲水性消毒剂不易进入细菌内部.

分枝杆菌细胞壁膜结构也得到了脂肪酸成分分析的证实. Chen 等^[28]测定了分枝杆菌细胞壁和细胞膜中的脂肪酸的组成,发现分枝杆菌的细胞壁中只含有饱和的脂肪酸,细胞膜也基本都由饱和脂肪酸构成. 饱和脂肪酸可以作为阻碍消毒剂渗透到细胞内部并与细胞内物质发生反应的物理屏障. 同时大量长链饱和脂肪酸还使分枝杆菌具有更高的疏水性,这也阻碍了消毒剂扩散到细菌体表面. 饱和脂肪酸也具有更强的稳定性,相比之下不饱和脂肪酸的不饱和键是消毒剂容易攻击的反应位点. 另外,更高比例的饱和脂肪酸还降低了细胞膜的流动性,也会抑制细胞外物质进入细菌内.

3 结论

(1)分枝杆菌对于含氯消毒剂具有很高的耐受性.根据本实验结果,用自由氯 99.9% 灭活分枝杆菌的 CT 99.9% 为 76.25 mg·min·L⁻¹,是灭活大肠杆菌的 847 倍,一氯胺灭活分枝杆菌的 CT 99.9% 为1 396 mg·min·L⁻¹,是灭活大肠杆菌的 19 倍,二氧化氯灭活分枝杆菌的 CT 99.9% 为 13.5

mg·min·L⁻¹,是灭活大肠杆菌的675倍.

- (2)由消毒灭活特性可知,二氧化氯灭活分枝 杆菌的消毒效果好于自由氯,自由氯好于一氯胺.因此,对于存在分枝杆菌潜在威胁的饮用水,推荐采用 二氧化氯、自由氯消毒方式,或者在使用氯胺消毒 时,定期停止加氨,用自由氯消毒来提高对分枝杆菌 的灭活效果.
- (3)分枝杆菌细胞壁和细胞膜含有饱和脂肪酸,其细胞表面疏水率较大,远高于鞘氨醇单胞杆菌、藤泽式甲基杆菌等其他细菌,使得极性的消毒剂不易扩散到达细菌表面,其反应活性也比含不饱和脂肪酸的细菌弱,因而比其他细菌对消毒剂更有耐性.

参考文献:

- [1] Pyle B H, Watters S K, McFeters G A. Physiological aspects of disinfection resistance in *Pseudomonas cepacia* [J]. Journal of Applied Microbiology, 1994, **76**(2): 142-148.
- [2] 杨柳, 许欣. 细菌对消毒剂抗性的研究进展[J]. 预防医学情报杂志, 2005, **21**(6): 676-679.
- [3] Torkko P, Suomalainen S, Iivanainen E, et al. Characterization of Mycobacterium bohemicum isolated from human, veterinary, and environmental sources[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2001, 39(1): 207-211.
- [4] Ristola M A, Von Reyn C F, Arbeit R D, et al. High rates of disseminated infection due to non-tuberculous mycobacteria among AIDS patients in Finland [J]. The Journal of Infection,

- 1999, **39**(1): 61-67.
- [5] Falkinham III J O, Norton C D, LeChevallier M W. Factors influencing numbers of Mycobacterium avium, Mycobacterium intracellulare, and other mycobacteria in drinking water distribution systems [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(3): 1225-1231.
- [6] Jin B W, Saito H, Yoshii Z. Environmental mycobacteria in Korea. I. distribution of the organisms [J]. Microbiology and Immunology, 1984, 28(6): 667-677.
- [7] Hillebrand-Haverkort M E, Kolk A H J, Kox L F F, et al. Generalized Mycobacterium genavense infection in HIV-infected patients: detection of the mycobacterium in hospital tap water [J]. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 1999, 31 (1): 63-68.
- [8] Lockwood W W, Friedman C, Bus N, et al. An outbreak of Mycobacterium terrae in clinical specimens associated with a hospital potable water supply [J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 1989, 140(6): 1614-1617.
- [9] Wright E P, Collins C H, Yates M D. Mycobacterium xenopi and Mycobacterium kansasii in a hospital water supply[J]. Journal of Hospital Infection, 1985, 6(2): 175-178.
- [10] Lee E S, Lee M Y, Han S H, et al. Occurrence and molecular differentiation of environmental mycobacteria in surface waters [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008, 18(7): 1207-1215.
- [11] Collins C H, Grange J M, Yates M D. Mycobacteria in water
 [J]. Journal of Applied Microbiology, 1984, 57(2): 93-211.
- [12] Dailloux M, Laurain C, Weber M, et al. Water and nontuberculous mycobacteria [J]. Water Research, 1999, 33 (10): 2219-2228.
- [13] Lee E S, Yoon T H, Lee M Y, et al. Inactivation of environmental mycobacteria by free chlorine and UV[J]. Water Research, 2012, 44(5): 1329-1334.
- [14] Vicuña-Reyes J P, Luh J, Mariñas B J. Inactivation of Mycobacterium avium with chlorine dioxide[J]. Water Research,

- 2008, 42(6-7): 1531-1538.
- [15] Falkinham J O. Impact of human activities on the ecology of non-tuberculous mycobacteria [J]. Future Microbiology, 2010, 5
 (6): 951-960.

34 卷

- [16] Maillard J Y. Bacterial target sites for biocide action[J]. Journal of Applied Microbiology, 2002, 92 (Supplement1): 16S-27S.
- [17] 张朝武. 分枝杆菌抗性与消毒研究进展[J]. 中国消毒学杂志, 2006, **23**(3): 260-263.
- [18] 刘静. 饮用水组合氯化消毒工艺的研究[D]. 北京: 清华大学, 2009.
- [19] 鲁巍, 王云, 张晓健. 饮用水中几种细菌计数方法的比较 [J]. 环境科学, 2004, **25**(4): 167-169.
- [20] 魏玉利, 邹宁. 光合细菌的透射电镜观察[J]. 生命科学仪器, 2007, **5**(5): 16-18.
- [21] 孙晓莹,施汉昌,全向春,等.细菌细胞表面疏水性及在活性污泥中粘附率影响因素研究[J].环境科学,2008,29 (10):2809-2814.
- [22] 刘静, 陈超, 张晓健, 等. 微生物杀灭效果试验中的游离氯 转化研究[J]. 环境科学, 2008, **29**(11): 3054-3058.
- [23] Taylor R H, Falkinham J O III, Norton C D, et al. Chlorine, chloramine, chlorine dioxide, and ozone susceptibility of Mycobacterium avium [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(4): 1702-1705.
- [24] 陈超. 控制消毒副产物的顺序氯化消毒及水处理工艺优化研究[D]. 北京: 清华大学, 2005.
- [25] 蔡宏道. 现代环境卫生学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995.
- [26] Pan F, Jackson M, Ma Y F, et al. Cell wall core galactofuran synthesis is essential for growth of mycobacteria [J]. Journal of Bacteriology, 2001, 183(13): 3991-3998.
- [27] 陈雨乔, 段晓笛, 陆品品, 等. 给水管网中耐氯性细菌的灭活特性研究[J]. 环境科学, 2012, 33(1): 104-109.
- [28] Chen Y Q, Chen C, Zhang X J, et al. Inactivation of resistant Mycobacteria mucogenicum in water: chlorine resistance and mechanism analysis [J]. Biomedical and Environmental Sciences, 2011, 25(2): 230-237.

HUANJING KEXUE

Environmental Science (monthly)

Vol. 34 No. 2 Feb. 15, 2013

CONTENTS

Characterization of Chemical Compositions in PM _{2.5} and Its Impact on Hazy Weather During 16 th Asian Games in Guangzhou ···	TAO Jun, CHAI Fa-he, GAO Jian, et al.	. (409)
PM _{2.5} Pollution and Aerosol Optical Properties in Fog and Haze Days During Autumn and Winter in Beijing Area		
Forming Potential of Secondary Organic Aerosols and Sources Apportionment of VOCs in Autumn of Shanghai, China		
Study on Number Concentration Distribution of Atmospheric Ultrafine Particles in Hangzhou		
Pollution Characteristics and Source Identification of Atmospheric Particulate Matters n-Alkanes in Baoding City		
Study on Pollution Characteristics of Carbonaceous Aerosols in Xi'an City During the Spring Festival	······ ZHOU Bian-hong, ZHANG Cheng-zhong, WANG Ge-hui	i (448)
Characteristics of PM ₁₀ and PM _{2.5} Concentrations in Mountain Background Region of East China		
Assessment of TVOC and Odor in the Remediation Site of Contaminated Soil and Groundwater Using Electronic Nose		
Characteristics of Mercury Exchange Flux Between Soil and Atmosphere Under the Snow Retention and Snow Melting Control		
Study on Heavy Metal Contaminations and the Sources of Pb Pollution in Jinghai Bay Using the Stable Isotope Technique		
Eco-environmental Evolution Inferred from n -Alkanes and $\delta^{12}C$ Records in the Sediments of Shijiu Lake		
Distribution of PGEs Contents and Its Factors in Snowfall and Snow Cover over the Arid Region in Changji City	LIU Yu-yan, LIU Hao-feng, ZHANG Lan	(494)
Effect of Dust Deposition Collection Methods on Collection Efficiency	····· ZHANG Zheng-cai, DONG Zhi-bao	(499)
Regionalization of the Freshwater Eco-regions in the Haihe River Basin of China		. (509)
Characteristics of Diffuse Attenuation Coefficient of Underwater Irradiance in the Lakes in the Middle and Lower Reaches of Yang	gtze River	
Study on Influencing Factors and Universality of Chlorophyll-a Retrieval Model in Inland Water Body		. (525)
Effect of Dissolved Oxygen on Diversity of Ammonia-Oxidizing Microorganisms in Enrichment Culture from Estuarine Wetland Sur	rface Sediments and Ammonia-oxidizing Rate	, ,
	······ QIU Zhao-zheng, LUO Zhuan-xi, ZHAO Yan-ling, et al.	. (532)
Spatial Variation of Soil Moisture/Salinity and the Relationship with Vegetation Under Natural Conditions in Yancheng Coastal W	etland	(510)
Spatial Heterogeneity and Classified Control of Agricultural Non-Point Source Pollution in Huaihe River Basin		
Phosphorus Output Characteristics Under Different Rainfall-Runoffs in Gaolan River	CUI Yu-jie, LIU De-tu, SONG Lin-xu, et al.	. (555)
Monitoring and Analysis on Evolution Process of Rainfall Runoff Water Quality in Urban Area		
Characteristics and Contribution of the Strengthening Units of Composite Constructed Wetland for Treating Urban Sewage		
Inactivation of Mycobacteria mucogenicum in Drinking Water: Chlorine Resistance and Mechanism Analysis		
Partial Biological Characteristics and Algicidal Activity of an Algicidal Bacterium		
Effects of Macrophytes Pyrolysis Bio-oil on Skeletonema costatum Antioxidant Enzyme Activities		
Mechanism and Kinetics of Phenol Degradation by TiO ₂ Photocatalytic Combined Technologies	ZHANG YI, HUANG Kuo-nan, WANG Xiao-min, et al.	. (396)
Biodegradation Characteristics of Organic Pollutants Contained in Tannery Wastewater Microbial Degradation Mechanism of Disperse Azo Dye Red 30 by Streptomyces sp. FX645		
Study on Preparation and Performance of a Biological Carrier with Tourmaline Study on the Chlorella pyrenoidosa Cultivation Technology Based on the Excess Sludge Utilization		
Effects of Mild Thermal Pretreatment on Anaerobic Digestibility of Sludge with Low Organic Content		
Effect of Natural and Hydrothermal Synthetic Goethite on the Release of Methane in the Anaerobic Decomposition Process of Organic		. (029)
Enect of Natural and Hydrothermal synthetic Goetime on the Release of Methane in the Anaeronic Decomposition Frocess of Organical Natural and Hydrothermal Synthetic Goetime on the Release of Methane in the Anaeronic Decomposition Frocess of Organical Natural and Hydrothermal Synthetic Goetime on the Release of Methane in the Anaeronic Decomposition Frocess of Organical Natural Natural and Hydrothermal Synthetic Goetime on the Release of Methane in the Anaeronic Decomposition Frocess of Organical Natural Natura Natura Natura Natura Natur	WANG line at al.	(635)
Concentrations and Distribution Characteristics of PCDD/Fs in Spent Etching Solution and Its Copper Salt Recycling Products		
Case Study on Health Risk Assessment Based on Site-Specific Conceptual Model		
Study on the Risk Assessment Method of Regional Groundwater Pollution	VANC Van VII Vun-iiang WANG Zong-ging et al.	(653)
Groundwater Organic Pollution Source Identification Technology System Research and Application	WANG Yiao-hong WEI Jia-hua CHENG Thi-neng et al.	(662)
Study on Soil Organic Carbon Pools and Turnover Characteristics Along an Elevation Gradient in Qilian Mountain		
Response of Black Soil Organic Carbon, Nitrogen and Its Availability to Long-term Fertilization	LIJO Kun HIJ Rong-gui ZHANG Wen-iu et al.	(676)
Phytoavailability and Chemical Speciation of Cadmium in Different Cd-Contaminated Soils with Crop Root Return		
Study on Mechanism of SOM Stabilization of Paddy Soils Under Long-term Fertilizations		
Aging Process of Cr(III) in 22 Typical Soils of China and Influence Factors Analysis		
Residual Characteristics of HCHs in Soils of a Former Lindane Production Enterprise		
Evaluation and Source Analysis of the Mercury Pollution in Soils and Vegetables Around a Large-scale Zinc Smelting Plant		
Residue of Organic Fluorine Pollutants in Hair and Nails Collected from Tianjin		
Analysis of Estrogens, Nonylphenol, 4-tert-Octylphenol and Bisphenol A in the Sediments		
Investigation of As, Cu and Zn Species and Concentrations in Animal Feeds	····· YAO Li-xian, HUANG Lian-xi, JIANG Zong-vong, et al.	. (732)
Residue Dynamics of Flubendiamide in Paddy Field		
Isolation of Two Endophytic Phenanthrene-Degrading Strains and Their Degradation Capacity		
Biodegradation of Nitrobenzene by a Halophilic Myroides odoratimimus Strain Y6	LI Tian, OIAN Kun, XIAO Wei. et al.	. (753)
Effect of Immobilization on Biosensor for Benzene Derivates Detection		
Investigation of Bacterial Diversity in the Biological Desulfurization Reactor for Treating High Salinity Wastewater by the 16S rDN	NA Cloning Method ·····	
8-8-9-9-9-9-9-9-9-9-9-9-9-9-9-9-9-9-9-9	LIU Wei-guo, LIANG Cun-zhen, YANG Jin-sheng. et al.	. (767)
Assessment of the Effect of Influent NH ₄ +N Concentration on the Abundance and Community Structure of Functional Bacteria in	CANON Process	
4	LIU Tao, LI Dong, ZENG Hui-ping, et al.	. (773)
Biodegradation of Lignocellulose by Penicillium simplicissimum and Characters of Lignocellulolytic Enzymes		
Microbial Community Structure and Distribution Characteristics in Oil Contaminated Soil		
Degradation of Oxytetracycline in Chicken Feces Aerobic-Composting and Its Effects on Their Related Parameters	0.1 0.	
	with our zhen, Er zhao jan, zhitho cha qing, er ar.	
Research of Moisture Content Variation in MSW Landfill		

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编:欧阳自远

副主编:赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委:(按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军

朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明

欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞

黄耀 鲍强潘纲潘涛魏复盛

环轮种草

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊) 2013年2月15日 34卷 第2期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 2 Feb. 15, 2013

主	管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主	办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese
协	办	(以参加先后为序)			Academy of Sciences
		北京市环境保护科学研究院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental
		清华大学环境学院			Protection
主	编	欧阳自远			School of Environment, Tsinghua University
编	辑	《环境科学》编辑委员会	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
2 111 1	14	北京市 2871 信箱(海淀区双清路	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING
		18 号,邮政编码:100085)			KEXUE)
		电话:010-62941102,010-62849343			P. O. Box 2871, Beijing 100085, China
		传真:010-62849343			Tel:010-62941102,010-62849343; Fax:010-62849343
		E-mail: hikx@ rcees. ac. cn			E-mail; hjkx@ rcees. ac. cn
		http://www.hjkx.ac.cn			http://www.hjkx.ac.cn
出	版	4 望 出 版 社	Published	by	Science Press
щ	///	北京东黄城根北街 16 号			16 Donghuangchenggen North Street,
		邮政编码:100717			Beijing 100717, China
印刷装	ŧΪ	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发	行	斜学出版社	Distributed	by	Science Press
		电话:010-64017032			Tel:010-64017032
		E-mail:journal@mail.sciencep.com			E-mail:journal@mail.sciencep.com
订 购	处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总统	发行	中国国际图书贸易总公司	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji
		(北京 399 信箱)			Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: $\frac{ISSN}{CN}$ 0250-3301 $\frac{11-1895/X}{11}$

国内邮发代号: 2-821

国内定价:90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行