

有機營養源對於自來水配水管線生物膜再生長之研究

朱振華¹ 盧重興² 李季眉²

摘要

生物性污染一直是自來水配水系統二次污染最主要的問題之一，其中更以生物膜累積於管壁的問題最難以解決。本研究的目的是在探討添加不同有機營養源(醋酸鈉及草酸)對配水管線生物膜再生長的影響。研究中採用異營菌平板計數(heterotrophic plate count, HPC)、生物可利用有機碳(assimilable organic carbon, AOC)、及掃描式電子顯微鏡(scanning electron microscope, SEM)觀察等方法。

試驗結果顯示，在 HPC 方面，添加 10 μ g acetate-C/L 的情況下，經過兩週後，其生物膜密度即可達到 10⁵ CFU/cm²，隨著試驗時間的增加，生物膜增加趨於穩定，其生物膜密度可達到 10⁶ CFU/cm²。而在添加 10 μ g oxalate-C/L 的試程也有類似的趨勢，其最大值接近 10⁵ CFU/cm² 左右，約為添加醋酸鈉時的 1/10。當添加草酸濃度增加至 50 μ g/L 時，管線中生物膜的生長速度較添加 10 μ g/L 時加快許多。而不同管材的比較上，生物膜於 PVC 管的生長情況優於不鏽鋼管，但兩者差距並不明顯。AOC 的試驗結果得知，添加不同的有機營養源對於 AOC 值的增加也呈現不同的比例，醋酸鈉對於 AOC 有 60~100% 轉化率，而草酸約為 20~40%。在 SEM 的觀察結果發現，添加醋酸鈉與草酸的試程中，培養 1 週內即可達到初步穩定且有明顯的生物膜生成，而培養 7 週後，採樣片上的生物量及種類即可達到穩定，採樣片之生物膜生長情況以添加醋酸鈉較好。

1 國立中興大學環境工程學系博士候選人

2 國立中興大學環境工程學系教授

壹、前言

公共自來水供給設施除了和鄉村的成長及城市的繁榮有實質的影響外，其所供應的水質更與人體健康有直接的關係。然而，要避免自來水水質受到污染，除了要做好水源水質保護與提升淨水廠處理技術外，如何有效地控制與管理自來水在配水管線的水質，乃為當前自來水事業應注意的問題之一。配水管網中存在之水質問題，大部分是來自於管內微生物之繁殖，稱為「後生長(aftergrowth)」或「再生長(regrowth)」，特別是指形成生物膜的微生物。後生長可能引起飲用水質上的諸多問題，如：使水中溶氧耗盡、大量異營菌之繁殖，干擾大腸菌屬監測水質之意義、致病菌之繁殖及促進管線之腐蝕。本研究的主要目的在於以生物鑑定法來探討影響自來水配水管線生物穩定性之因子，利用添加醋酸鈉與草酸兩種不同的有機營養源，來了解有機營養源對配水管線生物膜再生長的影響。

貳、材料與方法

一、試驗設備

本研究中的試驗設備是採取開放式連續流方式，管線主體是採用內徑 2cm 的 PVC 塑膠管，以向下螺旋 7 迴圈 (loop) 所構成，管線前端設置有營養源注入口，用以控制進流水基質濃度，其設備如圖 1 所示。試驗中之生物膜培養片則採用不鏽鋼及 PVC 兩種材質，單一採樣片微生物可附著總表面積約為 20cm²。試驗中之培養裝置設計為進出口兩端內徑大小不同，以固定採樣片。此外，相鄰兩採樣裝置設計為可拆卸式，可方便採樣，其構造如圖 2 所示。

二、試驗條件

本試驗將水流流速控制在 0.1m/s(實場水流流速約為 0.1~0.3m/s)，試驗以中興大學土木環工大樓所使用的自來水(餘氯背景值約為 0.8mg/L)利用低濃度硫代硫酸鈉溶液(0.0025M)去氯，並經過簡單的曝氣與過濾後，作為本試驗之原水。實驗期間亦定期監測水源水質，確保整個實驗過程中的水質穩定。監測項目包括有總異營菌數、大腸菌數、水溫、pH、濁度、比電導度、TOC、有效餘氯、硫酸鹽、磷酸鹽、硝酸鹽及亞硝酸鹽等，水質結果與實際水源比較如表 1 所示。試驗有機營養源採用醋酸鈉與草酸兩種，分別添

加 10 $\mu\text{g/L}$ 及 50 $\mu\text{g/L}$ 作為管線中微生物生長的營養源，試驗初期採樣時間分別為 24、48 及 72 小時，之後每週監測一次。

試驗前採樣片應浸泡於 95%酒精中 24 小時，再以超音波洗淨機清洗 30 分鐘，最後以鋁箔紙密封滅菌。而培養後的生物膜採樣片則以超音波洗淨機進行處理，震盪條件為連續二次 5 分鐘操作，之後取其懸浮液進行後續分析項目。

三、分析方法

本試驗中總異營菌計數是利用倒碟法，以 R₂A agar 為培養基，每個樣品做二次重複分析，培養溫度為 30 $^{\circ}\text{C}$ ，時間為 7 天；大腸菌類測定是利用薄膜過濾法 (membrane filter)，以 m-T7 agar 為培養基，本實驗 AOC 的分析，是採用標準方法(standard method 19edition 9217, 1995)進行，培養溫度 15 $^{\circ}\text{C}$ ；另外，試驗中亦進行掃描式電子顯微鏡照相 (SEM)，以了解培養生物膜中菌種的特性，加速電壓 15kV，放大倍率 3000~5000 倍。

參、結果與討論

一、總異營菌密度分析

(1) 附着性微生物(Attached living bacteria ,ALB)

圖 3 與圖 4 為分別添加 0、10 及 50 $\mu\text{g/L}$ 的醋酸鈉及草酸，經過 8~10 週後，對不鏽鋼生物膜採樣片之 HPC 比較圖。由圖可知，當不添加有機營養源時，附着性微生物密度很低，生物膜的累積速度亦十分緩慢，試驗時間 8 週時，生物膜密度為 $4 \times 10^3 \text{ CFU/cm}^2$ 。由圖 3 與圖 4 的比較看出，添加 10 $\mu\text{g acetate-C/L}$ 較添加 10 $\mu\text{g oxalate-C/L}$ 有利於水體中懸浮性微生物的附着。試驗二週後，即可達到約 10^5 CFU/cm^2 ，再繼續培養至四週後，生物膜密度可以達到 10^6 CFU/cm^2 ，而添加草酸的試程均需要 6~7 週的時間才可緩慢的達到 $10^4 \sim 10^5 \text{ CFU/cm}^2$ ，可知以醋酸鈉作為水體中的有機營養源較有利於管線微生物的利用。

將兩種有機營養源濃度增加到 50 $\mu\text{g/L}$ 後，培養初期由於醋酸鈉本身較易被微生物利用的特性，培養約 1 週後，附着性微生物即可達到 10^6 CFU/cm^2 ，而以草酸為營養源的增加趨勢則較為和緩，但在經過兩週後，也接近 10^6 CFU/cm^2 ，這樣的結果顯示管線

中有機營養源濃度的增加確實可以提高生物膜生長的速度。在實驗約一個月後，由於系館的修繕及器材故障等問題，使醋酸鈉試程的營養供給不足(約兩週時間)，其生物膜生長狀況發生衰退的現象，這也證明了管線營養源的存在會直接影響到微生物在管壁的生長狀況。

(2) 懸浮性微生物(Free living bacteria ,FLB)

圖 5 及 6 為分別添加 0、10 及 50 $\mu\text{g/L}$ 的醋酸鈉及草酸，培養 8~10 週後，其懸浮性微生物的結果。由圖可知，當不添加有機營養源時，懸浮性微生物的濃度大約維持在 $10^2\sim 10^3$ CFU/mL，增加的速度十分緩慢。當添加 10 $\mu\text{g acetate-C/L}$ 於自來水後的懸浮性微生物生長速度較添加 10 $\mu\text{g oxalate-C/L}$ 快，試驗 8 週後，最大值分別為 6.9×10^3 及 2.5×10^3 CFU/mL。當兩種有機營養源的添加濃度增至 50 $\mu\text{g/L}$ ，懸浮性微生物由於水中營養源大幅增加的情況下，微生物的生長速度亦加快許多，最大值分別為 8.7×10^4 及 9.5×10^4 CFU/mL。

將圖 5 及圖 6 與圖 3 及圖 4 比較可以看出，在添加有機營養源進入配水管線中，懸浮性及附着性微生物均會隨著試驗時間的增加，而有大幅度的提昇。但兩者在試驗後期，懸浮性微生物的附着與附着性微生物的剝落漸漸產生了平衡，這個現象也有助於我們觀察管線生物膜的穩定狀況。

(3) 不同採樣片的比較結果

圖 7 為添加 10 $\mu\text{g acetate-C/L}$ 時，不同管材採樣片的 HPC 結果，由圖中可以發現，在不同材質採樣片的比較上，PVC 採樣片對於生物的附着較不鏽鋼採樣片略多，不過，兩種不同的採樣片其生物膜的生長情況以及趨勢卻是十分類似，推估其原因可能由於水中添加的有機營養源濃度並不高，生物膜的生長速度還不能反映出管材上對生物膜附着的優劣情況，這部分有待進一步的實驗結果再作評估。

二、生物可利用性有機碳(AOC)分析

本研究 AOC 的初步結果如表 2 所示，AOC 分析方法所需要的兩株純菌產率，採用本研究室所得到的之實驗結果，strain P17 及 NOX 之迴歸結果分別為 5.42×10^6 CFU/ $\mu\text{g acetate-C}$ 及 1.28×10^7 CFU/ $\mu\text{g acetate-C}$ 。由表中可知，原水在添加醋酸鈉及草酸後，AOC

均有上升的趨勢，但是以添加醋酸鈉對於管線中 AOC 的增加情況較佳，有 60~100% 的效率，而添加草酸則只有 20~40% 的效果。而由 AOC_{P17} 與 AOC_{NOX} 的比較上可以發現，添加醋酸鈉對於原水中 AOC_{P17} 與 AOC_{NOX} 的增加較為平均，而添加草酸只對於 AOC_{NOX} 的增加較有助益。

在 AOC 與 HPC 值的比較上，我們可以由配水管線系統的出流 AOC 值與採樣片上之附着性微生物做一比較，我們可以發現，配水管線系統均有 AOC 值隨著管線距離的增加而降低的趨勢，但由於本研究管線長度僅有 28m，所以這方面的結論希望日後能以實場的水樣再加以進一步的證明。另外，而 AOC 值下降愈多，HPC 之增加情況愈好。但由於實驗中添加的有機鹽類濃度並不高，HPC 值的增加是因為醋酸鹽類增加還是由於添加之醋酸鈉誘使自來水中的生物對於水中 AOC 利用率上升，並不能夠確定，有待進一步的研究。

三、掃描式電子顯微鏡(SEM)觀察

本研究同時利用電子顯微鏡照相，希望以微觀的角度來觀察管線生物膜的外觀、型態及分布特徵，以了解在生物膜內的原始菌項特徵與先前在異營菌平板計數培養出現菌種之間的差異。

圖 8 為生物膜採樣片置入配水管線前之 SEM 觀察結果，採樣片經過處理及滅菌後，並沒有任何的微生物及雜質附着其上。圖 9 為添加 10 μ g acetate-C/L 下，經過 3 天、1 週及 7 週 SEM 觀察結果，由圖中可以明顯的觀察到，培養初期(3 天)，即有明顯的微生物附着在採樣片上，但採樣片表面的微生物型態十分複雜，無法分辨其主要的優勢菌種，隨著培養時間的增加(一週)，附着於採樣片表面的微生物數量也逐漸增加，經過長時間培養後(7 週)，微生物數量大幅提昇，但種類卻趨於單純，結構也較短期培養的緊密許多。

圖 9 為添加 10 μ g oxalate-C/L 下，經過 3 天、1 週及 7 週 SEM 觀察結果，由圖中可以明顯的看到，隨著試驗時間的增加，微生物的生成趨勢與醋酸的試程十分類似，但以草酸為營養源的微生物生長速度不如醋酸試程，其生物膜的緊密程度並不好，採樣片表面所產生的雜質量亦較高，顯示配水管線中微生物對於低濃度草酸的利用能力較醋酸差，與之前 HPC 的結果也有相當程度的吻合。

另外，在 SEM 照片中發現，採樣片上的綳褶處（即較粗糙部份）較容易出現細菌及聚合物聚集累積的現象，而相對地較為平滑的表面則多為散落且不緊密的單一菌體，在 Percival *et al.* (1998) 的研究中亦發現，在較粗糙的不鏽鋼片上可監測到較高的異營菌密度，顯示管線表面的平滑粗糙程度，對於生物膜的累積情形亦會有顯著的影響。

肆、結論

- 1、以不含有消毒劑的自來水添加低濃度的有機營養源即可令配水管線生物膜快速生長，而微生物利用醋酸鈉的生長情形又優於草酸。
- 2、添加較高濃度的有機營養源對於管線生物膜的生長情形較添加低濃度者為佳。
- 3、配水管線中微生物對於管材的附着情形以 PVC 較好，但其與不鏽鋼材質的差異並不明顯。
- 4、添加醋酸鈉轉化 AOC 的比率約為 60~100%，而草酸則為 20~40%。
- 5、掃描式電子顯微鏡的觀察結果可以發現，培養初期管線中微生物的生長情形十分複雜，隨著培養時間的增加，生物膜中微生物的種類減少，但是結構卻較為緊密。

誌謝

本研究承蒙國科會經費補助(NSC89-2211-E-005-035)，特此致謝。

參考文獻

1. *Standard Method for the examination of assimilable organic carbon* (1995) 19th Edition.
2. LeChevallier M.W., Cawthon C. and Lee R.G. "Examination and characterization of distribution system biofilms", *Applied Environ. Microbial.*, Vol.54, pp.2714-2724 (1987a)
3. Perciva S.L., Knapp J.S., Edyvean R.G.J. and Wales D.S., "Biofilms, mains water and stainless steel." *Wat. Res.*, Vol.32, No.7, pp.2187-2201. (1998)
4. van der Kooij, D., (1990), "Assimilable Organic Carbon (AOC) in Drinking Water", in *Drinking Water Microbiology*, G.A. Mcfeter, ed., Springer-Verlag, New York, pp.57~87.
5. van der Kooij, D., Veenendaal H.R., Baars-Lorist C., van der Klift D.W. and Drost Y.C., "Biofilm formation on surface of glass and teflon exposed to treated water." *Wat. Res.*, Vol.7, No.7, pp.1655-1662. (1995)
6. van Der Wende E., Characklis W. G. and Smith D. B. "Biofilms and bacterial drinking water quality". *Wat. Res.*, Vol. 23, pp.1313-1322. (1989)

表 1 水源水質資料

	實驗自來水*	實驗自來水*	地下水原水	實場自來水質
	(過濾前)	(過濾後)	(台中校區)	(豐原地區)
	範圍 (平均值)	範圍 (平均值)	範圍 (平均值)	範圍 (平均值)
總異營菌落數 (CFU/mL)	<100	<100	3200-8100 (6000)	<100
大腸菌密度 (CFU/100mL)	0	0	65-42 (54.5)	0
pH	7.32-7.35	7.32-7.45	6.85-7.10	7.2-7.8
溫度 (°C)	21.5-24	21.5-24.3	22.1-28.4	16.3-25
濁度 (NTU)	1.8-4	1.2-3.5	0.85-1.24	0.8-4
比電導度 (μ s/cm)	143-187	143-160	386.2-453.6	96-250
TOC (mg/l)	0.8-1.8 (1.4)	0.8-1.8 (1.4)	1.24-1.38 (1.32)	0.6-1.5 (1.2)
有效餘氯 (mg/l)	0.8	0	---	0.3-1.5
硫酸鹽 (mg/l)	40-73 (42)	40-64 (42)	92.2-80.3 (80.5)	40-60 (41)
磷酸鹽 (mg/l)	0.09-0.22 (0.12)	0.09-0.22 (0.12)	0.32-0.41 (0.35)	0.15-0.60 (0.25)
硝酸鹽 (mg/l)	0.9-1.7 (1.2)	0.9-1.7 (1.2)	3.60-3.52 (3.56)	1.2-1.4 (1.3)
亞硝酸鹽 (mg/l)	0.001-0.004 (0.002)	0.001-0.004 (0.002)	0.011-0.012 (0.012)	0.001-0.003 (0.002)

*檢測次數=20

表 2 添加不同有機營養源對於原水 AOC 增加結果

實驗條件	添加 10 $\mu\text{g acetate-C/L}$		添加 10 oxalate-C $\mu\text{g/L}$	
取樣點	進流	出流	進流	出流
$\Delta \text{AOC}_{\text{P17}}$	6	2	0	0
$\Delta \text{AOC}_{\text{NOX}}$	3	6	2	1
$\Delta \text{AOC}_{\text{Total}}$	9	8	2	1
轉化率(%)	90	80	20	10
實驗條件	添加 50 $\mu\text{g acetate-C/L}$		添加 50 oxalate-C $\mu\text{g/L}$	
取樣點	進流	出流	進流	出流
$\Delta \text{AOC}_{\text{P17}}$	21	14	8	5
$\Delta \text{AOC}_{\text{NOX}}$	11	12	10	10
$\Delta \text{AOC}_{\text{Total}}$	32	26	18	15
轉化率(%)	64	52	36	30

*自來水 AOC 背景值約為 5~10 $\mu\text{g acetate-C/L}$

* ΔAOC 表示添加有機營養源後，與背景值的差值

* 轉化率(%) = $\frac{(\text{添加有機營養源後之 } \text{AOC}(\mu\text{g/L}) - \text{添加有機營養源前之 } \text{AOC}(\mu\text{g/L}))}{\text{添加之營養源濃度}(\mu\text{g/L})} \times 100\%$

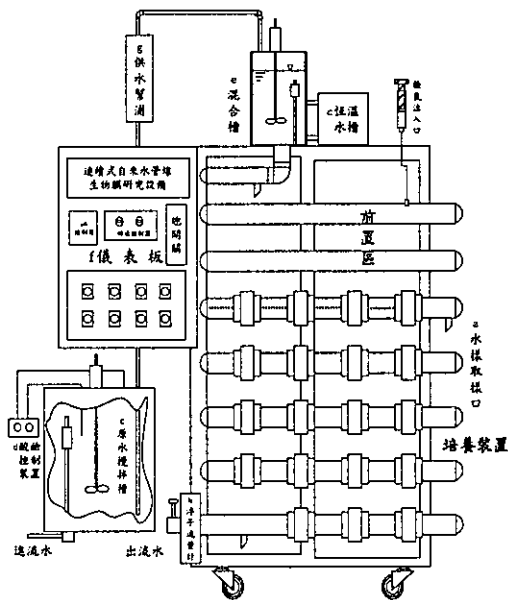


圖 1 連續式配水管線試驗設備圖

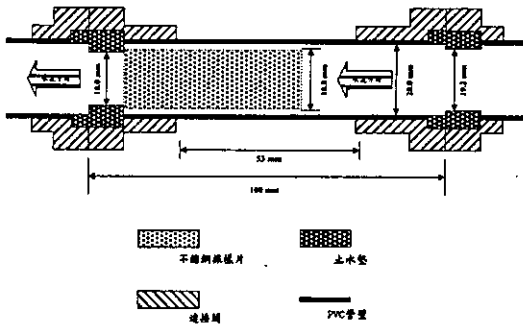


圖 2 生物膜培養裝置剖面圖

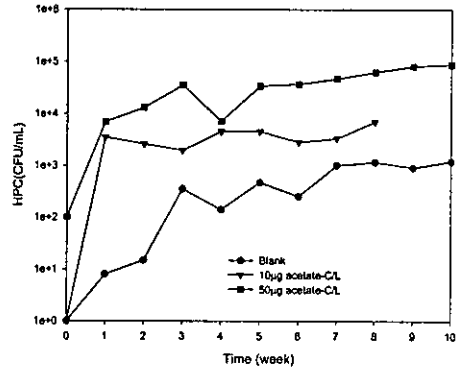


圖 5 添加不同濃度醋酸鈉 FLB 結果(不鏽鋼)

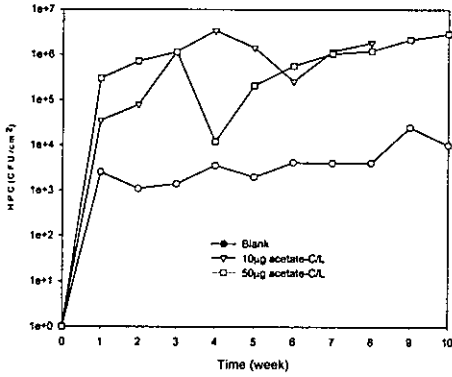


圖 3 添加不同濃度醋酸鈉 ALB 結果(不鏽鋼)

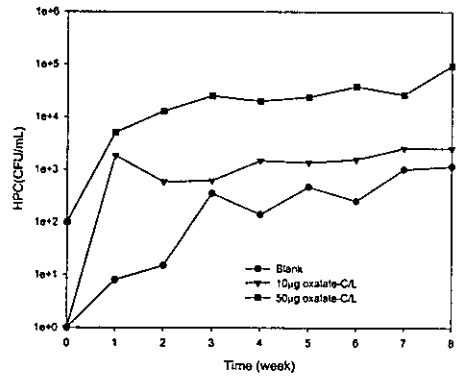


圖 6 添加不同濃度草酸 FLB 結果(不鏽鋼)

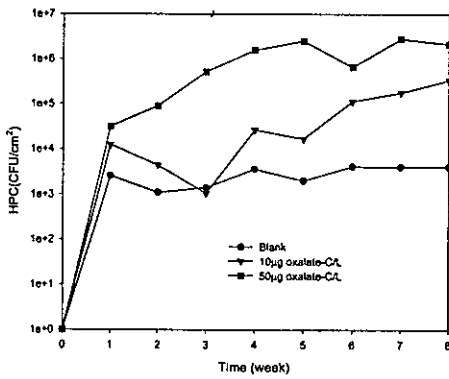


圖 4 添加不同濃度草酸 ALB 結果(不鏽鋼)

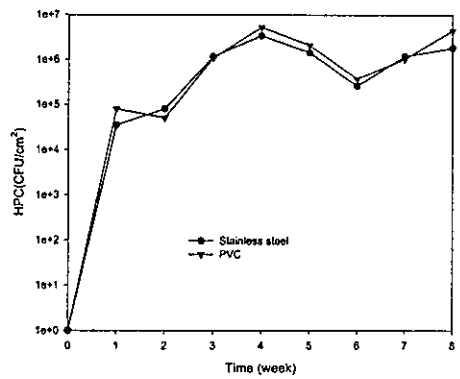


圖 7 添加 10µg acetate-C/L 時, 不同管材採樣片之 HPC 結果



圖 8 不鏽鋼採樣片實驗前 SEM 照片

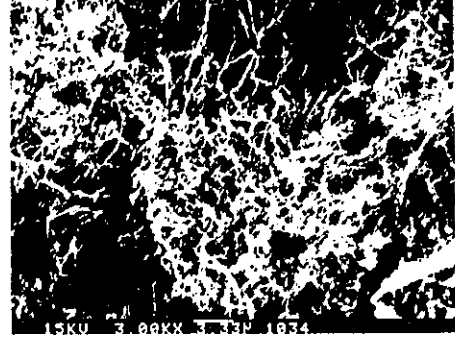
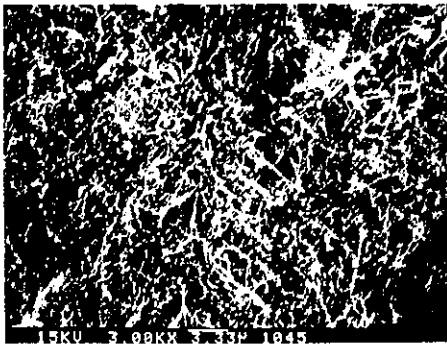
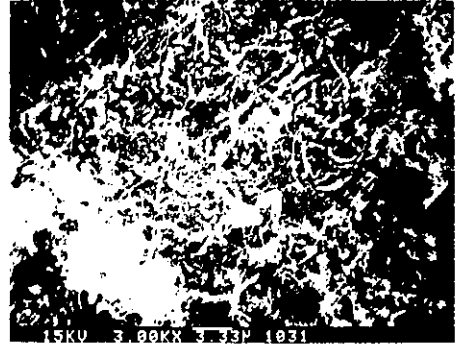
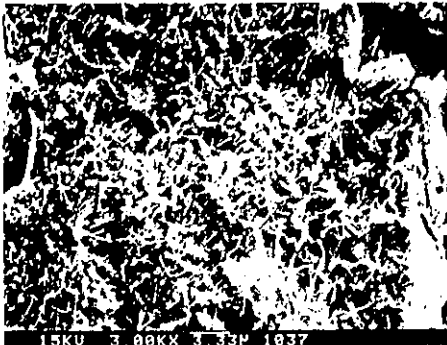
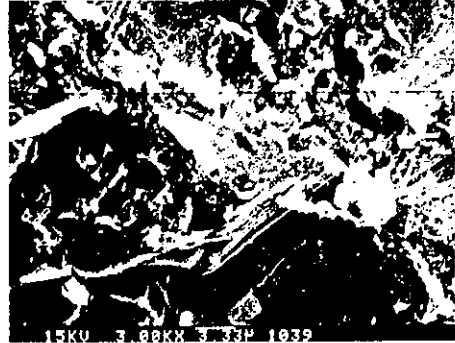
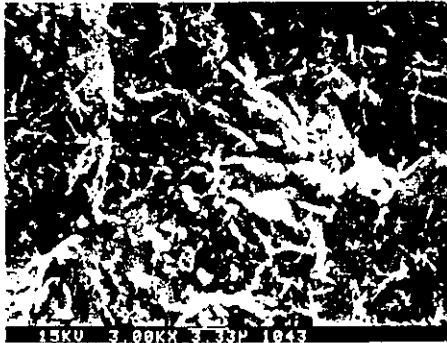


圖 9 進流濃度 10µg acetate-C/L 經過 3 天、1 週及 7 週 SEM 觀察照片

圖 10 進流濃度 10µg oxalate-C/L 經過 3 天、1 週及 7 週 SEM 觀察照片