

# 氯对模拟管壁生物膜的氧化特性研究

张永吉<sup>1</sup>, 周玲玲<sup>2</sup>, 李伟英<sup>1</sup>, 李星<sup>3</sup>, 李德强<sup>4</sup>, 李圭白<sup>2</sup>

(1. 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092; 2. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090; 3. 北京工业大学建筑工程学院, 北京 100022; 4. 中国市政工程华北设计研究院, 天津 300074)

**摘要:**以载片上培养的大肠杆菌生物膜为对象, 研究了氯对模拟管壁生物膜中大肠杆菌的灭活效果, 同时考察氯氧化生物膜后水中生物可同化有机碳(AOC)、生物可利用磷(MAP)和细菌生长潜能(BRP)的变化情况. 结果表明, 氯可以有效灭活悬浮态的大肠杆菌, 而对生物膜中的大肠杆菌的灭活效率远低于悬浮菌; 在相同 CT 值下, 较高浓度的氯对悬浮态和生物膜中大肠杆菌的灭活效果要高于低浓度的氯. 氯对生物膜的氧化作用会使生物膜中物质溶出, 增加了水中 AOC 和 MAP 浓度, 如当氯的浓度为 1.0 mg/L (CT 值为 100 mg•min/L) 时, 水中 AOC 由 20.78  $\mu\text{g/L}$  增加到 120.17  $\mu\text{g/L}$ , MAP 含量由 0.11  $\mu\text{g/L}$  增加到 0.17  $\mu\text{g/L}$ ; 氯的氧化作用会增加水的细菌生长潜能(BRP), BRP 随着 CT 值的增加而增加, 如当氯投量为 1.0 mg/L (CT 值为 100 mg•min/L) 时, BRP 可达到  $1.10 \times 10^7$  CFU/mL.

**关键词:** 氯; 生物膜; 生物可同化有机碳; 生物可利用磷; 细菌生长潜能

中图分类号: X131.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)05-1381-05

## Oxidization Characteristic of Chlorine on the Biofilm in Simulated Drinking Water Distribution System

ZHANG Yong-ji<sup>1</sup>, ZHOU Ling-ling<sup>2</sup>, LI Wei-ying<sup>1</sup>, LI Xing<sup>3</sup>, LI De-qiang<sup>4</sup>, LI Gui-bai<sup>2</sup>

(1. State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 3. College of Architecture and Civil Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100022, China; 4. North China Municipal Engineering Design and Research Institute, Tianjin 300074, China)

**Abstract:** In the article, the inactivation effect of chlorine on *E. coli* biofilm and the influence of chlorine oxidization on the contents of assimilable organic carbon(AOC), microbially available phosphorus(MAP) and bacterial regrowth potential(BRP) was investigated in the simulated drinking water distribution system. Results showed that chlorine resulted in more efficient reduction on suspended *E. coli* than did in biofilm. The inactivation effect of *E. coli* was influenced by chlorine concentration. Likewise, higher chlorine concentration resulted in more *E. coli* inactivation rate at the same CT (chlorine concentration multiply by time) value, when biofilm was oxidized by chlorine. Concentrations of AOC and MAP in bulk water increased owing to organic substance dissolved from biofilm. The AOC concentration increased from 20.78  $\mu\text{g/L}$  to 120.17  $\mu\text{g/L}$ , and the MAP was increased from 0.11  $\mu\text{g/L}$  to 0.17  $\mu\text{g/L}$ , and the Chlorine oxidization enhanced BRP concentration in the bulk water. BRP reached maximum at  $1.10 \times 10^7$  CFU/mL when chlorine concentration was 1.0 mg/L, CT value was 100 mg•min/L.

**Key words:** chlorine; biofilm; assimilable organic carbon (AOC); microbially available phosphorus (MAP); bacterial regrowth potential (BRP)

给水管壁生物膜会对饮用水微生物安全性造成危害, 一方面在给水管网中寡营养条件下生长的微生物对余氯具有较高的抗性, 如有荚膜和无荚膜的肺炎克雷伯式菌株等在贫营养条件下对自由氯的抗性分别增加了 3 倍和 2 倍, 一些菌种甚至会增加 9 倍<sup>[1]</sup>, 另一方面生物膜中的细菌在水力冲刷下会进入水中, 增加水中悬浮菌的数目<sup>[2]</sup>. 为了控制给水管壁生物膜的形成, 通常采用提高消毒剂的投量、控制进入管网水的 AOC 等方式<sup>[3]</sup>.

然而提高消毒剂的投量不仅会造成消毒副产物的增加, 过多的消毒剂还可能会与管壁生物膜中的微生物、有机物和无机物反应, 使生物膜中的部分物

质从生物膜中溶解到水中. 这部分物质可能会为水中微生物的再生长提供营养物质, 进而增加水中微生物的数量<sup>[4,5]</sup>.

本研究以在聚碳酸酯载片上培养的大肠杆菌生物膜为对象, 考察不同浓度及 CT 值下氯对生物膜中细菌的灭活效果, 及氯对管壁生物膜氧化产物对细菌再生长的影响, 从而为实际水厂合理确定消毒

收稿日期: 2008-06-03; 修订日期: 2008-11-18  
基金项目: 国家自然科学基金项目(50878164); “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAJ08B02, 2006BAJ08B06)  
作者简介: 张永吉(1974~), 男, 博士, 主要研究方向为给水深度处理和管网水质保障技术, E-mail: zhang\_yongji@163.com

剂的投量提供理论依据.

# 1 材料与方法

## 1.1 大肠杆菌生物膜的培养

大肠杆菌(*E. coli*, 1.3373)由中国科学院微生物所提供. 试验时将大肠杆菌培养液经离心处理后, 再稀释配制成浓度为  $10^7 \sim 10^8$  CFU/mL 的大肠杆菌悬浮液. 将聚碳酸酯载片放入大肠杆菌悬浮液中, 用磁力搅拌器进行搅拌, 以模拟管网中水力条件, 此过程在  $37^\circ\text{C}$  下进行 4 d, 在此期间每隔 1 d 更换 1 次营养肉汤, 以保证充足的营养. 载片在使用前先用 2 ~ 4 根灭过菌的棉签从上到下擦拭 5 次, 再用 2.0 mg/L 次氯酸钠灭菌 24 h, 然后用灭菌去离子水清洗 2 次.

## 1.2 生物膜的氯消毒试验

将培养好的载片从培养液中取出, 用灭菌蒸馏水冲洗 5 次, 以去除表面悬浮状态的大肠杆菌和部分溶解性物质. 将载片浸入一定浓度的灭菌超纯水中, 加入不同浓度的氯, 反应一定时间后取出载片, 测定水样中的余氯量; 用硫代硫酸钠终止反应后, 测定生物膜中大肠杆菌的数量, 同时测定缓冲溶液中生物可同化有机碳(AOC)、生物可利用磷(MAP)、细菌生长潜能(BRP).

## 1.3 水中悬浮菌和生物膜中大肠杆菌的测定

悬浮态大肠杆菌的测定采用滤膜法测定<sup>[11]</sup>. 生物膜中大肠杆菌的测定方法如下: 用 2 ~ 4 根灭过菌的棉签从上到下擦拭载片挂膜面 5 次, 将擦拭完的棉签放入盛有 10 mL 缓冲液的试管中, 置于超声波清洗器(功率 250 W)中超声作用 25 min, 对溶液中的大肠杆菌按悬浮态大肠杆菌的测定方法测定, 以单位面积的细菌数表示(CFU/cm<sup>2</sup>)<sup>[6]</sup>.

## 1.4 AOC 的测定

取 1.2 部分中所述水样 40 mL, 加入硫代硫酸钠中止余氯, 经  $70^\circ\text{C}$  水浴巴氏消毒 30 min 后冷却至室温. 先接种  $P_{17}$  于水样中, 于  $22 \sim 25^\circ\text{C}$  下黑暗培养 2 d, 采用涂布法测定细菌数; 再将该水样巴氏灭菌杀死  $P_{17}$  菌后接种 NOX 菌, 同样条件培养 3 d 后进行平板计数, 根据产率系数确定 AOC 的浓度<sup>[7]</sup>. 本试验所测定的产率系数(以乙酸碳计)为:

$$Y(P_{17}) = 1.7 \times 10^7 \text{ CFU}/\mu\text{g}$$

$$Y(\text{NOX}) = 0.8 \times 10^7 \text{ CFU}/\mu\text{g}$$

## 1.5 MAP 的测定

取 1.2 部分中所述水样 50 mL, 加入到经无碳化处理的磨口三角瓶中, 同时加入 50  $\mu\text{L}$  无机营养液(氮、镁、钙、钾等)和 50  $\mu\text{L}$  的乙酸钠溶液(以乙酸碳

计), 溶液中各物质的浓度如文献[8]所述. 在  $70^\circ\text{C}$  水浴中巴氏灭菌 30 min 以灭活非芽孢细菌. 冷却至室温后接种荧光假单胞菌  $P_{17}$ , 其浓度为  $10^3$  CFU/mL, 在  $15^\circ\text{C}$  下置于暗处培养 5 d 后计数, 利用产率系数计算水样的 MAP, 本试验中测定的 MAP 产率系数(以  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 计)为  $5.04 \times 10^8$  CFU/ $\mu\text{g}$ .

## 1.6 BRP 的测定

取 1.2 中所述的水样 20 mL, 加入具塞磨口锥形瓶中, 加入硫代硫酸钠中和剩余的消毒剂. 将锥形瓶放到暗处恒温  $20^\circ\text{C}$  培养 5 d. 然后将水样经孔径为 2  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤, 以滤过水作为接种用的水样. 另取 1.2 中所述水样 20 mL, 加入到经过超纯水洗涤、消毒及无碳化处理的具塞磨口锥形瓶中, 在  $70^\circ\text{C}$  的水浴中消毒 30 min, 冷却到室温后, 按照 1:100 的比例加入前述的接种水样, 在  $20^\circ\text{C}$  下置于暗处恒温培养 7 d 后测定水中细菌总数, 即为该水样的 BRP<sup>[9]</sup>. 所用培养基如文献[10]所述.

## 1.7 余氯的测定

余氯采用 DPD(*N,N*-二乙基, 1,4-苯二胺)、硫酸亚铁铵滴定法测定<sup>[11]</sup>.

# 2 结果与讨论

## 2.1 氯对水中悬浮菌的灭活效果

图 1 是氯对水中悬浮菌的灭活情况. 可以看出, 氯对悬浮菌的灭活效果与氯的浓度及 CT 值有关. 在氯的浓度为 0.5 mg/L 时, 对水中悬浮菌的灭活效果很低, CT 值的增加对大肠杆菌的灭活效率提高幅度很小, 如当 CT 值为 100 mg $\cdot$ min/L 和 300 mg $\cdot$ min/L 时, 其灭活率仅为 1.19 lg 和 1.13 lg. 而随着氯浓度的提高, 对大肠杆菌的灭活效率不断提高, 如当氯的浓度提高到 1.0 mg/L 和 3.0 mg/L 时, 当 CT 值为 100 mg $\cdot$ min/L 时, 其灭活效率分别可达到 3.01 lg 和 5.25 lg, 较氯浓度为 0.5 mg/L 时提高了 1.82 lg 和 4.12 lg. 有研究认为氯消毒效果仅取决于 CT 值, 而与氯的浓度无关<sup>[12~14]</sup>, 而本研究所得结论表明, 对水中悬浮菌的灭活, 不仅取决于 CT 值, 同时与氯的浓度有关, 随着氯浓度的提高, 对大肠杆菌的灭活效率大幅度提高.

## 2.2 氯对生物膜中大肠杆菌的灭活

氯对生物膜中大肠杆菌的灭活与对悬浮态大肠杆菌的灭活具有相似的规律. 从图 2 可以看出, 不同浓度的氯对生物膜的灭活效率不同, 高浓度的消毒剂有利于对生物膜中微生物的灭活效果. 如当氯浓度为 0.5 mg/L 时, 对生物膜中大肠杆菌的灭活效率

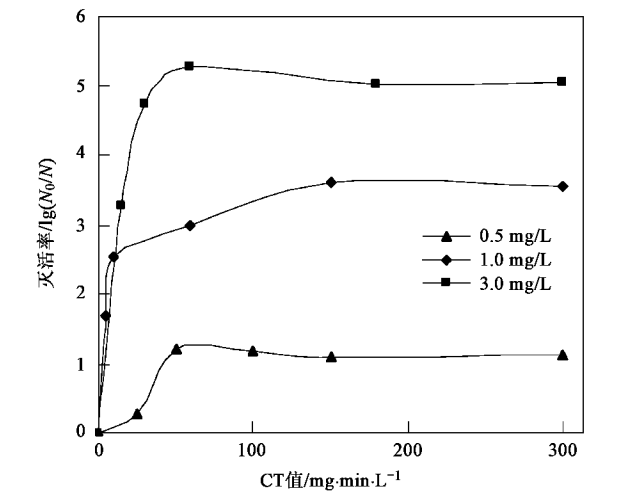


图 1 氯对悬浮态大肠杆菌的灭活

Fig.1 Effects of chlorine on suspended *E. coli* inactivation

非常低,CT 值达到 300 mg·min/L时,其灭活率仅为 0.13 lg.而当氯的浓度提高到 1.0 和 3.0 mg/L,在 CT 值为 300 mg·min/L时,对生物膜中大肠杆菌的灭活率可提高到 1.30 lg 和 2.20 lg.

对比图 1 可以看出,氯对生物膜中大肠杆菌的灭活效果要明显低于对悬浮状态大肠杆菌的灭活效果.如在氯浓度为 1.0 mg/L,CT 值为 100 mg·min/L时,对生物膜中的大肠杆菌及悬浮态大肠杆菌的灭活效率分别为 1.10 lg 和 3.40 lg,二者相差 2.30 lg.其原因可能在于生物膜中的大肠杆菌处于有机物和无机物的包裹中,氯在通过生物膜与大肠杆菌的接触过程中,会与生物膜中的部分物质发生氧化反应而被消耗,到达大肠杆菌时其浓度降低,因而对生物膜中大肠杆菌的灭活效率降低.当氯的浓度较低时,由于在通过生物膜时会与生物膜反应,到达大肠杆菌时的浓度较低,因而对其灭活效率非常低.当提高氯的浓度时,到达大肠杆菌的氯的浓度会相对较高,因而对大肠杆菌的灭活效率得到提高<sup>[15,16]</sup>.

2.3 水中 AOC 的变化情况

为了考察生物膜氯氧化溶出物对水质的影响,对氯氧化大肠杆菌生物膜后水中 AOC 的变化情况进行了研究(图 3).可以看出,浸泡载片的水初始 AOC 浓度为 20.78 μg/L,氯的加入增加了水中 AOC 的含量.在相同 CT 值下,氯浓度为 1.0 mg/L时,AOC 增加幅度最大,氯浓度为 3.0 mg/L时,水中 AOC 的浓度反而低于浓度为 0.5 mg/L的情况.如当氯的浓度为 1.0 mg/L,CT 值为 100 mg·min/L时,水中 AOC 可增加到 120.17 μg/L.水中 AOC 的变化与 CT 值也

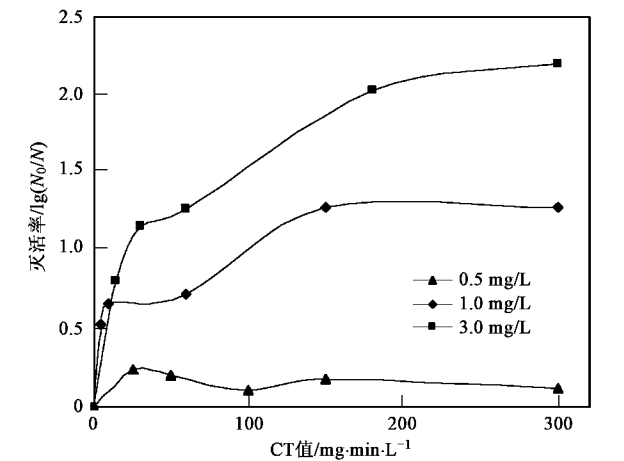


图 2 氯对生物膜中大肠杆菌的灭活

Fig.2 Effects of chlorine on biofilm *E. coli* inactivation

有一定的关系,在相同氯投量下,随着 CT 值的增加而增加,但增加幅度不大.由于在反应过程中未引入其它有机物,因而可以认为水中 AOC 的增加来源于生物膜中的有机物或微生物.在氯浓度较低时,氯将生物膜中的一部分有机物或微生物中部分大分子物质氧化成低分子量的有机物,从而使 AOC 增加.而随着氯浓度的增加,水中部分溶出的 AOC 可能会被氯继续氧化,从而使 AOC 浓度降低.Markku 等<sup>[17]</sup>在研究臭氧对水中 AOC 的影响时,也得到相似的结论,说明氧化剂会与生物膜反应,使部分有机物从生物膜中溶解到水中.

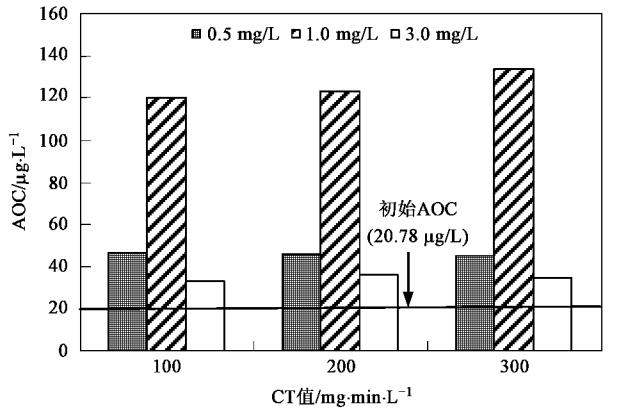


图 3 氯对生物膜溶出 AOC 的影响

Fig.3 Effects of chlorine on AOC from biofilms

2.4 水中 MAP 的变化

MAP 代表水中微生物可利用磷的含量,研究表明,MAP 可以在一定程度上限制微生物的生长能力<sup>[18~20]</sup>.图 4 是氯氧化后水中 MAP 的变化情况.在氯浓度为 1.0 mg/L时从生物膜中溶解出的 MAP 量

最高,氯投量为 0.5 mg/L 和 3.0 mg/L 时,MAP 的含量都低于高于 1.0 mg/L 时溶解出的 MAP,但高于初始 MAP 含量.如当氯的浓度为 1.0 mg/L、CT 值为 100 mg•min/L 时,MAP 含量由 0.11 μg/L 增加到 0.17 μg/L.其原因可能在于氯的氧化作用改变了生物膜中的某些含磷有机物的性质,或由于氯对微生物的氧化,使磷从细胞的生物膜及细胞质中释放出来.Markku 等<sup>[17]</sup>研究了臭氧对 MAP 的影响,也发现臭氧可以使 MAP 升高,与本研究具有相似的结论.

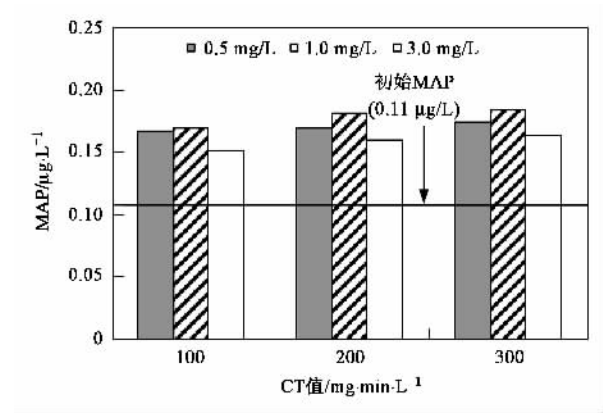


图 4 氯对生物膜溶出 MAP 的影响  
Fig.4 Effects of chlorine on MAP from biofilms

2.5 余氯的衰减情况

图 5 是在有、无生物膜 2 种情况下,水中余氯的衰减情况.可以看出,在无生物膜时,氯的衰减速率较低,随着氯浓度的增加衰减速度增加.而有生物膜情况下,氯的衰减速度明显提高.如在氯浓度为 1.0 mg/L 时,在有无生物膜 2 种情况下氯的衰减比分别为 60% 和 42.8%.而氯的浓度为 3.0 mg/L 时,2 种情况下氯的衰减比为 84% 和 60.7%.对氯衰减的研究表明,氯与生物膜中的有机物发生了反应,从而使氯的衰减速度高于无生物膜的情况.同时也说明由于管壁生物膜与氯的反应消耗了一定量的氯,从而使

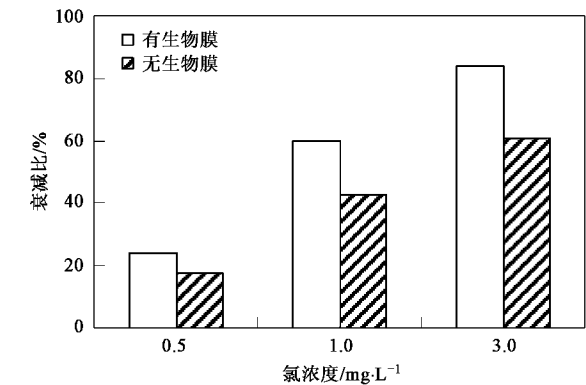


图 5 生物膜对余氯衰减的影响  
Fig.5 Effects of biofilm on residual chlorine decay

其对生物膜及水中的微生物的灭活效率降低.

2.6 氯氧化对 BRP 的影响

BRP 是用来衡量水中细菌再生长的一个指标,其数值的大小可直接反映水中营养物质支持细菌再生长能力的高低.表 1 是氯氧化生物膜溶出物质对 BRP 的影响.空白水样的 BRP 为  $5.65 \times 10^4$  CFU/mL,氯的加入增加了水样的 BRP. BRP 的大小与氯投量及 CT 值有关,在相同氯投量下随着 CT 值的增加, BRP 也随着增加.在相同 CT 值下,氯投量为 1.0 mg/L 时, BRP 最高,氯的浓度提高到 3.0 mg/L 时, BRP 反而降低,其数值低于 0.5 mg/L 时的 BRP 值.如 CT 值为 100 mg•min/L,氯浓度为 0.5 mg/L 时, BRP 为  $8.90 \times 10^6$  CFU/mL,在氯浓度为 1.0 mg/L 时, BRP 可达到  $1.10 \times 10^7$  CFU/mL,而氯浓度提高到 3.0 mg/L 时, BRP 降低到  $2.75 \times 10^6$  CFU/mL.对比氯氧化对 AOC 及 MAP 的数据可以看出,二者都是在氯浓度为 1.0 mg/L 时达到最大,此时生物膜中溶解出来的营养物质最多,这些物质为细菌的生长提供了营养,因而 BRP 最高.具体原因需进一步通过试验确定.

| 表 1 氯的氧化作用对细菌生长潜能的影响/CFU•mL <sup>-1</sup>                                       |                        |                        |                        |
|---------------------------------------------------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Table 1 Effect of chlorine on bacterial regrowth potential/CFU•mL <sup>-1</sup> |                        |                        |                        |
| CT 值<br>/mg•L <sup>-1</sup>                                                     | 氯浓度/mg•L <sup>-1</sup> |                        |                        |
|                                                                                 | 0.5                    | 1.0                    | 3.0                    |
| 100                                                                             | 8.90 × 10 <sup>6</sup> | 1.10 × 10 <sup>7</sup> | 2.75 × 10 <sup>6</sup> |
| 200                                                                             | 7.50 × 10 <sup>6</sup> | 1.54 × 10 <sup>7</sup> | 2.90 × 10 <sup>6</sup> |
| 300                                                                             | 8.65 × 10 <sup>6</sup> | 1.74 × 10 <sup>7</sup> | 7.25 × 10 <sup>6</sup> |

3 结论

(1) 氯对生物膜中细菌的灭活效率低于水中悬浮菌的灭活效率,消毒过程中氯的浓度对消毒效果有一定影响,在相同 CT 值下,高浓度的氯消毒效果较好.

(2) 氯对模拟管壁生物膜的氧化作用会造成生物膜中 AOC 及 MAP 的溶出,在氯的浓度为 1.0 mg/L 时, AOC 及 MAP 的溶出量最高.

(3) 氯对生物膜的氧化作用会增加水的细菌生长潜能,降低水的微生物安全性;随着氯浓度及 CT 值的增加, BRP 也随着增加.

(4) 在实际应用氯作为消毒剂时,其投量除考虑氯对微生物的灭活、消毒副产物控制外,还要综合考虑氯对生物膜氧化溶出物对细菌再生长的影响.

参考文献:

[ 1 ] 余国忠,王根凤,龙小庆,等. 给水管网的细菌生长可能机制与防治对策[J]. 中国给水排水, 2000, 16(8): 18-20.

[ 2 ] 李爽, 张晓健. 给水管壁生物膜的生长发育及其影响因素[J]. 中国给水排水, 2003, **19**(13):49-52.

[ 3 ] 姜登岭. 营养基质对管网水悬浮菌再生长的影响研究[D]. 北京: 清华大学, 2004. 45-52.

[ 4 ] Chandy J P, Angles M L. Determination of nutrients limiting biofilm formation and the subsequent impact on disinfectant decay[J]. Wat Res, 2001, **35**(11):2677-2682.

[ 5 ] Ndiongue S, Huck P M, Slawson R M. Effects of temperature and biodegradable organic matter on control of biofilms by free chlorine in a model drinking water distribution system[J]. Wat Res, 2005, **39**(6):953-964.

[ 6 ] 鲁巍, 王云, 张晓健. BAR 反应器中生物膜的分离及定量[J]. 中国给水排水, 2005, **21**(2):91-94.

[ 7 ] LeChevallier M W, Schulz W, Lee R G. Bacterial nutrients in drinking water[J]. Applied Environmental Microbiology, 1991, **57**(3):857-862.

[ 8 ] 桑军强, 余国忠, 张锡辉, 等. 磷与水中细菌再生长的关系[J]. 环境科学, 2003, **24**(4):81-84.

[ 9 ] Sathasivan A, Ohgaki S. Application of new bacterial regrowth potential method for water distribution system-A clear evidence of phosphorus limitation[J]. Wat Res, 1999, **33**(1):137-144.

[10] 俞毓馨. 环境工程微生物检验手册[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990. 136-144.

[11] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 172-176.

[12] Haas C N, Joffe J, Anmangandla U, *et al.* Water quality and disinfection kinetics[J]. J AWWA, 1996, **88**(3):95-103.

[13] Damian E H, Jeanne M V. Free chlorine demand and cell survival of microbial suspensions[J]. Wat Res, 2007, **41**(19):4424-4434.

[14] Wiedenmanna A, Brauna M, Botzenhart K. Evaluation of the disinfection potential of low chlorine concentrations in tap water using immobilised *Enterococcus faecium* in a continuous flow device[J]. Wat Sci Tech, 1997, **35**(11-12):77-80.

[15] Mariko T, Masakatsu T, Masahiro M, *et al.* Evaluation of some halogen biocides using a microbial biofilm system[J]. Wat Res, 2005, **39**(17): 4126-4132.

[16] Goeres D M, Palys T, Sandel B B, *et al.* Evaluation of disinfectant efficacy against biofilm and suspended bacteria in a laboratory swimming pool model[J]. Wat Res, 2004, **38**(13):3103-3109.

[17] Markku J L, Ilkka T M, Terttu V, *et al.* Microbially available organic carbon, phosphorus, and microbial growth in ozonated drinking water[J]. Wat Res, 2001, **35**(7):1635-1640.

[18] Chu C H, Lu C S, Lee C. Effects of inorganic nutrients on the regrowth of heterotrophic bacteria in drinking water distribution systems[J]. Environ Management, 2005, **74**(3):255-263.

[19] Markku J L, Ilkka T M, Terttu V, *et al.* Changes in content of microbially available phosphorus, assimilable organic carbon and microbial growth potential during drinking water treatment processes[J]. Wat Res, 2002, **36**(15):3681-3690.

[20] Sang J Q, Zhang X H, Li L Z, *et al.* Improvement of organics removal by bio-ceramic filtration of raw water with addition of phosphorus[J]. Wat Res, 2003, **37**(19): 4711-4718.