

化学杀菌剂对太原集中供热水体中有害菌群杀灭作用研究

王兴华, 张 峰

(山西大学生命科学系, 太原 030006)

摘要:研究了戊二醛、十二烷基二甲基苄基氯化铵对太原热网循环水中脱硫弧菌、鞘铁细菌、棒状杆菌、微球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌和不动细菌等 7 类细菌的杀菌效果, 结果表明: (1) 不同浓度的戊二醛与十二烷基二甲基苄基氯化铵对 7 类细菌的杀菌效果差异极显著, 而且随着杀菌剂浓度的增加这些细菌的死亡率呈线性上升; (2) 戊二醛的杀菌浓度在 100mg/L 较为适宜, 而十二烷基二甲基苄基氯化铵对脱硫弧菌和鞘铁细菌的杀菌浓度以 100mg/L 为宜, 而对其余 5 类细菌的浓度以 120mg/L 较好; (3) 戊二醛的杀菌效果明显优于十二烷基二甲基苄基氯化铵。

关键词: 供热管线; 有害菌群; 杀菌

Study on the effects of two germicides on sterilizing for some bacteria in the cycling hot water heating of pipeline, Taiyuan

WANG Xing-Hua, ZHANG Feng (Department of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: *Siderocapsa* sp., *Desulfovibrio* sp., *Corynebacterium* sp., *Micrococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp. and *Acinetobacter* sp. separated from the cycling hot water heating of pipeline in Taiyuan were sterilized by using glutaraldehyde (GL) and dodecylbenzyl-di-methylammonium chloride (DBMAC) indoor, respectively. The results indicated that: (1) the effect of GL and DBMAC concentration at each level on sterilizing 7 bacterial has significant difference, and the mortality of 7 bacterial increase on linear while the germicides concentration increase. (2) GL concentration for sterilizing the bacterial at 100mg/L is better, whereas DBMAC concentration for sterilizing *Desulfovibrio* sp. and *Siderocapsa* sp. at 100mg/L is better and the DBMAC concentration for the others at 120mg/L is suitable. (3) the germicide effect for bacterial of GL is better than that of DBMAC.

Key words: hot water heating of pipeline; pernicious bacteria; sterilization

文章编号: 1000-0933(2001)05-0856-06 中图分类号: Q893 文献标识码: A

太原市集中供热工程是投资 6 亿余元, 供热面积已达 $1.2 \times 10^7 \text{m}^2$ 的大型城市供热系统, 自 1994 年投入运营以来, 对于减少大气污染, 改善城市环境质量, 提高煤炭的综合利用效益产生了积极作用。供热管网的水质分析结果表明, 水中富含微生物生长的营养物质^[1], 并有大量微生物的存在。特别是每年 4 月 1 日热网停止运行后, 水温下降, 条件更适合于微生物的生长繁殖, 形成了较为稳定的微生物生态菌群。这些有害微生物在生长、繁殖和代谢过程中, 产生若干有害物质, 对管网形成严重的垢下腐蚀和隐患^[2~4], 缩短管网的使用寿命, 从而给企业带来巨大的经济损失。

国内外对循环水系统中有害微生物进行了许多工作^[4,5], 但有关热网循环水系统中微生物研究报道还不多见。在调查了可能危害太原集中供热管网主要微生物种属、数量的基础上^[1], 研究了不同浓度的戊二醛、十二烷基二甲基苄基氯化铵对 7 株细菌的杀灭作用, 旨在找出不同的杀菌剂、不同的浓度对热网循环水中有有害菌群生态的杀灭力, 为太原集中供热系统的防护提供理论依据。

基金项目: 山西省科委攻关资助项目 (993100)

收稿日期: 2000-11-06 修訂日期: 2001-02-10

作者简介: 王兴华 (1958~), 男, 天津市人, 讲师。主要从事环境微生物的教学和科研工作。

1 材料与方法

1.1 杀菌剂

戊二醛有效成分含量为 49.0%,进口分装。实验用药的浓度分别为:20,40,60,80,100 和 120mg/L。

十二烷基二甲基苄基氯化铵有效成分含量为 50%,山西神龙化工有限公司生产。实验用药的浓度分别为:20,40,60,80,100 和 120mg/L。

1.2 指示菌株

从太原集中供热管网循环水中分离的菌株,包括鞘铁细菌(*Siderocapsa* sp.)、脱硫弧菌(*Desulfovibrio* sp.)、棒状杆菌(*Corynebacterium* sp.)、微球菌(*Micrococcus* sp.)、葡萄球菌(*Staphylococcus* sp.)、芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)和不动细菌(*Acinetobacter* sp.)等 7 株^[1]。

1.3 微生物计数培养基

鞘铁细菌、脱硫弧菌、棒状杆菌、微球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌和不动细菌的计数培养方法见文献^[4~8]。

1.4 实验方法

本实验采用完全随机化设计^[9]。将不同浓度药物与菌液混合作用 1h,药物浓度以有效成分计算,按文献^[7~9]的方法分别测定鞘铁细菌、脱硫弧菌、棒状杆菌、微球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌和不动细菌的起始菌数和残活菌数,每一试验重复 3 次。

杀菌率按下式计算:

$$\text{杀菌率}(\%) = [(\text{起始菌数} - \text{残活菌数}) / \text{起始菌数}] \times 100\% \quad (1)$$

1.5 数据分析

应用 SPSS 软件^[10]分别进行戊二醛、十二烷基二甲基苄基氯化铵对不同细菌杀灭效果的方差分析和 Duncan 的多重比较,以便确定不同浓度的戊二醛、十二烷基二甲基苄基氯化铵杀菌效果的显著性。应用 *t*-检验比较戊二醛和十二烷基二甲基苄基氯化铵相同浓度杀菌结果的差异,应用回归分析研究不同浓度的戊二醛、十二烷基二甲基苄基氯化铵与细菌死亡率之间的关系。

2 结果与分析

2.1 戊二醛杀菌效果分析

6 种浓度戊二醛杀菌效果(细菌死亡率)见表 1。

表 1 的方差分析结果见表 2。由方差分析结果可以看出,不同浓度的戊二醛对鞘铁细菌、脱硫弧菌、棒状杆菌、微球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌和不动细菌等 7 株细菌的杀灭效果差异极显著($p < 0.001$)。进一步的 Duncan 多重比较结果表明,除了 100mg/L 和 120mg/L 之间杀菌效果差异不显著外,其余浓度的戊二醛对上述每株细菌的杀灭效果差异极显著。这说明鞘铁细菌、脱硫弧菌、棒状杆菌、微球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌和不动细菌等 7 株细菌对戊二醛较为敏感,同时说明戊二醛具有较好的杀菌作用。

不同浓度戊二醛(*X*)与 7 株细菌死亡率(*Y*)的回归分析结果见表 3。不同浓度戊二醛(*X*)与鞘铁细菌、脱硫弧菌、棒状杆菌、微球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌和不动细菌等 7 株细菌死亡率(*Y*)的回归方程皆为线性且极显著($p < 0.001$),这表明随着戊二醛浓度的增加,各株细菌的死亡率呈直线上升。但是,进一步分析表 3 中的 7 个回归方程,可以看出:(1)芽孢杆菌和不动细菌的回归方程的截距分别为 16.129 和 23.898,与其余 5 株细菌的初始死亡率差异极显著($p < 0.001$),这说明它们对戊二醛比其它细菌更敏感;(2)其余 5 株细菌的回归方程斜率(皆大于 0.88)明显大于芽孢杆菌和不动细菌回归方程的斜率(分别为 0.775 和 0.720),这说明随着戊二醛浓度增加,它们的死亡率上升速度要大于脱硫弧菌和鞘铁细菌。

综合方差分析、Duncan 多重比较和回归分析的结果,考虑到杀菌效果和用药量的关系,戊二醛的杀菌浓度在 100mg/L 较为适宜。

2.2 十二烷基二甲基苄基氯化铵杀菌效果分析

6 种浓度的十二烷基二甲基苄基氯化铵杀菌效果(细菌死亡率)见表 4。

表 1 不同浓度戊二醛的杀菌效果(死亡率%)

Table 1 The mortality of 7 bacterial by using glutaraldehyde concentration at 20,40,60,80,100 and 120mg/L, respectively(death rate %)

菌株 Strains	重复 Repetition	浓度 Concentration(mg/L)					
		20	40	60	80	100	120
鞘铁细菌 <i>Siderocapsa</i> sp.	1	18.0	34.5	53.1	73.2	96.4	99.9
	2	17.8	34.6	52.5	74.1	96.1	99.8
	3	18.2	33.8	53.5	74.2	96.5	100
脱硫弧菌 <i>Desulfovibrio</i> sp.	1	17.6	33.5	52.1	71.8	95.7	99.9
	2	17.2	33.1	52.5	72.3	96.1	99.8
	3	17.1	33.8	52.8	72.1	95.8	99.9
棒状杆菌 <i>Corynebacterium</i> sp.	1	17.5	34.1	53.3	74.5	96.3	100
	2	17.3	34.6	54.1	74.3	96.5	99.9
	3	18.1	34.2	54.2	74.7	96.1	99.9
微球菌 <i>Micrococcus</i> sp.	1	16.5	32.5	51.2	71.5	94.6	99.8
	2	15.9	33.1	51.4	72.0	94.2	99.7
	3	16.3	32.3	50.9	71.2	93.8	99.7
葡萄球菌 <i>Staphylococcus</i> sp.	1	15.7	32.6	51.1	71.5	94.3	99.8
	2	15.1	31.9	51.2	71.8	94.6	99.7
	3	15.3	32.3	52.1	72.1	93.9	99.6
不动细菌 <i>Acinetobacter</i> sp.	1	27.6	45.8	66.3	87.6	97.8	100
	2	27.3	44.2	65.6	87.2	97.1	99.9
	3	26.8	44.5	65.2	86.8	97.2	99.8
芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp.	1	30.8	52.1	76.3	92.5	98.3	100
	2	29.7	51.2	74.9	91.9	97.9	99.9
	3	29.4	51.1	75.3	91.6	97.5	99.9

表 2 不同浓度戊二醛杀菌结果的方差分析($n=3$)

Table 2 Analysis of variance for the mortality of 7 bacterial by using glutaraldehyde concentration at 20,40,60,80,100 and 120mg/L, respectively ($n=3$).

菌株 Strains	浓度的平方和 Sum of squares between groups	df	误差平方和 Error	df	F
鞘铁细菌 <i>Siderocapsa</i> sp.	16610.94	5	1.68	12	23729.91***
脱硫弧菌 <i>Desulfovibrio</i> sp.	16755.43	5	0.85	12	47124.65***
棒状杆菌 <i>Corynebacterium</i> sp.	16710.28	5	1.14	12	35179.46***
微球菌 <i>Micrococcus</i> sp.	16866.40	5	1.33	12	30359.53***
葡萄球菌 <i>Staphylococcus</i> sp.	17159.03	5	1.49	12	27700.58***
芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp.	13256.38	5	3.02	12	10534.87***
不动细菌 <i>Acinetobacter</i> sp.	12046.22	5	3.48	12	8307.74***

*** $p<0.001$

表 4 的方差分析结果见表 5。由方差分析结果可以看出,不同浓度的十二烷基二甲基苄基氯化铵对鞘铁细菌、脱硫弧菌、棒状杆菌、微球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌和不动细菌等 7 株细菌的杀灭效果差异极显著($p<0.001$)。进一步的 Duncan 多重比较结果表明,除了十二烷基二甲基苄基氯化铵 100mg/L 和 120mg/L 对芽孢杆菌和不动细菌的杀菌效果差异不显著外,其余浓度对上述每类细菌的杀灭效果差异极显著。这说明十二烷基二甲基苄基氯化铵对脱硫弧菌、鞘铁细菌、棒状杆菌、微球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌和不动细菌等 7 株细菌有着良好的杀菌效果。

表 3 不同浓度戊二醛(X)与 7 类细菌死亡率(Y)的回归分析

Table 3 Analysis of regression among the mortality of 7 bacterial (X) and glutaraldehyde concentration at 20,40,60,80,100 and 120 mg/L

菌株 Strains	回归方程 Regression equations	df	相关系数 Correlation coefficients
鞘铁细菌 <i>Siderocapsa</i> sp.	$Y = 0.92 + 0.881 X$	16	0.954***
脱硫弧菌 <i>Desulfovibrio</i> sp.	$Y = -0.124 + 0.885 X$	16	0.991***
棒状杆菌 <i>Corynebacterium</i> sp.	$Y = 0.942 + 0.883 X$	16	0.990***
微球菌 <i>Micrococcus</i> sp.	$Y = -1.349 + 0.890 X$	16	0.993***
葡萄球菌 <i>Staphylococcus</i> sp.	$Y = -1.989 + 0.897 X$	16	0.992***
芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp.	$Y = 16.129 + 0.775 X$	16	0.975***
不动细菌 <i>Acinetobacter</i> sp.	$Y = 23.898 + 0.720 X$	16	0.985***

*** $p<0.001$

表 4 不同浓度的十二烷基二甲基苄基氯化铵杀菌结果(死亡率%)

Table 4 The mortality of 7 bacterial by using dodecylbenzyl-di-methyammonium chloride concentration at 20,40,60,80,100 and 120mg/L, respectively(death rate %)

菌株 Strains	重复 Repetition	浓度 Concentration(mg/L)					
		20	40	60	80	100	120
鞘铁细菌 <i>Siderocapsa</i> sp.	1	13.2	27.1	44.6	65.5	85.6	98.3
	2	13.8	26.8	45.1	64.3	85.2	98.8
	3	13.1	27.6	46.1	64.9	84.9	98.7
脱硫弧菌 <i>Desulfovibrio</i> sp.	1	14.8	27.9	46.1	67.1	88.3	99.1
	2	14.6	28.2	46.9	67.5	88.1	98.9
	3	15.1	28.3	46.8	67.2	87.3	99.3
棒状杆菌 <i>Corynebacterium</i> sp.	1	14.2	26.9	25.8	65.1	86.2	98.4
	2	13.6	27.1	45.1	65.2	85.6	98.8
	3	13.7	26.8	44.3	65.9	85.8	98.6
微球菌 <i>Micrococcus</i> sp.	1	15.1	28.2	47.1	67.6	89.1	99.7
	2	15.9	28.5	46.5	68.7	89.6	99.2
	3	16.2	27.5	46.3	68.2	88.5	99.6
葡萄球菌 <i>Staphylococcus</i> sp.	1	16.6	29.4	47.6	67.9	89.1	99.8
	2	16.8	28.7	47.5	68.2	89.6	99.6
	3	15.8	28.5	46.8	69.1	88.6	99.8
芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp.	1	23.2	42.1	58.6	80.5	95.5	99.9
	2	22.8	41.5	56.5	79.6	94.7	99.8
	3	22.1	41.2	56.1	78.3	95.1	99.1
不动细菌 <i>Acinetobacter</i> sp.	1	28.2	49.1	67.5	88.3	98.0	99.9
	2	26.2	47.9	66.1	88.2	97.1	99.6
	3	27.5	48.1	66.5	86.1	97.8	99.5

不同浓度戊二醛(X)与 7 类细菌死亡率(Y)的回归分析结果见表 6。不同浓度十二烷基二甲基苄基氯化铵(X)与鞘铁细菌、脱硫弧菌、棒状杆菌、微球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌和不动细菌等 7 株细菌死亡率(Y)的回归方程皆为线性且极显著($p<0.001$),这表明随着十二烷基二甲基苄基氯化铵浓度的增加,各株细菌的死亡率呈直线上升,而且这些回归方程的斜率较为接近,这说明随着十二烷基二甲基苄基氯化铵浓度增加,鞘铁细菌、脱硫弧菌、棒状杆菌、微球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌和不动细菌等 7 株细菌死亡率上升速度大致相似。但由于芽孢杆菌和不动细菌的初始死亡率(回归方程的截距)与其余 5 株细菌的初始死亡率差异极显著($p<0.01$),这表明芽孢杆菌和不动细菌对十二烷基二甲基苄基氯化铵要比其余 5 株细菌敏感,也

说明十二烷基二甲基苄基氯化铵对芽孢杆菌和不动细菌具有较为理想的杀灭效果。

表 5 不同浓度十二烷基二甲基苄基氯化铵杀菌结果的方差分析($n=3$)

Table 5 Analysis of variance for the mortality of 7 bacterial by using dodecylbenzyl-di-methylammonium chloride concentration at 20,40,60,80,100 and 120mg/L, respectively ($n=3$)						
菌株 Strains	浓度的平方和 Sum of squares between groups	df	误差平方和 Error	df	F	
鞘铁细菌 <i>Siderocapsa</i> sp.	16537.10	5	2.89	12	13749.09***	
脱硫弧菌 <i>Desulfovibrio</i> sp.	16654.61	5	1.32	12	3028.11***	
棒状杆菌 <i>Corynebacterium</i> sp.	16612.68	5	2.03	12	19672.91***	
微球菌 <i>Micrococcus</i> sp.	16806.93	5	2.87	12	14038.27***	
葡萄球菌 <i>Staphylococcus</i> sp.	17440.91	5	632.69	12	66.26***	
芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp.	14121.42	5	7.79	12	4348.77***	
不动细菌 <i>Acinetobacter</i> sp.	12734.01	5	7.55	12	4049.69***	

*** $p<0.001$

表 6 不同浓度十二烷基二甲基苄基氯化铵(X)与细菌死亡率(Y)的回归分析

Table 6 Analysis of regression among the mortality of 7 bacterial (X) and dodecylbenzyl-di-methylammonium chloride concentration at 20,40,60,80,100 and 120mg/L			
菌株 Strains	回归方程 Regression equations	df	相关系数 Correlation coefficients
鞘铁细菌 <i>Siderocapsa</i> sp.	$Y = -6.244 + 0.886 X$	16	0.998***
脱硫弧菌 <i>Desulfovibrio</i> sp.	$Y = -4.824 + 0.888 X$	16	0.997***
棒状杆菌 <i>Corynebacterium</i> sp.	$Y = -6.147 + 0.881 X$	16	0.997***
微球菌 <i>Micrococcus</i> sp.	$Y = -4.476 + 0.891 X$	16	0.995***
葡萄球菌 <i>Staphylococcus</i> sp.	$Y = -6.213 + 0.898 X$	16	0.968***
芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp.	$Y = 9.182 + 0.811 X$	16	0.988***
不动细菌 <i>Acinetobacter</i> sp.	$Y = 18.153 + 0.758 X$	16	0.973***

*** $p<0.001$, 相关极显著。

综合方差分析、Duncan 多重比较和回归分析的结果,考虑到杀菌效果和用药量的关系,十二烷基二甲基苄基氯化铵对芽孢杆菌和不动细菌的杀菌浓度在 100mg/L 为宜,而对其余 5 株细菌的浓度在 120mg/L 似更好。

2.3 戊二醛与十二烷基二甲基苄基氯化铵杀菌效果的比较

戊二醛与十二烷基二甲基苄基氯化铵相同浓度对同一细菌杀菌结果的成组数据 t -检验^[8]($df=4$)表明,两者的杀菌效果差异极显著($p<0.01$)。由于戊二醛杀菌的死亡率平均数大于十二烷基二甲基苄基氯化铵杀菌的死亡率平均数,因此戊二醛的杀菌效果要优于十二烷基二甲基苄基氯化铵的杀菌效果。

3 讨论

通过对太原集中供热水体微生物菌群研究结果表明,水体中生长着节细菌属(*Arthrobacter*)、奈瑟氏球菌属(*Neissoria*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、不动细菌属(*Acinetobacter*)、库特氏菌属(*Kurthia*)、微球菌属(*Micrococcus*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、镰孢属(*Fusarium*)、毛霉属(*Mucor*)、青霉属(*Penicillium*)、曲霉属(*Aspergillus*)、粘帚菌属(*Gliocladium*)、链格孢属(*Alternaria*)、脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)和鞘铁细菌属(*Siderocapsa*)等^[1]微生物。当热网停止供热后,节细菌、奈瑟氏球菌、芽孢杆菌、黄杆菌、不动细菌、库特氏菌、微球菌、葡萄球菌、棒状杆菌、脱硫弧菌和鞘铁细菌等属的微生物大量繁殖,造成菌数超标,将对管网造成腐蚀。所以,在测定杀菌剂杀菌效果时,应选择循环水体中数量超标的菌群作为指示菌株,这样的试验结果和结论才有实际应用价值。

选择杀灭供热管网循环水中的微生物杀菌剂,应考虑其应具备高效广谱、低毒、经济并适合于水体的

pH、温度等因子。实验结果表明,戊二醛和十二烷基二甲基苄基氯化铵具有高效广谱的杀菌特性。戊二醛水溶液最终会被生物降解,不会给水体造成新的污染。此外,戊二醛的毒性很低,大鼠的半致死剂量 LD_{50} 为 820mg/kg , 2% 的戊二醛水溶液接近无毒化学品水平,所以在 100mg/L 的使用浓度下,几乎不会产生毒性^[10]。十二烷基二甲基苄基氯化铵对人体无毒,小鼠半致死剂量 LD_{50} 为 910mg/kg , 杀菌效果不受 pH 变化的影响,对粘泥层有较强的剥离作用^[11]。

在太原市集中供热管网供热期间水温较高,菌数普遍低于管道腐蚀的菌数指标,此时不必添加杀菌剂。但供热管网停止供热后,管网水体中形成了较为稳定的微生物群落,为了防止微生物对供热管网的腐蚀作用,此时应向供热管网添加杀菌剂,以便杀灭这些有害微生物菌群。杀菌剂一般采用冲击式加药法^[10]。

水体中的微生物在生长繁殖过程中,会以一定的突变率产生抗药性突变。如果长时间使用同一种杀菌剂,杀菌效果将会逐渐下降,愈来愈差,必将导致微生物数量超标^[4]。所以应考虑一次投入最适宜的杀菌剂,使水体中的药物浓度保持在一定水平上,提高杀菌率;或者将两种杀菌剂交替使用,以最大限度地提高杀菌剂的利用效率,避免细菌的抗药性,这是因为同一细菌产生抗两种药物的突变概率是极小的。

除了上述措施外,还可以考虑将两种或多种杀菌剂复配使用,利用它们的交互作用提高杀菌效果。当然,复配药剂中各组分的比例、最佳杀菌浓度以及杀菌时间会随着使用环境的不同有所变化,这将有待今后进一步深入探讨。

参考文献

- [1] 王兴华,等. 太原市集中供热管网循环水中有害微生物的研究. 微生物学通报,2001,28(2).
- [2] 刘宏芳,许立铭. SRB 生物膜与碳钢腐蚀的关系. 中国腐蚀与防护学报,2000,20(1):40~46.
- [3] 刘宏芳,董泽华,范汉香,等. 杀灭表面粘附菌膜中硫酸盐还原菌的研究. 油田化学,1997,14(2):152~155.
- [4] 吕人豪,刘琦,张英华,等. 炼油厂循环冷却水系统中有害微生物的研究. 微生物学报,1989,25(3):204~215.
- [5] Lee W, Characklis W G. Corrosion of mild steel under anaerobic biofilm. *Corrosion*, 1993, 49(3): 187~199.
- [6] 中华人民共和国国家标准. 工业循环冷却水中土壤菌群的测定,GB/T 14643. 2-93.
- [7] 中华人民共和国国家标准. 工业循环冷却水中铁细菌的测定,GB/T 14643. 6-93.
- [8] 中华人民共和国国家标准. 工业循环冷却水中硫酸盐还原菌的测定,GB/T 14643. 5-93.
- [9] 杜荣骞. 生物统计学. 北京:高等教育出版社,1990:123~129,386~388.
- [10] SPSS for Windows 9.0. SPSS Inc. 1998.
- [11] 何铁林. 水处理化学品手册. 北京:化学工业出版社,2000. 233~283.