

# 次氯酸鈉應用於管線生物膜消毒之研究

蔡勇斌<sup>1</sup>、萬騰州<sup>2</sup>、邢治宇<sup>3</sup>

## 摘 要

本研究以水處理最常使用的消毒劑次氯酸鈉為對象，分別應用在載運自來水與放流水(污水處理後)的PVC管內生物膜的消毒，在不同濃度(10、100、10000 mg/L)的次氯酸鈉，與不同的反應時間(0、20、40、60 min)消毒條件下，探討消毒前與消毒後生物膜內總菌落數與大腸桿菌群量之變化，並進一步探討不同消毒效果下，消毒與未經消毒的管線，在1、2、3、4hr時的微生物再釋放量。

研究結果顯示，以次氯酸鈉為消毒劑時，對於管線生物膜的消毒，最佳的條件為濃度100 mg/L以上，反應時間最少應有20至30分鐘。經此條件消毒管線生物膜後，雖無法完全去除管線生物膜，卻可達99.99999%以上的去除效率。此外，研究亦發現，總菌落數與大腸桿菌群再釋放量，與生物膜量有著顯著地正比關係，因此有效地消毒去除生物膜上的微生物，有助於減少微生物再釋出於飲用水中之風險。

## 一、前 言

自來水廠處理後供為飲用之自來水，經消毒劑消毒後本應無菌，輸送至用戶後，卻常發現含過量之生物性污染。究其原因，除了在配水系統中微生物的再生長(regrowth)外，用戶端的蓄水設備(如水塔、水壺等)與淨水設備(如飲水機、開飲機等)清洗與消毒，亦為生物性再污染的來源。對於家庭單點使用(point-of-use)的淨水設備或輸水管線，使用一段時間後，常會形成生物膜，為生物在其中群居，水流經後並隨時再釋出微生物，形成飲用水生物性污染的問題。此問題，在整個飲用水系統中，只要與水流接觸之固體表面，均可能發生。小至系統內的小管與零件表面，大至家中水塔，甚至自來水廠的配水池與配水管線，都存在類似問題。

一般以自來水為飲用水源者，因自由餘氯的存在，不易產生生物性污染。然而最近在歐、美等先進國家，發生多起梨形鞭毛蟲(*Giardia*)及隱孢子蟲(*Cryptosporidium*)兩種致病性原生動物所引發之感染事件，其中最著名者為1993年4月發生在美國威斯康新州米爾瓦基市(Milwaukee, WI)自來水系統之傳染事件，總計有超過40萬以上之民眾受到感染。且根據這些感染事件之調查顯示，有餘氯及無大腸菌存在，並無法保證沒有這些致病性原生動物之存在。此問題引起各國重視，最受爭議的是，自由餘氯的存在，為何仍發生生物性污染事件。關於此點，各學界論點不一，其中一個結論是，因為在配水系統管線中形成生物膜(biofilms)所致。

---

<sup>1</sup> 國立暨南國際大學土木工程系副教授

<sup>2</sup> 國立雲林科技大學環安系副教授

<sup>3</sup> 國立雲林科技大學博士班研究生

目前國人使用飲水機的情況，已是相當普遍。而行政院環保署為了確保公眾飲水健康，於87年7月29日修正發布「飲用水設備維護管理辦法」，規定公私場所飲水機管理單位，應定期維護保養，並須符合飲用水標準(總菌落數應小於100 CFU/mL；大腸桿菌群應小於6 CFU/100mL)，倘經環保單位抽驗不合格，每台將遭罰鍰6萬至60萬元。面對此規定，飲水機的消毒工作顯得特別重要。

由於本研究在飲水機的採樣分析時發現，自由餘氯高達0.8-1.0 mg/L時，仍測得過量的總菌落數，究其原因發現，係因飲水機內部管線與容器壁形成生物膜所致。為能有效去除生物膜，減少微生物於生物膜內再釋出，本研究以PVC管線為研究對象，對管線內壁所形成之生物膜，以不同濃度與種類的消毒劑，以及不同的接觸時間進行消毒，並於消毒後四小時內每小時採樣分析，探討管線生物膜適當的消毒方法。

## 二、生物膜文獻回顧

飲用水有效生物性淨化，對水生疾病及其擴延，是非常重要的。不幸地，由於表面水或地下水源遭受污染，不當處理技術，以及儲存或配水系統的失效，使得這不是一件簡單的工作。1986到1988年間，在美國有24個州及波多黎各島爆發50起因引用的水所引起的疾病，傷及25,846人<sup>(1)</sup>。在1989與1990年間，也有16個州爆發26起生物性疾病，引起4288人生病<sup>(2)</sup>。此外，在1991到1992二年間，也有17個州爆發34起事件，估計有17,464人生病<sup>(3)</sup>。

最近，在歐、美等先進國家發生多起梨形鞭毛蟲(*Giardia*)及隱孢子蟲(*Cryptosporidium*)兩種致病性原生動物所引發之感染事件，其中最著名者為1993年4月發生在美國威斯康新州米爾瓦基市(Milwaukee, WI)自來水系統之傳染事件，總計有超過40萬以上之民眾受到感染。且根據這些感染事件之調查顯示，有餘氯及無大腸菌存在，並無法保證沒有這些致病性原生動物之存在。主要原因在於梨形鞭毛蟲及隱孢子蟲在環境中主要以囊孢子(cysts)與隱囊接合孢子(oocysts)之型式流傳。孢子係將微生物包藏於極堅固之保護殼內，可在極惡劣之環境下存活，故抗氯性很強<sup>(4,5)</sup>。

飲用水設備內部構造，形同小型淨水廠與配水系統，雖然其淨水程序不若一般淨水場般多樣與複雜，但仍略具其一二。在飲水機設備內部，飲用水水流流動與儲存，與配水系統則相當類似與雷同。在一般研究上，甚少針對飲水機設備進行微生物變化之探討，多以配水系統為對象。因二者具有相似性，本文接著僅就一般研究配水系統的問題與結果加以說明，間接可以模擬飲水機內部微生物問題，並提供一些解決方法與概念。

飲用水配水系統通常會有腐生異營性微生物繁殖，如細菌、真菌、酵母菌等<sup>(6)</sup>，靠著水中微生物可分解的有機物(biodegradable organic matter; BOM)維生<sup>(7)</sup>。潛在的致病性微生物(如*Legionella* spp.)以及排泄源微生物(如*Escherichia coli*)，也適合在此系統中增殖<sup>(8)</sup>。在飲用水中含菌量高時，往往使水生疾病、臭味問題機會增加，也會引起腐蝕，及需要較高消毒劑殘量<sup>(9)</sup>。

在微生物的自然環境裏，即使它們彼此間會不斷地競爭或攻擊，它們也可以存活並轉移。在這樣的環境，微生物細胞必須去適應這條件，要不然就會死亡。大多的細胞是靠附著在表面，並躲藏在多醣類(polysaccharides)層下存活，時間久了就變成是各種類微生物聚集的生物膜了。在生物膜內，微生物發展它們自己的

微環境(microenvironment)，在這微環境中即使條件不是很理想，它們也可以同種類者存活下來。

不同的菌種，其對環境的適應力亦不同，當然也與外在環境條件有關。例如 *E. coli* 對處理程序有高度忍耐力，此種忍耐力與飲用水配水系統中的一些物理與化學因素有關，也造成面對消毒時無法達到致死的效果，致危害性仍然存在。這些物化因素包括了氯或能破壞生物的物質、低濃度的銅鋅金屬、異常的溫度與 pH，以及與其它菌間之交互作用。有些研究者發現，大腸桿菌能夠在標準的餘氯下存活，並隨後釋出到配水系統中。

## 2.1 生物膜

在營養鹽充沛的生態系統前提下，在各種表面都可以形成生物膜。微生物依其生長階段，可分為二類，一為浮游的(planktonic)或無柄的(sessile)<sup>(10)</sup>。在浮游階段，微生物是以個體單獨自由漂浮，而在無柄階段，則是附著在固體表面形成生物膜，結合成類似社區般地生存<sup>(11)</sup>。附著是微生物在自然或人為生態系統中，存活的優勢狀態<sup>(12)</sup>，而附著的細胞也是浮游菌的儲存來源。微生物喜歡像無柄般地存活，因為可藉由外細胞聚合物(EPS)矩陣結構，來抵抗外敵(anti-microbial agents)<sup>(11)</sup>。

生物膜可以定義為矩陣式封閉細菌族群(matrix-enclosed bacterial populations)附著在表面或彼此互相黏著，是一種有機矩陣(organic matrix)保護這些無柄的微生物(sessile organisms)。這個定義包含了微生物的碰撞凝聚(aggregate)、集結(flocculates)以及族群附著在膜上(population adherent to membrane)。

活細胞的分佈、細胞的凝聚、外細胞聚合物，以及毛細渠道都經常在變化。生物膜的構造對單一菌種而言，取決於菌種種類，但對多類菌種混合的生物膜構造，則取決於基質<sup>(12)</sup>。對異質性生物膜(heterogenic biofilms)而言，此構造是不規則形的，此乃導因於不同的生長與附著型態。此種結構證明在生物膜內微生物的共同合作行為(collaboration)<sup>(12)</sup>。

在適當條件下，各種類的微生物都可以共同形成生物膜，包括略奪性(spoilage)與致病性(pathogenic)微生物<sup>(13)</sup>，最常見者有 *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus* and *Bacillus*<sup>(11)</sup>。在過去認為生物膜是一種緊密結實的結構，最近研究發現生物膜是一種多孔結構，孔隙間為毛細管渠道(capillary water channels)，水與營養鹽分佈其內<sup>(12)</sup>。

營養鹽傳輸到生物膜底部，是透過毛細管，而細胞代謝產(廢)物，也是經由此一途徑傳輸到生物膜表面來，此種傳輸能力，是要靠擴散或藉著水份達成，因而有助於分子傳輸到生物膜內層<sup>(12)</sup>。一般相信，毛細渠道與氧傳輸到生物膜內層也有密切關係，可惜由於擴散能力有限，以及傳輸途中的消耗，使得在生物膜內層僅有低濃度的氧量<sup>(11,12)</sup>。此點亦解釋了為甚麼好氧性與厭氧性微生物可同時存在於生物膜內。

生物膜是由含水量高，網狀結構的 EPS 所組成，EPS 具有下列功能：(1). 做為細胞與細胞間的橋樑，並可使個別細胞黏著在表面<sup>(14)</sup>；(2). 在細菌附著之初，可強化附著力；(3). 形成與維持菌落及生物膜；(4). 增進生物膜內的細菌，對環境壓力與滅菌劑的抵抗力；(5). 提供營養鹽的儲存場所<sup>(15)</sup>，使得膜內細菌在缺乏碳源時期，仍可取得營養鹽<sup>(12)</sup>；(6). 改變表面帶電與自由能量<sup>(11)</sup>。

生物膜的厚度，與水流量有關<sup>(12)</sup>，最大厚度發生在層流(laminar flow)與擾流

(turbulent flow)間。在層流時的厚度與基質可接近程度有關，而在擾流時，則與腐蝕現象有關<sup>(12)</sup>。細胞密度範圍從在都市配水管中的 $1 \times 10^1$  到  $2.2 \times 10^6$  CFU/cm<sup>2</sup>，到污水管的數公分厚<sup>(13)</sup>。流速與剪力在生物膜上，是二個近似相關的參數。如果流速增加會提高生物膜的蓄積量時，整個程序近似受擴散(質量傳輸)所控制；相反地，當流量改變且不影響生物膜的蓄積量時，生物膜的生長，受到整體生化反應速率(overall bioreaction rate)的影響。但值的注意的是，流速增加會有顯著地增加生物膜脫落，而影響水質<sup>(16)</sup>。

生物膜與生物惡化(biofouling)是對於在接觸表面生物性附着與生長的二個名詞。生物惡化是用在當形成的膜，會破壞系統時；而生物膜則包含微生物本體及其細胞外聚合體(extracellular polymeric substances ; EPS)。

生物膜的形成與附着，是一個與時間有關的程序，可概分二個階段，可逆(reversible)與不可逆(irreversible)<sup>(17)</sup>。在可逆階段，微生物只是很接近固體表面，但還沒實際與表面接觸，在此階段主要包括了長距離的交互影響(靜電與凡得瓦引力的交互作用)；在不可逆的階段中，微生物已附着在固體表面上了，其作用力主要改變為短距離與範圍的偶極間作用力、離子與偶極作用力、離子與離子間的作用力、共價鍵力以及水合作用力。

微生物首先是可逆地與有機物黏合在一起，然後再不可逆地以他們的鞭毛(flagella)或纖毛(fimbriae)附着在固體表面。當周邊的營養鹽量受限制時，微生物就會黏在底層，如果微生物在生物膜內得不到食物時，生物膜就會剝落。饑饉造成生胞變小，必須再獲得營養鹽，才會恢復大小。

除了營養鹽外，其它會影響無柄細胞數量的因素有：pH、溫度、cell hydrophobicity、細胞表面的改變、移動性、細胞結構包括 EPS 以及鞭毛、離子濃度、生長相，以及營養鹽成份<sup>(11)</sup>。

在管內壁形成生物膜，會造成流經管路的流量降低，且繼續惡化的結果，會使得熱交換效率降低，產品會受污染，因生物膜形成的酸性產物，致使管壁受腐蝕。在食品工業上，生物膜會導致設備受生物性污染<sup>(18)</sup>，例如，在家禽中已發現受 *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria* 的污染<sup>(11)</sup>。

生物膜除了保護細菌免遭破壞外，也是微生物生長需求的營養鹽、離子或其它有機物質的捕捉器。過去的研究顯示，飲用水系統中生物膜的生成與細菌的再生長，主要是因為水中含有營養鹽。細菌藏匿在外細胞聚合物(EPS)中，可免被消毒劑殺滅。生物膜生成後，由於剝落而使得水中受到細菌的連續污染。生物膜形成的問題，在食品工業的許多領域造成問題，它會造成能量損失、降低流量與熱傳導效率，或產生黑色孔膜(block membrane pores)。不管有害或無害的微生物都會形成生物膜，流量的變動或管路的清洗，會使得生物膜剝落，並擴散至程序中。

研究顯示，微生物在生物膜內生存比浮游在水中，對抗生素或消毒劑有較高之抵抗力。此種抵抗力與新陳代謝活力有關，且隨生物膜年齡增加而增加<sup>(11,12,18)</sup>。此抵抗力亦與生物膜 3-D 結構有著密切關係，當生物膜結構遭破壞，此抵抗力也隨即失去<sup>(19)</sup>。生物膜內微生物，除了可增加對抗生素的抵抗力外，也可增加對異常的熱、光線與乾燥環境之抵抗力<sup>(12)</sup>。

這些微生物量(在流動的水中，通常約  $10^5$  cells/mL，而在生物膜中則約為  $10^6$  cells/cm<sup>2</sup>)，則形成包括主要的原生動物與微生物的複雜食物鏈<sup>(5)</sup>。因此，有些產生的細菌是透過食物鏈被原生動物補食消失的，這使得原生動物不僅是致病的來

源，也是有助於控制配水系統中細菌的生長與蓄積<sup>(20)</sup>。

## 2.2 消毒與生物膜的控制

一般認為各種消毒劑或紫外線殺菌燈，對水中各種懸浮性微生物，均具有相當程度以上的殺菌能力，然對於生物膜的形成，即使水中維持餘氯，也無法完全抑制，且一旦形成生物膜，微生物的再生長與釋出，已使得各種不同的異營菌，包含有致病潛能者，在有消毒與未消毒水的配水系統中的生物膜被分離出來。此外在加氯的飲用水中出現大腸桿菌的例子愈來愈多了，這也跟各國爆發多起水生疾病有關。Ridgway and Olson<sup>(21)</sup>研究顯示，在加氯消毒過的水中測得菌的數量，與生物膜數量有著高度顯著關係。一般認為懸浮性微生物是來自於生物膜脫落(detachment)所致，因此使懸浮性微生物減至最少的主要目標應是先將生物膜量減至最少。

「生物穩定的水」(biologically stable water)是指，不會促使微生物生長的水。傳統水處理習慣加消毒劑(氯或氯氣)，來達到生物穩定性，另一種方法是在配水前將水中微生物生長所需基質(通常是有機碳)減低。後者愈來愈受重視了，因為消毒劑會與有機物質反應形成對人體具潛在危害的副產物。

LeChevallier 等人<sup>(22)</sup>研究結果顯示，在鐵管中形成的生物膜，以 4 mg/L 濃度的自由氯(3 mg/L 為餘氯)處理二週，並不能顯著降低菌落數量；但是如果以 4 mg/L 的一氯胺處理二週，生物膜上的菌會有 3 log 的死亡。

要控制飲用水中菌的增長與累積，以及飲用水配水系統中生物膜的生成，有二個要素必須考慮，一為消毒效率，二為消毒劑殘餘量。過去研究顯示，一氯胺(monochloramine)在配水系統中可維持較久的殺菌力，且較有效地穿透生物膜達到殺菌效果，因此在控制生物膜上比自由餘氯有效。

LeChevallier 等人<sup>(23)</sup>研究顯示，配水系統中的大腸桿菌是來自於管線中的生物膜，從處理廠處理過的水流到配水系統後，大腸桿菌會增加。該研究結果更發現，維持 1-2 mg/L 的餘氯量，並不足以消除生物膜形成的現象。

最近由 Momba 等人<sup>(24)</sup>模型廠研究顯示，一氯胺比氯、臭氧、UV 殺菌燈，可更有效控制生物膜的再生長。此研究建議一氯胺對生物膜中大腸桿菌的減少或消除，扮演重要的角色。但是在有一氯胺的殘量下，不會有大腸桿菌群再生長與生物膜生成現象。顯見，在生物膜早期生成期間，一氯胺可有效避免 E. coli 的附著。有足夠的統計論證顯示，一氯胺不僅可有效地在生物膜生成期間避免 E. coli 的生長與附著，更可以有效地控制總菌的生長與附著。一氯氣是一種比自由氯為弱的氧化劑，與電子接受者的反應較慢，也因此耗盡前，比較能夠穿透生物膜深層<sup>(22)</sup>。因此，在生物反應擴散程序允許較長時間時，附著的細菌的控制，一氯氣比自由氯更有效。

形成生物膜的時間，可從數天到數週<sup>(11)</sup>。另外也有研究結果顯示，微生物細胞在金屬或非金屬表面附著，進而形成生物膜的過程，可在短至 20 分鐘內發生<sup>(25)</sup>。因此在一開始有效地清洗，以預防生物膜形成是相當重要的<sup>(11)</sup>。最有效的預防方法是，程序的條件控制在與微生物最適生長條件不同，但在實際上卻很難達到，因此必須選擇其它方法。有效的清洗方法，需要清潔劑，這將可有效抑制微生物的生長<sup>(18)</sup>。很多情況，選用二種或更多種的清洗方法是有必要的，因為微生物最後會適應而存活下來<sup>(18)</sup>。

對異常溫度、光線與乾燥的忍耐力，也增大生物膜內的微生物。對清洗或抗

生素的忍耐力，隨著生物膜齡、胞外聚合物矩陣條件、生物膜底層與生長條件而增大<sup>(26)</sup>。這也就是為甚麼要快速地消除生物膜。經常清洗可避免生物膜的生成。視溫度而定，每隔 8 小時清洗一次，可避免生物膜的生成<sup>(18,26)</sup>。這些都與「愈老的生物膜，愈難去除」的理論有關，因為生物膜齡少的，沒有足夠的時間與表面深層緊緊黏著。

用清洗步驟來分解生物膜與有機物質，可將生物膜去除。經此處理後，消毒劑流經系統，來去除生物膜<sup>(26)</sup>。如果清洗不夠，有機物仍將存在，導致消毒無效，因為消毒劑無法流經聚合層(polymer layer)。因此，在消毒前一定要先清洗，才有辦法去除微生物<sup>(18,26)</sup>。

生物膜在有經加氯消毒與未經加氯消毒處理時，1~3 天的微生物數量有差異。在經過加氯消毒處理後，生物膜內殘留的微生物量，在 1~3 天內增加量成定值。尤其雖然在未經加氯消毒處理時，生物膜內的微生物數量在第 2 與第 3 天，並未明顯增加，但經加氯消毒後的生物膜，其微生物的數量第 3 天顯著比第 2 天高。因此，生物膜抗氯消毒的能力，顯著地隨生物膜年齡而增加。對生物膜消毒效率不佳的原因可能為細胞新陳代謝生理的改變，亦可能因所產生的胞外聚合物，與自由餘氯反應，消耗了餘氯，或使餘氯在生物膜內不致擴散，減其殺菌能力。另一種可能的原因是，在生物膜內的微生物大多聚集在微菌落中，因此呈現對氯的相同抵抗力。

近來研究發現，生物膜的生長與管材的腐蝕，有密切關係。LeChevallier 等人<sup>(27)</sup>研究報告，低程度的腐蝕，會干擾自由氯的消毒作用，而高腐蝕速率，會影響一氯氣的消毒作用，此乃因腐蝕產物對氯的需求。因此，實際管材的腐蝕潛能，會影響生物膜的再生長，最終也會影響水質。

### 三、研究方法與設備

#### 3.1 管材

目前飲水機或淨水設備所用管材，多以銅管、不鏽鋼管與 PVC 管為主，而配水管網的管材多以鑄鐵管為主，到了家庭使用的管材則以 PVC 管為主。本研究優先以 PVC 管材為研究對象，探討此種管材之生物膜生成量與消毒效率。

#### 3.2 消毒劑

目前在飲用水處理上，做為消毒用之藥劑仍以次氯酸鈉為多，而次氯酸鈉亦是市面上容易取得購買的用品，用於飲水機的消毒應較為方便可行。因此，本研究優先使用次氯酸鈉來探討生物膜消毒效果。

#### 3.3 檢驗項目

目前我國飲用水水質標準中，屬於生物性標準項目計有大腸桿菌與總菌落數，本研究生物膜生成與消毒效率之探討，則以此二者為主。分析檢驗方法，則依環保署公告之檢驗方法分析。

#### 3.4 水源與生物膜馴養方式

本研究所用以馴養管中生物膜之水源有二，一為以 500 L 的桶子盛裝以硫代硫酸鈉去氯之自來水，再透過蠕動抽水機連接內徑 0.7 cm 之 PVC 管輸送水，使水流流經管子內壁，以形成生物膜；第二種水源為污水處理廠處理後之放流水，馴養生物膜方法相同。

### 3.5 實驗計畫

本研究係為瞭解輸送水管管線中，內壁上形成生物膜時，應如何消毒以去除生物膜，且評估未經消毒與經過不同濃度與接觸時間消毒後的管線，由生物膜再釋出懸浮性大腸桿菌與總菌落數之數量。為達此研究目的，擬定的實驗計畫如表 1。

### 3.6 實驗數據可靠性問題

由於生物膜上的微生物變化多端，尤其總菌落數的變化更是明顯，因此僅由一次實驗所得結果論斷，所承擔之風險頗高。本研究顧及此點，對於每一組條件的實驗，均以相同步驟重覆進行六次以上，取其平均做為分析探討之數據。期可透過統計觀點，減少實驗誤差，提高實驗結果之可靠性。

### 3.7 實驗品質與數據分析

本研究依環保署公告檢驗方法之要求，每一個水樣均取三種連續且適當之稀釋倍數，每一稀釋倍數則進行二次重覆分析。同時在每批次水樣中，均對無菌水與稀釋水進行空白試驗，所得結果如有異常總菌落數或大腸桿菌群出現，該次實驗數據則捨棄重作。

## 四、結果與討論

### 4.1 生物膜量與消毒效率之比較

圖 1 係使用去氣自來水為水源馴養 PVC 水管內壁生物膜，再以不同濃度 (10000、100、10 mg/L) 的次氯酸鈉，經過不同的接觸時間 (0、20、40、60 min)，所得之生物膜總菌落數量。由圖 1 中在消毒時間 0 分時，代表著原始未經消毒前的生物膜量濃度，顯見在沒有餘氯的保護下，PVC 水管內壁總菌落數的生物膜量，可高達  $10^5 \sim 10^6$  CFU/cm<sup>2</sup>。

經過消毒後，次氯酸鈉濃度 10 mg/L 時，只能使得總菌落數生物膜量降至  $10^3 \sim 10^4$  CFU/cm<sup>2</sup>，其生物膜內總菌落數存在量還頗多。反觀以 10000 與 100 mg/L 濃度的次氯酸鈉消毒後，生物膜內總菌落數量約可降至  $10^1$  CFU/cm<sup>2</sup>，明顯比濃度 10 mg/L 時，可達到較高的去除率。而濃度 10000 mg/L 與濃度 100 mg/L 的次氯酸鈉，對於生物膜總菌落數的去除率則相當，顯見以次氯酸鈉消毒自來水產生的生物膜時，濃度達 100 mg/L 以上，即可達 99.99999% 以上的去除率，濃度再提高時，並不能使去除率再提高。

圖 1 亦顯示，以次氯酸鈉消毒劑來消毒自來水產生的生物膜時，消毒劑與管壁接觸時間達到 20 分鐘時，即有明顯的去除效果，接觸時間再增加至 40 與 60 分鐘時，並無法明顯提升去除效率，顯然最佳消毒時間為 20~40 分鐘。

相同條件應用在由處理過的放流水產生的生物膜上時，則得如圖 2 之結果。此結果與自來水生物膜的結果有明顯差異。圖 2 顯示次氯酸鈉消毒劑濃度必須達到 10000 mg/L 時，始可達到如圖 1 中濃度 100 mg/L 之消毒效果。而次氯酸鈉濃度 100 mg/L 時，對於來自放流水的生物膜，只能使總菌落數生物膜量由  $10^6$  降至  $10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>，去除率僅 99.999%，無法如自來水生物膜般達到 99.99999%。綜此顯見，水管中形成的生物膜倘來自於污染物濃度較高的放流水，要去除生物膜所須次氯酸鈉消毒劑濃度要高達 10000 mg/L，始可達到較佳去除效果。

至於消毒時間的差異，雖與自來水生物膜相較沒有明顯差異，惟由圖 2 可知，消毒時間 40 分鐘所得去除效果，有較 20 分鐘時略佳。因此，面對來自放流

水所形成的生物膜時，儘可能將消毒時間延長至 40 分鐘以上。

圖 3 與圖 4 則分別為自來水與放流水大腸桿菌群生物膜的消毒情形，由圖 3 與圖 4 可知，大腸桿菌群在 PVC 管壁形成生物膜量的量較總菌落數顯著為小，可能原因如下：

1. 因為用以馴養生物膜的原水中，大腸桿菌群數即明顯比總菌落數為少，在生態競爭下，所能形成生物膜的機會減少。
2. 大腸桿菌群產生胞外聚合物形成生物膜的能力，比總菌落數為低。
3. 大腸桿菌群形成的生物膜結構較堅固，面對超音波振盪時的，較不易使大腸桿菌群釋出成浮游性大腸桿菌。

至於是何種原因導致大腸桿菌生物膜量，比總菌落數者明顯少，目前尚未發現相關文獻的報導。

對於大腸桿菌群生物膜的消毒而言，自來水生物膜顯然比放流水生物膜容易去除，在濃度 10 mg/L 次氯酸鈉消毒劑下，即可達到幾近完全去除生物膜上的大腸桿菌群。反觀放流水生物膜的消毒，則必須次氯酸鈉濃度達 10000 mg/L，始可明顯去除。至於消毒時間上，不管是自來水或放流水生物膜，20 分鐘似已足夠達到應有的去除效率。

#### 4.2 消毒劑濃度對總菌落數再釋菌量的影響

圖 5 與圖 6 分別為自來水生物膜與放流水生物膜，受到各種濃度次氯酸鈉消毒劑消毒後，經過浸泡在無菌液 1、2、3、4 小時後，無菌液所得到之總菌落數量。由圖顯示，對於自來水與放流水生物膜，1~4 小時後的再釋菌量，並無明顯差異，顯然以短時間的趨勢來看，生物膜的釋菌情形，與時間無關，惟本研究並未探討長時間的再釋菌量，無法瞭解長時間的釋菌情形，與時間之關聯性。

至於消毒劑次氯酸鈉濃度對再釋菌量的影響如何，亦可由圖 5 與圖 6 得知。圖 5 為自來水生物膜之情況，由圖可知濃度 10 mg/L 所得再釋菌量，高達  $10^3$  CFU/mL，遠超過我國目前飲用水水質標準  $10^2$  CFU/mL，顯然達到預期的消毒目標。當濃度高達 100 mg/L，甚至高達 10000 mg/L 時，再釋菌量已明顯降為  $10^1$  CFU/mL，顯見次氯酸鈉濃度達 100 mg/L 以上時，不僅生物膜去除率很高，甚至其再釋菌情形亦可明顯抑制，符合飲用水水質標準。此情形對於放流水生物膜則不一樣，圖 6 顯示次氯酸鈉濃度必須高達 10000 mg/L 以上，始可達符合飲用水水質標準，而濃度在 100 mg/L 時其再釋菌量，仍高出  $10^2$  CFU/mL。

#### 4.3 消毒時間對再釋菌量的影響

圖 7 顯示自來水生物膜，經不同濃度次氯酸鈉消毒後，不同的消毒時間，所產生的再釋菌量比較。由圖得知，消毒時間只要在 20 分鐘以上，再釋菌量則與消毒時間無顯著關係。圖 8 的放流水生物膜亦有相同的情形，此情形與消毒後生物膜上總菌落數量的趨勢相同，意味著再釋菌量與生物膜量有著正比關係之可能性。此點可由圖 11 與圖 12 得到證明。圖 11 與圖 12 分別為總菌落數與大腸桿菌群生物膜量與再釋菌量間之關係，此二圖上之點係各別將 144 個數據點組合繪得 (36 個試程，每個試程有消毒時間 0、20、40、60 分鐘者，因此共 144 組數據)。由圖顯示，不管是總菌落數或大腸桿菌群，其生物膜量與再釋菌量，均有線性關係存在，尤以總菌落數的線性關係較強，相關係數達 0.856；大腸桿菌方面的相關係數僅有 0.695，相關性較弱，而較弱的原因來自於大腸桿菌群的生物膜量或再釋菌量本來就偏低許多，在多組數據中出現許多次是測不到之現象，造長其相

關性降低。

圖 9 與圖 10 分別為自來水與放流水生物膜大腸桿菌群，經過不同消毒劑濃度與不同消毒時間後的再釋菌量比較。圖中呈現大腸桿菌再釋菌量與消毒時間未有明顯之關係，意味著大腸桿菌生物膜，只要有經過足夠消毒劑濃度與消毒時間消毒後，即使再延長消毒時間，也無法明顯減少大腸桿菌群的再釋出。圖 9 更呈現自來水生物膜的大腸桿菌群，只要有 10 mg/L 濃度次氯酸鈉消毒 20 分鐘後，一小時後的再釋菌量幾乎接近零。

## 五、結論

- (一)、自來水管線生物膜經以次氯酸鈉濃度 10 mg/L 消毒後，僅可使總菌落數量由  $10^5 \sim 10^6$  CFU/cm<sup>2</sup> 降至  $10^3 \sim 10^4$  CFU/cm<sup>2</sup>，而以 10000 與 100 mg/L 濃度的次氯酸鈉消毒後，則可降至  $10^1$  CFU/cm<sup>2</sup>，明顯比濃度 10 mg/L 時，可達到較高的去除率。而濃度 10000 mg/L 與濃度 100 mg/L 的次氯酸鈉，對於自來水管線生物膜總菌落數的去除率則相當。相同的條件下，放流水產生的生物膜消毒，則必需次氯酸鈉濃度高達 10000 mg/L 始可達到較佳的去除效果。
- (二)、以次氯酸鈉消毒劑來消毒管線中生物膜時，消毒劑與管壁接觸時間達到 20 分鐘時，即有明顯的去除效果，接觸時間再增加至 40 與 60 分鐘時，並無法明顯提升去除效率。惟倘管線輸送的水有受到較高濃度污染物污染時，其消毒時間最好能延長至 40 分鐘。
- (三)、對於大腸桿菌群生物膜的消毒而言，自來水生物膜在濃度 10 mg/L 次氯酸鈉消毒劑下，即可達到幾近完全去除的效果。而放流水生物膜的消毒，則必須次氯酸鈉濃度達 10000 mg/L，始可明顯去除。但在消毒所需時間上，二者則無明顯差別，均為 20 分鐘。
- (四)、消生物膜再釋菌量與浸泡時間(1~4 小時)與消毒時間(20~60 分鐘)無明顯關係，惟不管是總菌落數或大腸桿菌群均與生物膜量有著線性關係。

## 六、誌謝

本研究期間，承蒙行政院環境保護署葉簡任技正俊宏、謝科長燕儒以及花蓮縣環保局王課長嶽斌等人給予協助與指導，在此一併申謝。

## 七、參考文獻

1. Levine, W. C., Stephenson, W. T. and Craun, G. F. (1990). Waterborne disease outbreaks, 1986-1988., *MMWR CDC Surveill. Summ.*, 39(1), 1-13.
2. Herwaldt, B. L., Craun, G. F., Stokes, S. L. and Juranek, D. D. (1992). Outbreaks of eaterborne disease in the United States: 1989-1990. *J. AWWA*, 84(4), 129-135.
3. Moore, A. C., Heraldt, B. L., Craun, G. F., Calderon, R. :, Highsmith, A. K. and Juranek, D. D. (1993). Surveillance for waterborne disease outbreaks --- United States, 1991-1992. *MMWR CDC Surveill. Summ.*, 42(5), 1-22.
4. 葉宣顯(1997), 「從致病性原生動物問題談淨水程序之最佳化」, 自來水會刊, 第 16 卷, 第 4 期, 第 54-64 頁。

5. MacKenzie, W. R., Hoxie, N. H., Proctor, M. E., Gradus, M. S., Blair, K. A., Peterson, D. E., Kazmierczak, J. J., Addiss, D. G., Fox, K. R., Rose, J. B. and Davis, J. P. (1994). A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply, *New Engl. J. Med.*, 331(1), 161-167.
6. Block, J. C., Haudidier, K., Paquin, J. L., Miazga, J. and Levi, Y. (1993). Biofilm accumulation in drinking water distribution systems. *Biofouling*, 6, 333-343.
7. LeChevallier, M. W., Schultz, W. and Lee, R. G. (1991). Bacterial nutrients in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 2714-2724.
8. Fass, S., Dincher, M. L., Reasoner, D. J., Gatel, D. and Block, J. C. (1996). Fate of *Escherichia coli* experimentally injected in a drinking water distribution pilot system. *Wat. Res.*, 30, 2215-2221.
9. Rittmann, B. E. and Huck, P. M. (1989). Biological treatment of public water supplies. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, 19(2), 119.
10. Fletcher, M. (1991). The physiological activity of bacteria attachment to solid surfaces. *Advances in Microbial Physiology*, 32, 53-85.
11. Genigeorgis, C. (1995). Biofilm: Their significance to clearing in the meat sector. In: Burt, S. A. and Bauer, F. (Eds), *New Challenges in Meat Hygiene: Specific problems in cleaning and disinfection*, Ecceamst, European Consortium for Continuing Education in Advanced Meat Science and Technology, 99, 29-47.
12. Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R. and Lappin-Scott, H. M. (1995). Microbial biofilms. *Ann. Rev. Microbiol.* 49, 711-745.
13. Gilbert, P., Evens, D. J. and Brown, M. R. W. (1993). Formation and dispersal of bacterial biofilms *in vivo* and *in situ*. *J. Appl. Bacteriol. Symp.*, 74, 67S-78S.
14. Vaisanen, O. M., Nurmiäho-Lassila, E-L., Marmo, S. A. and Salkinoja-Salonen, M. S. (1994). Structure and composition of biological slimes on paper and board machines. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 641-653.
15. Nivens, D. E., Palmer, R. Jr. and White, D. C. (1995). Continuous nondestructive monitoring of microbial biofilms: A review of analytical techniques. *J. Industrial Microbiol.*, 15, 263-276.
16. Rittmann, B. E. (1982). The effect of shear on biofilm loss rate. *Biotechnol. Bioengr.*, 24, 501.
17. Zottola, E. A. and Sasahara, K. C. (1993). Microbial biofilms in the food processing industry --- Should they be a concern? *Internat. J. Food Microbiol.*, 23, 125-148.
18. Mattila-Sandholm, T. and Wirtanen, G. (1992). Biofilm formation in the industry: A Review. *Food Reviews international*. 8, 573-603.
19. Hoyle, B. D., Alcantara and Costerton, J. W. (1992). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms as a diffusion barrier to piperacillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36, 2054-2056.
20. Bozue, J. A. and Johnson, W. (1996). Interaction of *Legionella pneumophila* with *Acanthamoebae castellanii*: uptake by coiling phagocytosis and inhibition of phagosome-lysosome fusion. *Infect. Immun.*, 54, 668-673.
21. Ridgway, H. F. and Olson, B. H. (1982) Chlorine resistance pattern of bacteria from drinking water systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44, 972-987.
22. LeChevallier, M. W., Lowry, C. D. and Lee, R. G. (1990). Disinfecting biofilms in a model distribution system. *J. AWWA.*, 82(7), 87-99.
23. LeChevallier, M. W., Babcock, T. M. and Lee, R. G. (1987). Examination and characterization of distribution system biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 2714-2724.
24. Momba, Maggy N. B., Cloete, T. E., Venter, S. N. and Kfir, R. (1999). Examination of the behaviour of *ESCHERICHIA COLI* in biofilms established in laboratory-scale units receiving chlorinated and chloraminated water. *Wat. Res.*, 33, 2937-2940.
25. Mafu, A. S., Roy, D., Goulet, J. and Magny, P. (1990). Attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel, glass, polypropylene and rubber surfaces after short contact times. *J. Food Protect.*, 53, 742-746.
26. Zottola, E. A. (1994). Scientific status, summary, Microbial attachment and biofilm formation, a new problem for the food industry. *Food Technology*, 48, 107-117.
27. LeChevallier, M. W., Lowry, C. D., Lee, R. G. and Gibbon, D. L. (1993). Examining the relationship between iron corrosion and the disinfection of biofilm bacteria., *J. AWWA*, 85(7), 111-123.



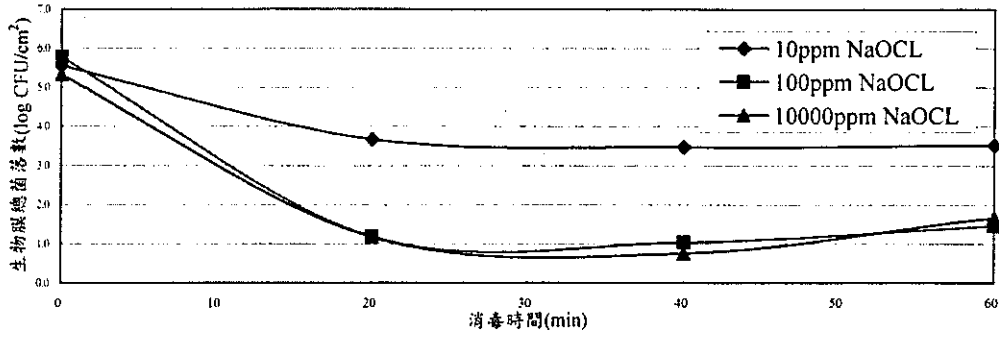


圖1、不同濃度NaOCL消毒管線總菌落數生物膜效果(自來水)

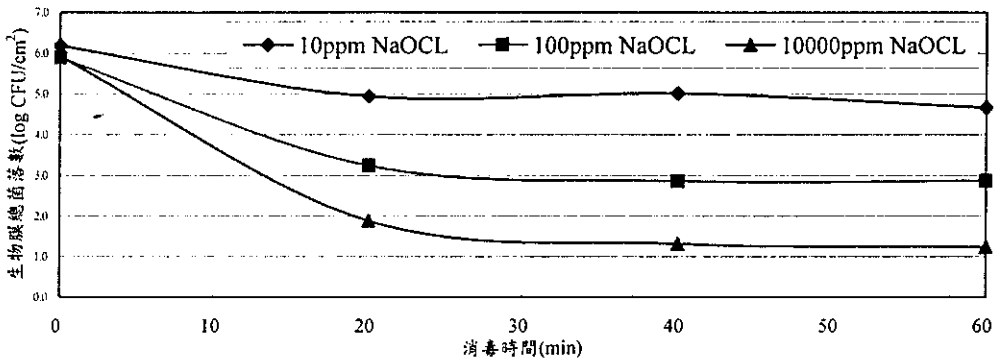


圖2、不同濃度NaOCL消毒管線總菌落數生物膜效果(放流水)

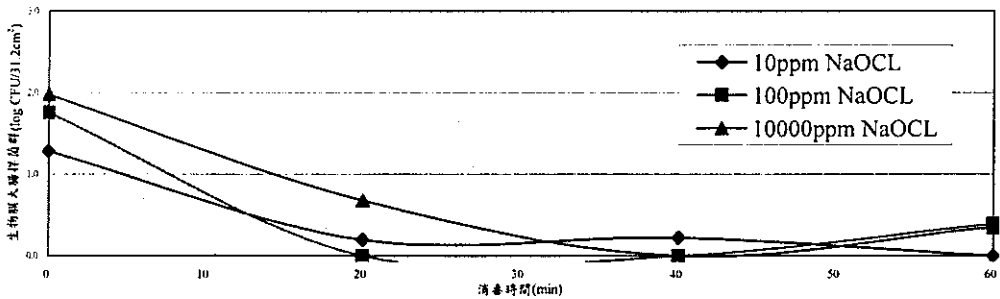


圖3、不同濃度NaOCL消毒管線大腸桿菌群生物膜效果(自來水)

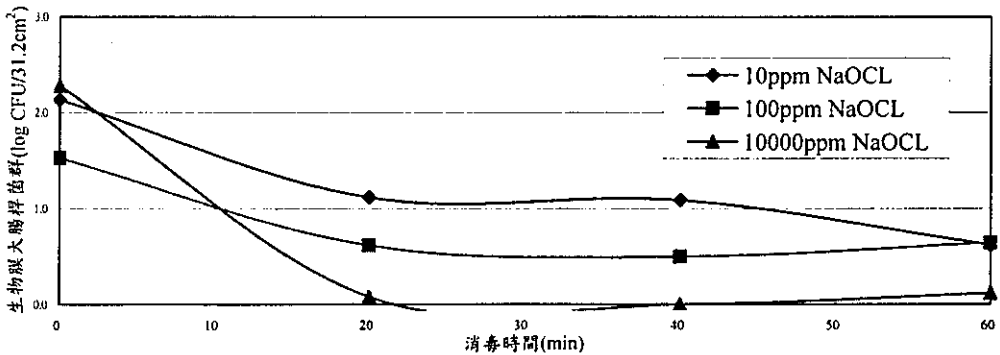


圖4、不同濃度NaOCL消毒管線大腸桿菌群生物膜效果(放流水)

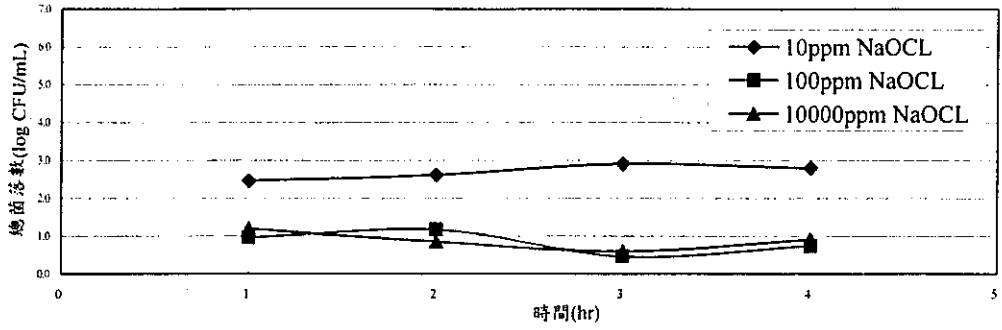


圖5、NaOCL消毒管線後總菌落數隨時間再釋出量(自來水)

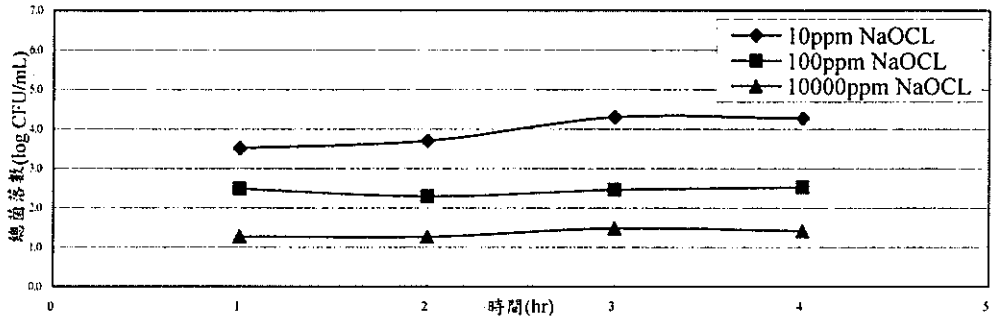


圖6、NaOCL消毒管線後總菌落數隨時間再釋出量(放流水)

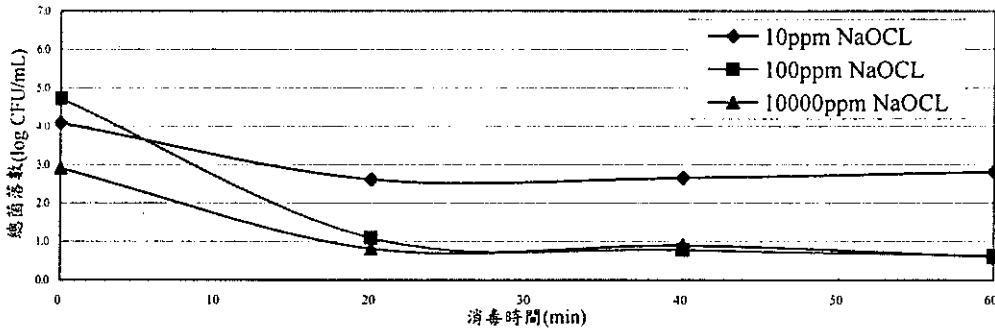


圖7、管線消毒後4小時內總菌落數平均再釋出量(自來水)

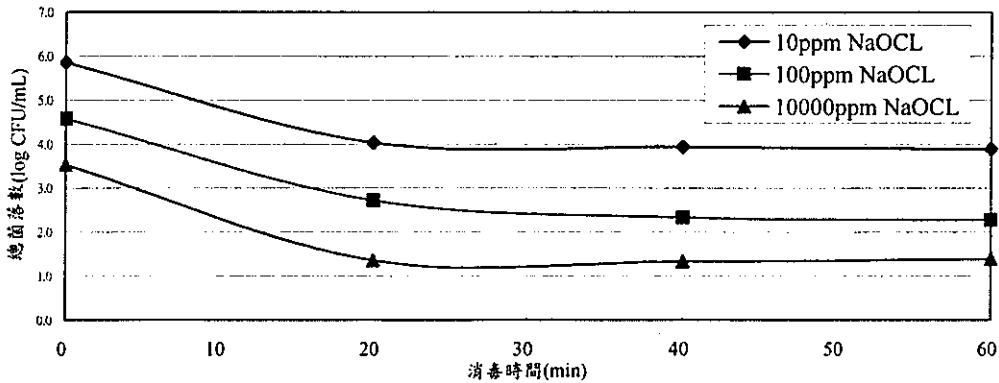


圖8、管線消毒後4小時內總菌落數平均再釋出量(放流水)

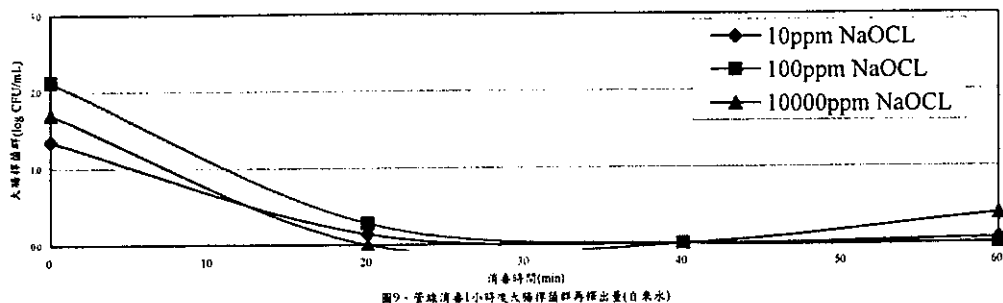


圖9·管線消毒1小時後大腸桿菌群再釋出量(自來水)

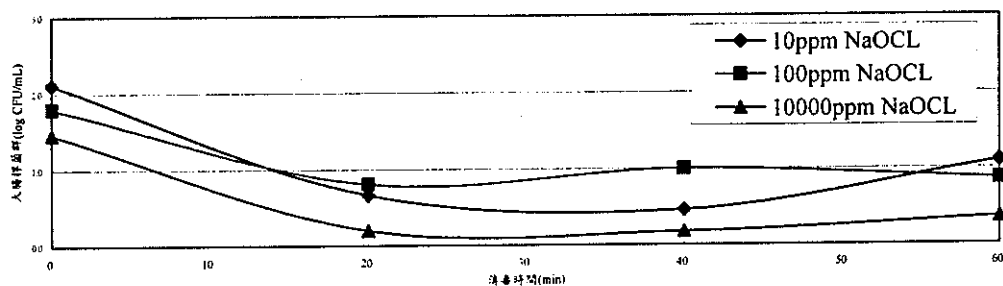


圖10·管線消毒1小時後大腸桿菌群再釋出量(放流水)

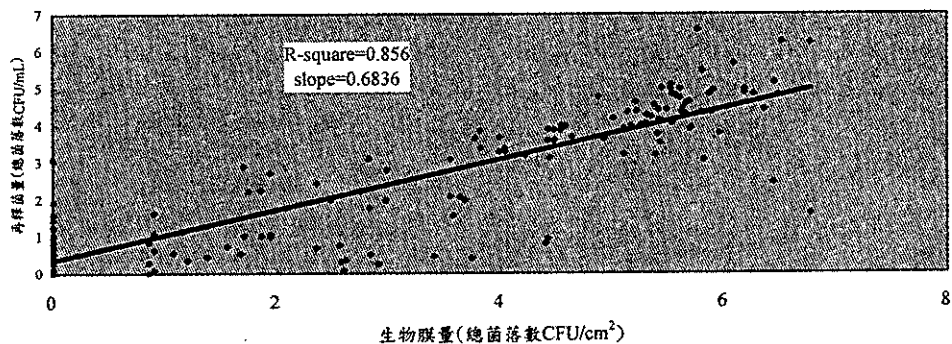


圖11 總菌落數生物膜量與再釋菌量之關係

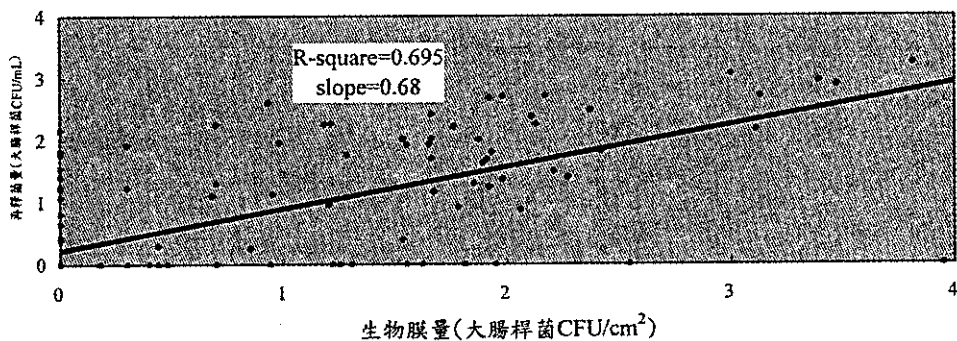


圖12 大腸桿菌群生物膜量與再釋菌量之關係