

飲用水輸配管線系統內生物膜形成機制及其形態構造

陳明仁

輔英科技大學工業安全衛生系

Email: chenmj2000@yahoo.com

Tel: 07-7811151 ext.407

摘 要

為避免飲用水中細菌滋生，導致水體生物性污染影響公眾健康，自來水淨水廠一般採用加氯消毒殺菌的程序，以防水媒傳染病之發生。儘管在存有消毒殺菌藥劑與含碳源極低等不利細菌生長的水體環境下，依然有證據顯示飲用水輸配管線系統內仍經常滋生有細菌，且附著於管壁形成一層所謂「生物膜(Biofilms)」的複雜菌落群組織。生物膜不只影響水質衛生，危害飲用者健康，而且會腐蝕管壁材料，增加管線維護成本。此外，研究亦發現假使原水中含有有機污染物，則水中的有機物極易與添加的氯產生化學反應，生成消毒副產物如三鹵甲烷(THMs)等，導致飲用水二度污染，故環保法令上有關飲用水消毒殺菌藥劑的使用劑量添加，亦有日趨嚴格管制之勢。因此，如何能將消毒殺菌藥劑的使用劑量降至最低，同時又能確保飲用水免於細菌滋生形成生物膜，則有賴於對飲用水輸配管線系統內生物膜形成機制的瞭解。本研究選擇以單一菌種 *Pseudomonas fluorescens*，於一模擬飲用水輸配管線系統模場，探討不同環境因子如：水流速度、pH 值與碳源(葡萄糖濃度)等對生物膜形成的影響。結果顯示生物膜的形成過程，基本上依序決定於三個步驟：(1)初始形成階段(initial conditioning phase)；(2)指數成長期(exponential growth phase)；(3)不穩定高原成長階段(unstable plateau phase)。環境因子對生物膜形成的形態構造影響相當顯著：高水流速度下(1.6m/s)形成緊密結實但厚度較薄的生物膜，反之低水流速度下(0.6m/s)則形成開放毳毛狀且厚度較厚的生物膜；當流體 pH<7 時，對生物膜成長產生抑制作用，中性流體(pH=7)最適合生物膜的成長；如果水體含豐富的營養碳源(葡萄糖濃度>30mg/l)，則會縮短初始形成時間，加速指數成長階段，形成結構蓬鬆、易剝落

的生物膜，故於高原成長階段呈現非常不穩定狀態。此外，值得注意無論任何條件下，生物膜一旦形成即無法試圖藉由增強流體剪切力(shear stress)將其完全去除，顯示如何降低有利於生物膜初始形成環境條件的重要。

緒言

理論上，原水經過適當之物理化學方法處理後，應已去除其中所含之有害懸浮顆粒與病媒細菌，使得水質達到法規之飲用水標準。事實上，調查發現即使在如此不利於微生物生長的飲用水水體環境下(亦即缺乏有機碳源、偏低水溫及添加消毒殺菌藥劑等)，幾乎在所有飲用水輸配管線系統內(drinking water distribution system)，仍然可輕易找到微生物聚積生長的蹤跡。這些可能包含有細菌(bacteria)、黴菌(fungi)、酵母菌(yeasts)和原生動物門(protozoa)等的微生物不只存在於流動水體，而且更傾向附著於管壁上，並透過其新陳代謝反應進行生長與分裂，同時分泌出一種胞外聚合物質(extracellular polymeric substance, EPS)，形成一層所謂生物膜(Biofilms)的類似膠狀(gel-like)物質之複雜菌落群網狀組織。生物膜形成的程序相當複雜，支配形成過程的交互作用機制包含有物理性、化學性與生物性，形成過程基本上依序決定於三個步驟：(1)初始形成階段(initial conditioning phase)；(2)指數成長期(exponential growth phase)；(3)不穩定高原成長階段(unstable plateau phase)。這個因微生物附著管壁表面所生成的生物性結垢(biofouling)現象，經常導致飲用水輸配管線系統衍生諸多問題，包括：惡化飲用水質，造成水質混濁，產生異味與臭氣，提高水媒傳染病之發生率；腐蝕輸配管線，增加管線材料耗用及維修成本；增加流體摩擦牽引力(frictional drag)，導致管線輸送容量降低與傳輸流體所需能源之消耗量增加。

大體上，管線內生物性結垢的控制策略一般採用化學添加劑(chemical additives)與物理方法(physical techniques)兩類(Bott, 1990)。前者主要添加消毒劑以防止生物膜形成，後者則採用如超音波震盪、磁場干擾或嵌入物(inserts)等外力作用以降低微生物附著管線表面的機會。使用化學添加劑的主要優點是加入的

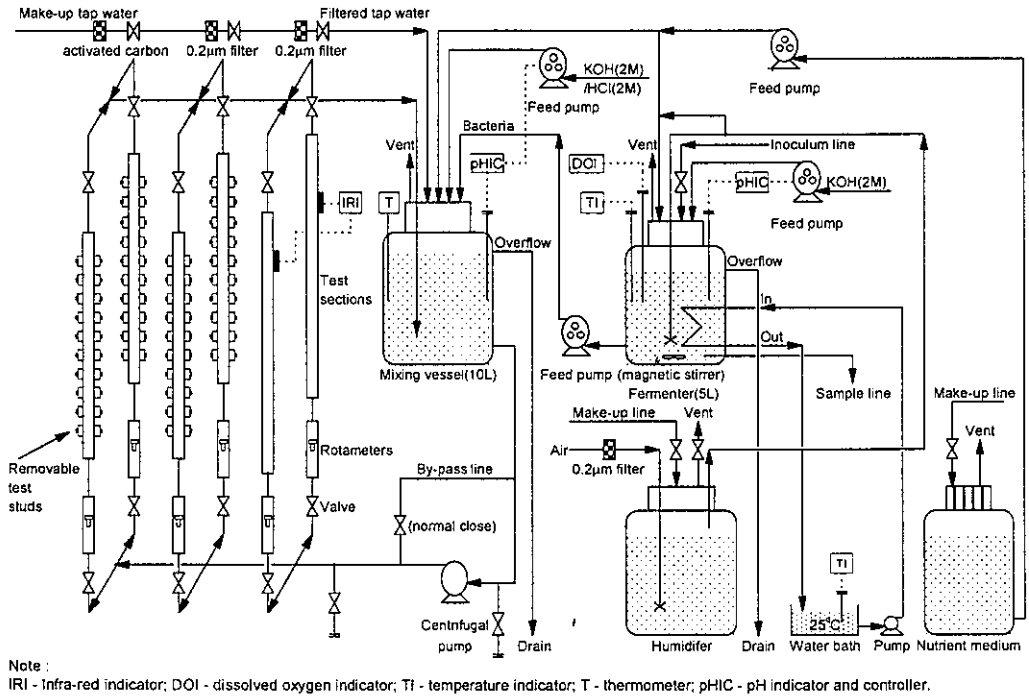
消毒劑能伴隨著水流均勻擴散至系統各角落，因此只要添加化學藥劑種類與劑量選擇正確，即可達到有效的控制效果。然值得注意，研究發現原水中所含之有機污染物極易與添加的化學藥劑產生化學反應，特別是加氯消毒後而衍生如三鹵甲烷 (trihalomethanes, THM_s) 與鹵乙酸類 (haloacetic acids, HAA_s) 等消毒副產物 (disinfection by products, DBP)，其中 THM_s 約佔 DBP 60% 以上，為最主要的自來水消毒副產物。由於 THM_s 對肝、腎具有毒性，且為致癌性物質，儼然已成為飲用水中被高度關切的污染物質。此外，隨環保意識的高漲，攸關水體排放物及其衍生的環境風險，勢必受到更嚴苛的法令規範，甚至於必須達到所謂「零排放(zero discharge)」的要求標準。顯然，環保法規的趨勢暗示著現今使用的化學添加劑處理方式即將受到嚴格管制與挑戰。至於採用物理處理方法以防止生物性結垢產生，目前則尚停留於實驗室研究階段，即使有商業上的應用亦僅侷限於熱交換器。

如何能將化學添加劑的使用劑量降至最低，以減低對生態環境造成的二度污染，同時又能確保飲用水免於微生物滋生形成生物性結垢，則有賴於對飲用水輸配管線系統內生物膜形成機制的瞭解。因此，本研究的目的乃利用一飲用水輸配管線系統模場，選擇以單一菌種 *Pseudomonas fluorescens*，探討不同環境因子如：水流速度、pH 值與碳源(葡萄糖濃度)等對生物膜形成的影響。透過對生物膜特性的明瞭，將可提供吾人思索如何結合上述各種不同處理方法，以有效的去除或減緩(mitigation)生物膜滋生所造成的問題。

方法與設備

本研究以單一菌種 *Pseudomonas fluorescens*(NCMB9046)做為生物膜形成來源，因為它經常被發現以黏膜形式(slime former)附著於一般管線表面或冷卻水塔系統，同時也是水系統內常見的優勢菌種之一(Boyd, 1988)。一座模擬飲用水輸配管線系統模場，被使用於培養生成本研究所需要的生物膜，該模場由三個主要單元組成：混合容器(mixing vessel)、發酵槽(fermenter)和測試管線區(test tubes)，

如圖一所示。有關該模擬系統之詳細操作內容，可參閱 Santos *et al.* (1991)與 Chen(2000)。當補充過濾水、特定培養基溶液與來自發酵槽之純菌 *Pseudomonas fluorescens* 等三股連續進料流同時進入混合容器，則經由離心泵輸送穿過生物膜形成的測試管線區，模場可長時間連續運轉。測試管線區由六支 100cm 長× 1.8cm 內徑之直立玻璃管線組成，其中四支管線各具有二十個採樣點(test studs)，以收集生物膜樣本。其餘二支管線則分別裝置有移動式紅外線偵測儀(infra-red monitor device)，以記錄生物膜的成長(Tinham 與 Bott, 2003)。特定培養基組成與模場操作條件分列於表一與表二。



圖一：含發酵槽系統和生物膜形成設備之飲用水輸配管線系統模場概要圖

表一：培養基組成(g/l)

Mineral salts		Trace elements		Glucose	
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	1.01	MnSO ₄ ·4H ₂ O	13.30 × 10 ⁻³	C ₆ H ₁₂ O ₆	5.00
Na ₂ HPO ₄	5.50	H ₃ BO ₃	3.000 × 10 ⁻³		
K ₂ SO ₄	1.75	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	2.000 × 10 ⁻³		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.10	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.240 × 10 ⁻³		
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0.83	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025 × 10 ⁻³		
NH ₄ Cl	3.82	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.024 × 10 ⁻³		

表二：模場操作條件

系統作業容積(L)	17
補充過濾水進流率(l/h)	34
培養基溶液進流率(l/h)	0.1
微生物進流率(l/h)	0.03
滯留時間(min)	30
溫度(°C)	27±3
PH	5.5, 7.0, 8.5
葡萄糖濃度(mg/l)	15, 30, 45
懸浮細菌濃度(cells/ml)	2×10 ⁶
測試管線區流體流速(m/s)/相對雷諾數	0.6/13000, 1.0/21000, 1.6/34000

結果與討論

圖二所示為在某一特定流速與操作條件下，管線內生物膜成長過程的典型輪廓，基本上依序如圖二所示之三個步驟：(I)初始形成階段(initial conditioning phase)、(II)指數成長期(exponential growth phase)與(III)不穩定高原成長階段(unstable plateau phase)。圖三為對應於圖二所示 A、B、C、D、E 與 F 等六點的管線內生物膜成長記錄相片，其中點 A 代表實驗前乾淨的管線。初始形成階段期間，可觀察到浮游細菌隨機附著於管壁，形成微菌落點(microcolony spots)，見圖三(B)。隨著微菌落數量的逐漸增多，可發現細菌以指數增加方式從每一菌落點快速繁衍生長，且很快的形成生物膜覆蓋整支管壁，如圖三(C)所示。在此指數成長期間，生物膜的發展主要受控於生物膜內細菌的繁殖生長，而不再是流體

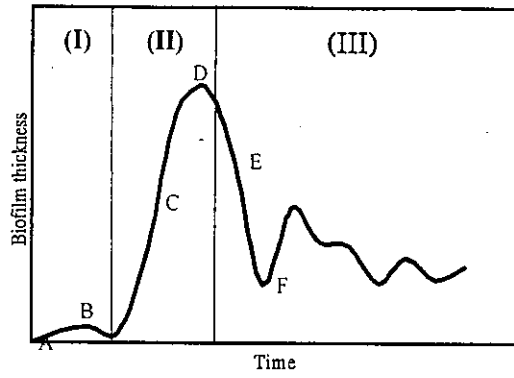
中浮游細菌額外附著於管壁所造成。當生物膜持續發展至指數成長期之高峰時(圖三(D))，生物膜即自管壁開始產生局部脫離(detachment)現象(圖三(E))。生物膜的脫離機制至今尚未完全明朗，除了導因於流體剪切力之連續擦蝕作用外，亦與生物膜的生成環境有關。生物膜脫離後會持續再度生長，可見於圖三(F)。由於生物膜的脫離與再生之交互作用，導致繼指數成長期後之生物膜成長曲線呈現消長波動，形成所謂不穩定高原成長階段(unstable plateau phase)。圖四顯示在不同流速下生物膜的成長曲線，圖五則顯示不同流速所形成的生物膜之形態結構。顯然，高水流速度下(1.6m/s)容易形成緊密結實、厚度較薄且結構穩定的生物膜，反之低水流速度下(0.6m/s)則形成開放毬毛狀、厚度較厚但卻容易自管壁剝落(slough)的生物膜。生物膜的成長同時也受到水體酸鹼度的影響，圖六指出中性水體(pH=7.0)最有利於生物膜的成長，酸性水體(pH=5.5)則對生物膜的成長產生強烈的抑制作用，而鹼性水體(pH=8.5)的影響則較為緩和。葡萄糖(碳源)濃度對生物膜成長的影響顯示於圖七，根據 Characklis(1980)，理論上碳源濃度愈高，生物膜的成長速度則愈快，但是相對於所形成的生物膜，其結構卻較為鬆散。由圖七可見較大的生物膜平均厚度與成長速度發生於葡萄糖濃度為 30mg/l 而非 45mg/l 的條件下，主要原因可能是在極高葡萄糖濃度(45mg/l)條件下快速形成的生物膜，由於結構鬆散而易於受到流體剪切力之沖蝕作用，造成生物膜脫離而呈現其平均成長厚度較低的原故。圖八顯示藉由調整管線內流體流速增加流體剪切力(shear stress)，測試於不同流速下(即 0.6m/s、1.0m/s 與 1.6m/s)已發展完全的生物膜對所附著管壁的相對黏著強度(relative adhesive strength)。至於相對黏著強度的指標，則是以增加流體剪切力後，衡量該生物膜厚度減少的百分比來表示。由圖八結果發現，形成於高流速下的生物膜，其相對黏著強度愈大，對流體剪切力具較大的阻抗。此外，當持續增加流體剪切力時，所導致生物膜厚度減少的百分比亦逐漸趨緩，值得注意該漸近趨緩值並無法達到 100%，此意味著生物膜一旦形成即無法試圖藉由增強流體剪切力(shear stress)將其完全去除。

結論

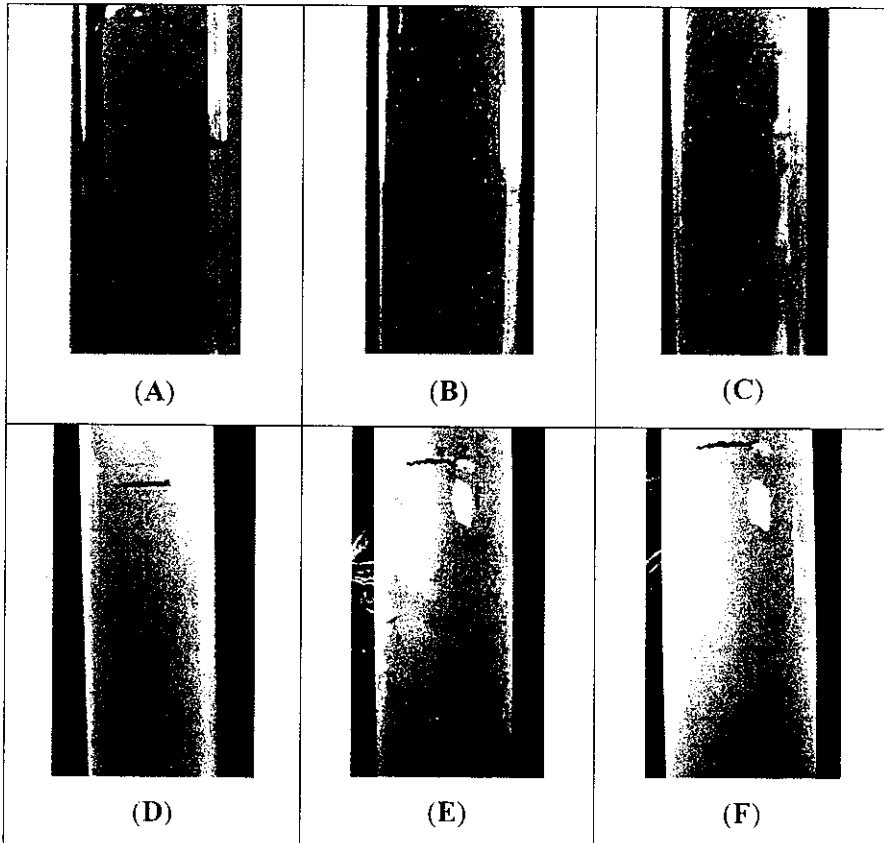
生物膜於管線系統內的成長機制與其結構型態，取決於水體環境條件。透過對其形成機制的瞭解，可提供吾人思索如何結合物理與化學等各種不同處理方法，有效的去除或減緩生物膜滋生所造成的飲用水污染的衛生問題。此外，應注意生物膜一旦形成即不易將其完全去除，顯示如何降低有利於生物膜初始形成環境條件的重要。

參考文獻

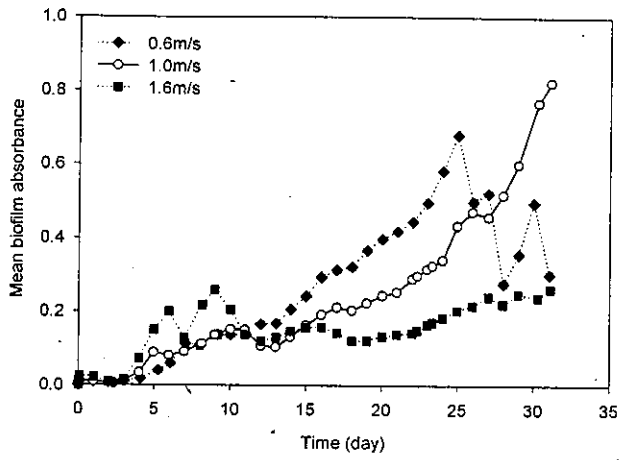
- Bott, T.R. 1990. Fouling Notebook, Rugby; IchemE.
- Boyd, R.F. 1989. General Microbiology. Times Mirror/Mosby CollegePub., St. Louis.
- Characklis, W.G. 1980. Biofilm development and destruction. Final Report, EPRI CS-1554, Project RP902-1, Electric Power Research Institute, Palo Alto, CA.
- Chen, M.J. 2000. Mechanical strength and destruction of biofilms in pipes. PhD thesis, University of Birmingham, England.
- Santos, R., Callow, M.E., Bott, T.R. 1991. The structure of *Pseudomonas fluorescens* biofilms in contact with flowing systems. Biofouling 4: 319-336.
- Tinham, P., Bott, T.R. 2003. Biofouling assessment using an infrared monitor. Wat. Sci. Tech. 47: 39-43.



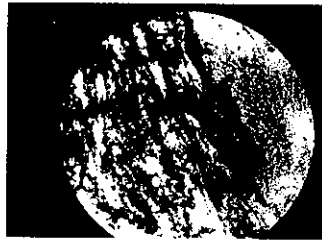
圖二：某一特定流速與操作條件下，管線內生物膜成長過程的典型曲線輪廓



圖三：對應於圖二所示 A、B、C、D、E 與 F 等六點的生物膜成長記錄相片



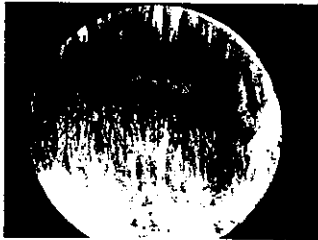
圖四：不同水流速度下生物膜的成長曲線



0.6 m/s



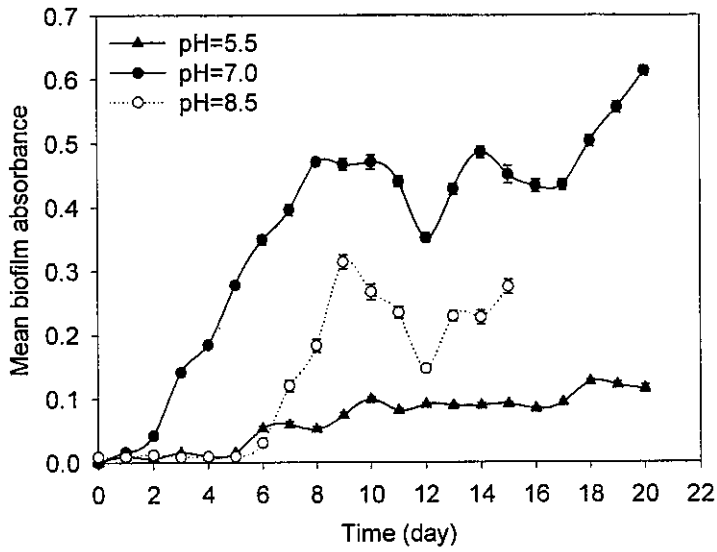
1.0 m/s



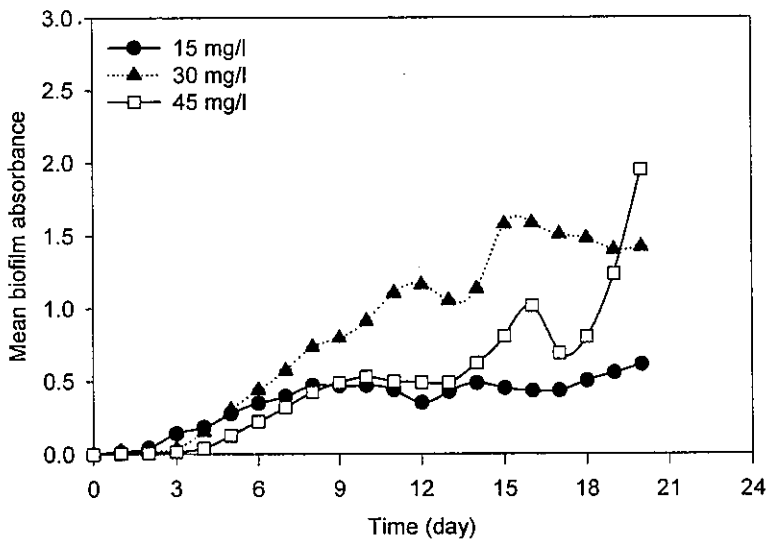
1.6 m/s

圖五：水流速度對生物膜形態構造的影響

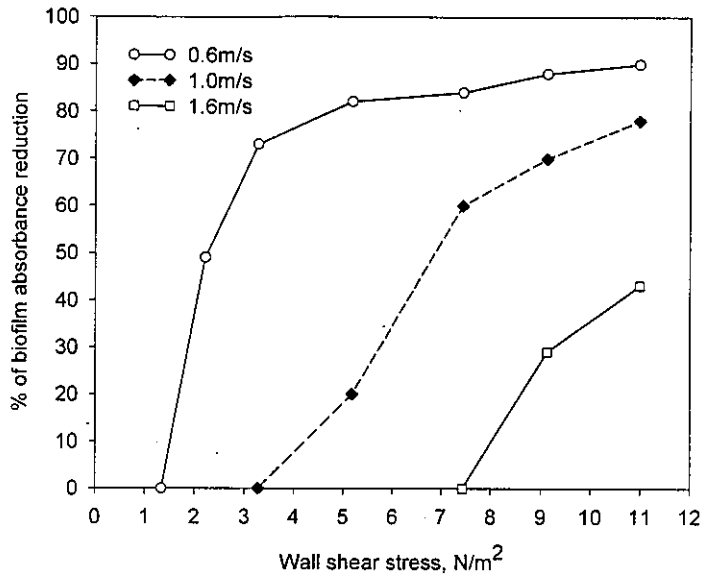
Fluid velocity = 1.6 m/s



圖六: pH 值對生物膜成長的影響



圖七: 葡萄糖(碳源)濃度對生物膜成長的影響



圖八：不同水流速度下形成的生物膜對管壁的相對黏著強度