

3M测试片法在膜法水处理技术中的应用

侯秀华, 万国晖, 杨永强, 王玉洁, 孙 静

(中国石化 北京化工研究院环保所, 北京 100013)

[摘要] 采用3M测试片法测定膜法水处理系统的细菌总数, 找出双膜系统的微生物污染环节, 并采用正交实验筛选出适宜的杀菌剂种类、杀菌剂加入量和杀菌时间。实验结果表明: 3M测试片法的测定结果数据准确可靠, 且操作简便, 节省时间, 可以替代常规的平皿培养法用于评价膜的微生物污染情况; 某炼化公司双膜系统的反渗透膜已受到微生物的污染, 确定的适宜杀菌条件为杀菌剂Trsea 380、杀菌剂加入量50 mg/L、杀菌时间2.0 h, 在此条件下杀菌率可达100%。

[关键词] 膜技术; 微生物污染; 细菌总数; 测试片; 杀菌剂; 废水处理

[中图分类号] X502 [文献标志码] A [文章编号] 1006-1878(2014)02-0137-04

Application of 3M Petrifilm Method in Membrane Technology for Water Treatment

Hou Xiuhua, Wan Guohui, Yang Yongqiang, Wang Yujie, Sun Jing

(Environmental Protection Institute of Beijing Research Institute of Chemical Industry, SINOPEC, Beijing 100013, China)

Abstract: 3M Petrifilm was used to determine the total bacterial count in membrane system for water treatment, find out the microbial fouling sites in double membrane system, and screen suitable bactericide, dosage and sterilization time through orthogonal tests. The experimental results show that 3M Petrifilm method is accurate, simple and rapid, which can replace the conventional plate culture method in membrane microbial fouling evaluation. The reverse osmosis membrane in the double membrane system of a refining and chemical company was fouled by microorganism, and the suitable sterilization conditions were determined as follows: bactericide Trsea 380, bactericide dosage 50 mg/L, sterilization time 2.0 h. Under these conditions, the sterilization rate is 100%.

Key words: membrane technology; microbial fouling; total bacterial count; testing film; bactericide; wastewater treatment

微生物是造成膜法水处理系统(膜系统)污染的主要因素之一^[1]。现阶段大多数企业都在用污染指数(SDI, 也称FI)表征膜系统的微生物污染状况。由于SDI是一个综合指标, 虽然能在一定程度上反映微生物对膜系统的污染程度, 但二者并未建立准确的定量关系, 不能准确表征微生物对膜系统污染的影响^[2-6]。为了及时评价膜系统的微生物污染程度, 需要对微生物进行快速检测。目前微生物的快速检测方法有多种, 包括快速测试片法、实时定量聚合酶链式反应(PCR)法、酶联免疫吸附法、传感器法、代谢产物测定法、直接计数法、Simplate全平皿计数法和色谱法等。这些测试方法主要应用在食品、化妆品、饮用水等的微生物检测

中。其中大部分方法或因设备和试剂比较昂贵、或因操作过程较为复杂、或因实验条件较为严格, 使其适用范围受到限制^[7-14]。相对而言, 快速测试片法是一种经济、简便且比较快捷的方法, 更容易推广使用。快速测试片法又包括滤纸片测试法和以Petrifilm为载体的3M测试片法。但前二者检出限较高且数值比平皿培养法偏低。3M测试片法是一种操作简便的菌落总数测试方法, 目前尚未在环境水

[收稿日期] 2013-07-08; [修订日期] 2013-12-22。

[作者简介] 侯秀华(1973—), 女, 北京市人, 大学, 高级工程师, 研究方向为废水、废气和废渣中污染物的分析检测。电话 010-59202288, 电邮 houhx.bjhy@sinopec.com。

样的检测中推广使用,所以是否能应用于膜的微生物污染检测,还要经过实验确定^[15-16]。

本工作采用3M Petrifilm细菌总数测试片(3M测试片)建立了一种比较准确的膜系统微生物污染的评价方法,可为膜系统污染的原因分析提供快速、可靠的数据支持。

1 实验部分

1.1 试剂、材料和设备

营养琼脂:生化试剂; Na₂S₂O₃:分析纯;无

水乙醇:分析纯。杀菌剂XDD-WKB:武汉新大地水处理有限公司;杀菌剂Trsea 380:宜兴全泽化工有限公司;杀菌剂TH-410:山东泰和水处理有限公司。

对比实验水样取自A炼化公司污水处理站反渗透(RO)装置出水,水质为pH=8~9、TOC=1.0~5.0 mg/L、总硬度15~30 mg/L。

应用实验水样取自B炼化公司污水处理厂超滤(UF)-RO(双膜)处理装置。应用实验水样的水质见表1。

表1 应用实验水样的水质

水样	TOC	总硬度	TN	ρ (总油)	ρ (石油类)	ρ (可溶硅)	pH
UF进水	7.58	151.95	5.01	0.88	0.57	14.62	8.34
UF出水	7.45	136.76	5.01	0.94	0.68	16.12	8.24
RO进水	7.01	128.65	5.16	0.91	0.59	14.32	8.30
RO出水	3.20	23.30	0.64	1.44	0.58	0.38	8.20
RO浓水	16.90	415.33	14.97	2.06	0.64	43.92	8.41

3M测试片:美国3M公司。

ZHJH-C1112C型超净工作台:上海智城分析仪器制造有限公司;D-1型自动蒸汽灭菌锅:北京发恩科贸有限公司;INB-400型恒温培养箱:德国memmert公司;菌落自动判读仪:美国3M公司。

1.2 采样和水样的稀释

采样瓶在121℃下灭菌20 min。如果水样中含有余氯,需在500 mL采样瓶中加入0.3 mL 10% (w) Na₂S₂O₃溶液再灭菌。水样采集量为采样瓶容量的80%左右。

选择适宜的水样稀释度,使培养后的细菌总数为30~300 CPU/mL。

1.3 3M测试片的测定原理及方法

3M细菌总数测试片是一种预制的培养基系统,由上下两层薄膜组成:上层聚丙烯薄膜含有黏合剂、氯化三苯氯唑(TTC)指示剂及冷水可溶性凝胶;下层聚乙烯薄膜含有细菌生长所需的营养琼脂培养基。将1 mL稀释的水样滴加到3M测试片上,用压板将上层膜平稳地压下,使水样均匀覆盖于固形培养基上,(37±1)℃下培养48 h。细胞代谢产物与上层的TTC指示剂发生氧化还原反应,将指示剂还原成红色非溶解性产物三苯甲脂,在测试片上呈红色或粉红色,用菌落计数器对菌落进行计数。具体方法详见行业标准SN/T 1897—2007《食品中菌落总数的测定 Petrifilm™测试片法》^[17]。用

无菌水做空白对照。

1.4 实验方法

1.4.1 3M测试片法与平皿培养法的对比

采用对比实验水样,分别用3M测试片法和常规平皿培养法测定其细菌总数。比较两方法的准确度和精确度。

1.4.2 3M测试片法的应用

1.4.2.1 膜系统中细菌总数的检测

采用应用实验水样,以3M测试片法检测水样中的细菌总数。

1.4.2.2 RO膜专用非氧化性杀菌剂的选择

取B炼化公司RO进水,分别加入杀菌剂XDD-WKB, Trsea 380, TH-410,在实验室RO装置上进行动态杀菌实验。依据L₉(3³)正交表设计实验,筛选适宜的杀菌剂种类、杀菌剂加入量和杀菌时间。采用3M测试片法测定杀菌前后水样的细菌总数,计算杀菌率,比较各杀菌剂的杀菌效果。杀菌剂加入量和杀菌时间的取值范围根据杀菌剂供应商提供的使用说明确定。

2 结果与讨论

2.1 3M测试片法与平皿培养法的对比

2.1.1 3M测试片法的准确度

取不同时间段的对比实验水样,3M测试片法和平皿培养法的细菌总数测定结果见表2。由表2可

见, 两种方法的细菌总数测定结果相差不大。利用T检验法对两种方法的数据进行显著性差异分析, $P(\text{双尾})=0.71 (\geq 0.05)$, 说明3M测试片法和平皿培养法的细菌总数测定结果没有显著性差异。这表明简单易行的3M测试片法在膜系统的微生物检测中是准确可靠的。

2.1.2 3M测试片法的精确度

3M测试片法对5#水样的平行实验结果见表3。由表3可见, 3M测试片法和平皿培养法的相对标准偏差分别为4.8%和5.0%, 说明3M测试片法比平皿培养法更精密。

表2 3M测试片法和平皿培养法的细菌总数测定结果

水样	稀释倍数	细菌总数/(CFU · mL ⁻¹)	
		3M测试片法	平皿培养法
1#	1	120	140
2#	10	336	336
3#	1	123	115
4#	10	319	318
5#	1	293	288
6#	1	169	176
7#	1	208	204
8#	10	359	365
9#	10	340	341
10#	1	158	152

表3 3M测试片法对5#水样的平行实验结果

测定次数	3M测试片法		平皿培养法	
	细菌总数/(CFU · mL ⁻¹)	相对标准偏差/%	细菌总数/(CFU · mL ⁻¹)	相对标准偏差/%
1	293		286	
2	287		275	
3	299	4.8	283	5.0
4	290		279	
5	288		287	

2.2 3M测试片法在膜法水处理技术中的应用

2.2.1 膜系统中细菌总数的检测

B炼化公司双膜处理装置中细菌总数的检测结果见表4。由表4可见: UF出水的细菌总数仅为10 CFU/mL, 细菌去除率达到了99.6%, 表明UF系统对细菌有较好的去除效果; RO进水的细菌总数是UF出水的3 250倍, 表明废水从UF出口流至RO进口的过程中受到了污染, 或因管路太长且环境适宜导致细菌滋生迅速, 因此, 在实际运行过程中要对可能引入微生物污染的环节(如UF装置后续的中间水箱、RO装置的前置保安过滤器等)加强抑菌措施; RO出水的细菌总数是RO进水的3.1倍, 不降反增, 由此可判断RO膜已受到微生物的污染, 需要采取杀菌措施。

表4 B炼化公司双膜处理装置中细菌总数的检测结果

水样	细菌总数/(CFU · mL ⁻¹)
UF进水	2.50 × 10 ³
UF出水	10
RO进水	3.25 × 10 ⁴
RO出水	1.00 × 10 ⁵

2.2.2 RO膜专用非氧化性杀菌剂的筛选

筛选杀菌剂的正交实验因素水平见表5, 正交实验结果见表6。

表5 正交实验因素水平

水平	因素A	因素B	因素C
	杀菌剂种类	杀菌剂加入量/(mg · L ⁻¹)	杀菌时间/h
1	XDD-WKB	5	0.5
2	Trsea 380	10	1.0
3	TH-410	50	2.0

表6 正交实验结果

实验号	因素水平			杀菌率/%
	A	B	C	
1	1	1	1	70.0
2	1	2	2	70.8
3	1	3	3	100
4	2	1	3	100
5	2	2	1	100
6	2	3	2	100
7	3	1	2	76.1
8	3	2	3	73.1
9	3	3	1	95.7
k ₁	80.3	82.0	81.0	
k ₂	100.0	81.3	88.8	
k ₃	81.6	98.6	92.0	
R	19.7	16.6	11.0	

由表6可见: 以杀菌率为考察指标时, 各因素的影响大小顺序为杀菌剂种类>杀菌剂加入量>

杀菌时间；最佳工艺条件为 $A_2B_3C_3$ ，即杀菌剂选择Trsea 380、杀菌剂加入量50 mg/L、杀菌时间2.0 h。在此杀菌条件下，以B炼化公司RO进水进行动态杀菌实验，杀菌率达到100%。

3 结论

a) 3M测试片法可应用于膜系统的微生物检测，数据准确可靠，测定结果的准确度和精密度均达到要求，可以替代常规的平皿培养法。

b) 3M测试片法在测定过程中省去了大量的前期准备工作，且菌落生长典型，可采用计数器计数，操作简便，节省时间，在实际应用中具有优越性。

c) 3M测试片法可用于测定膜系统进出水中的细菌总数，以此评价膜的微生物污染情况。测试结果显示，B炼化公司双膜系统的RO膜已受到微生物的污染。

d) 针对特定的污水，采用3M测试片法可较方便快速地选择有效的杀菌剂。对于B炼化公司RO进水，适宜的杀菌条件为：杀菌剂Trsea 380，杀菌剂加入量50 mg/L，杀菌时间2.0 h，杀菌率可达到100%。

参 考 文 献

- [1] Mulder M. 膜技术基本原理[M]. 李琳译. 第2版. 北京: 清华大学出版社, 1999: 1-12.
- [2] 杨永强, 王玉杰, 万国晖, 等. 超滤膜系统污染物的形貌及组成分析[J]. 化工环保, 2012, 32(2): 189-192.
- [3] 李宝, 高大文, 付源. 不同膜污染阶段微生物特征与膜污染的关系[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2013, 45(2): 31-35.
- [4] Shen Yuexiao, Zhao Wentao, Xiao Kang, et al. A systematic insight into fouling propensity of soluble microbial products in membrane bioreactors based on drophobic interaction and size exclusion[J]. J Membr Sci, 2010, 346: 187-193.
- [5] 冯向东. 影响反渗透进水SDI值得因素及控制措施[J]. 热力发电, 2007(9): 75-76, 91.
- [6] 高秀红, 刘子明. 溶解性微生物代谢产物对膜污染的影响与控制研究[J]. 环境科学与管理, 2013, 38(7): 87-89.
- [7] 张峻峰, 刘道亮, 赵占民, 等. 流式细胞术在微生物快速检测领域的研究进展[J]. 食品工程, 2010, 3(9): 19-22.
- [8] 李利霞. ATP生物发光法检测食品细菌总数试剂盒的研究[D]. 武汉: 武汉工业学院, 2011.
- [9] 袁莉红, 原铨. 牛奶中细菌总数快速检测方法的建立及初步应用[C]//上海美凯纯生物科技有限公司. 2011年第四届国际食品安全高峰论坛论文集, 北京: 北京食品学会和北京食品协会, 2011: 238-240.
- [10] 牛玉倩, 孙宇梅, 何聪芬. 细菌总数快速检测技术的研究现状[J]. 香料香精化妆品, 2011, 12(6): 51-55.
- [11] Hoszowski A. Rapid detection and enumeration of Salmonella in chicken carcass rinses using filtration, enrichment and colony blot immunoassay[J]. Inter J Food Microb, 1996, 28(3): 341-350.
- [12] 洪炳财, 陈向标, 赖明河. 食品中微生物快速检测方法的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2013, 19(5): 15-18.
- [13] 史师. ATP荧光法快检系统实现细菌总数快速检测[J]. 食品安全导刊, 2008(3): 51-52.
- [14] 鲁巍, 王云, 张晓健. 饮用水中几种细菌计数方法的比较[J]. 环境科学, 2004, 25(4): 167-169.
- [15] 宋春花. 3M测试片检测原料乳菌落总数的比较试验[J]. 食品安全与检测, 2004, 11(11): 60-61.
- [16] 中华人民共和国国家进出口商品检验局. SN 0168—1992 出口食品平板菌落计数[S]. 北京: 中国标准出版社, 1993.
- [17] 中华人民共和国出入境检验检疫局. SN/T 1897—2007食品中菌落总数的测定 Petrifilm™测试片法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.

(编辑 叶晶菁)

企业求发展 环保须先行