

管材和流速对供水管道生物膜形成的影响

祝泽兵^{1,2}, 吴晨光^{1,2}, 钟丹^{1,2}, 袁一星^{1,2}, 单莉莉^{1,2}, 张杰^{1,2}, 袁媛^{1,2}

(1.哈尔滨工业大学 城市水资源与水环境国家重点实验室, 150090 哈尔滨;

2.哈尔滨工业大学 市政环境工程学院, 150090 哈尔滨)

摘要: 针对供水管网中不断变换的管材和水力条件,运用异养菌计数和PCR-DGGE技术研究了特定余氯质量浓度下管材和流速对水质和管道生物膜形成的影响.结果表明:管材对主体水余氯、TOC、细菌总数和生物膜群落结构影响均较大,而流速只对主体水余氯和生物膜细菌总数影响较大;同一时期,PE管道附着细菌总数显著大于不锈钢;同类管材中0.2和0.4 m/s流速下生长的生物膜细菌总数差异不显著,但均显著大于0.8 m/s流速下生长的生物膜细菌总数;生物膜成熟时鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)占优势且广泛存在,而某些疏水性细菌则较难在不锈钢管材上聚集,特别是在流速增大时更难聚集.

关键词: 管材;流速;生物膜;微生物群落结构

中图分类号: TU991.21

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2014)10-0031-06

Interaction of flow velocities and pipe materials on biofilm formation

ZHU Zebing^{1,2}, WU Chenguang^{1,2}, ZHONG Dan^{1,2}, YUAN Yixing^{1,2}, SHAN Lili^{1,2}, ZHANG Jie^{1,2}, YUAN Yuan^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China;

2. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China)

Abstract: The flow velocities and pipe materials may be variable in drinking water distribution system, and their interaction on the water quality and biofilm formation under a certain chlorine level have been investigated. Heterotrophic plate counts and denaturing gradient gel electrophoresis were employed to analyze biofilm formation, and the results showed that the chlorine, TOC of bulk water, total bacteria counts and microbial community structure were all varied in pipe materials, while flow velocities only affected the chlorine of bulk water and biofilm biomass. In the same time, PE pipes attached significantly greater biofilm biomass than stainless steel. The biofilm biomass grown under flow velocities 0.2 and 0.4 m/s were significantly greater than that under 0.8 m/s, but the biofilm growth between 0.2 and 0.4 m/s were not significant. In the mature biofilm microbial community, *Sphingomonas* sp. and *Bacillus* sp. were dominant in all biofilms, while the hydrophobic bacteria were difficult to grow on the stainless steel pipe, especially under high flow velocities.

Keywords: pipe materials; flow velocities; biofilm; microbial community structure

供水管网系统是一个在贫营养条件下维持较高质量浓度余氯的极端环境体系,很多微生物仍然能够存活于供水管网系统中^[1].由于管道内壁具有

较大的比表面积,供水管网系统至少有95%的微生物附着在管道内壁生长.这些附着在管壁生物膜的微生物会威胁饮用水的水质安全.一方面在供水管网中贫营养条件下生长的微生物对余氯具有较高抵抗性,甚至在极高的余氯条件(10或25 mg/L)下,管壁生物膜的微生物仍然可以再生长并使氯衰减^[2];另一方面,生物膜在水力冲刷下会带来感官学(如视觉、嗅觉、味觉等)和卫生学(如致病微生物)问题^[3].因此,对供水管网管壁生物膜形成、生长发育和控制的研究受到广泛关注.

收稿日期: 2013-10-12.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(青年)(51108123);
城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学)自主课题(2014TS08).

作者简介: 祝泽兵(1984—),男,博士研究生;

袁一星(1957—),男,教授,博士生导师;

张杰(1938—),男,博士生导师,中国工程院院士.

通信作者: 钟丹, zhongdan2001@163.com.

供水管网中诸多因素如水力条件、管材、消毒剂类型及浓度、水体中营养物质浓度等都会影响生物膜的形成和生长^[4]。通常,经自来水厂处理合格的饮用水,由供水管网系统输送至用户龙头时,管材和水力条件会随着供水管网的延伸而发生明显的变化^[5]。无论管道材质如何,管道内壁都会形成生物膜^[6]。同时,水力条件的变换对生物膜的累积和脱落具有重要作用,以往研究多集中在水力、水质条件对生物膜生物量形成的影响上^[4,7],而关于水力条件与管材因素对生物膜形成的交互影响的研究较少,有关管材和水力条件模拟试验研究的报道还不多见。本文通过动态供水系统模拟试验,研究了管材和流速对水质、管壁生物膜生物量形成和种群变化的影响,以为供水管网管壁生物膜的控制奠定理论基础,对于保证饮用水在供水管网系统中的安全输送具有重要意义。

1 实验

1.1 实验装置及方法

采用 6 套管道模拟系统并联运行,共用一个高位水箱,模拟不同管材和流速的供水管道,管道模拟系统示意图 1。其中高位水箱材质为 304 不锈钢,容积为 1.2 m³,低位水箱材质为 PVC,容积为 50 L,管段生物膜反应器为 20 段串联的小管段,PE 管段长 10 cm,由外径 30 mm、壁厚 3 mm 的新管道加工而成。304 不锈钢管段长 12.5 cm,由外径 25 mm、壁厚 1 mm 的新管段加工而成。高位水箱连接到低位水箱的干管为 304 不锈钢管,其他辅助管道材料为 PVC 管,阀门为不锈钢材质。实验装置组装前,将新购置的 PVC 管和低位水箱用 10 mg/L 的 NaClO 溶液浸泡 1 个月,期间每 3 d 换一次水,以降低 PVC 材质对水质的影响。之后,将实验新管段、PVC 管和低位水箱先用洗液清洗一遍,再用 70% (体积分数) 乙醇浸润冲洗一遍,用去离子水冲洗 3 遍,干燥待用^[8]。实验装置组装后,将自来水注入高位水箱,加入 NaClO 溶液搅拌使其余氯终质量浓度约为 30 mg/L,开启阀门 1 和水泵 1,待 30 mg/L 余氯的自来水注满低位水箱后关闭阀门 1 和水泵 1,此时开启阀门 2、3、4 和水泵 2 以一定流速闭路循环运行 2 h,之后开启阀门 5 将水排出。此后重复上述步骤通过开关阀门和水泵状态注水、排水运行数次,以去除新管道模拟系统残留的微生物和杂质。管道模拟系统前处理完毕后,自来水注入高位水箱,加入 NaClO 溶液 (pH 调至近中性) 后搅拌稳定 2 h。此后开启阀门 1、2、3、5 和水泵 1、2,以新配制水样

代替低位水箱和实验管道旧水,避免引入空气和扰动管道沉淀物,使水通过管道模拟系统直流排出,整个排出置换水过程持续约 10 min; 此后,先开启阀门 4,待自来水注满低位水箱后关闭阀门 1 和水泵 1,再关闭阀门 5。通过调节阀门 2、3、4 使水样分别以 0.2、0.4 和 0.8 m/s 的流速在管道内闭路循环流动 12 h。此后保持水泵 2 的开启和阀门 2、3、4 的开启度,通过调节阀门 1、5 和水泵 1 开关状态使管道模拟系统直流排出置换水和闭路循环流动交替运行直至实验结束 (生物膜取样时除外)。整个实验期间通过调节高位水箱的加氯量保持低位水箱进水余氯约为 1.0 mg/L,进水异养菌总数 (HPC) 约为 5 CFU/mL, pH 约为 7.32,其他进水水质指标见表 1。定期校准流速,实时调节阀门 2、3、4 的开启度,以保证流速相对恒定。

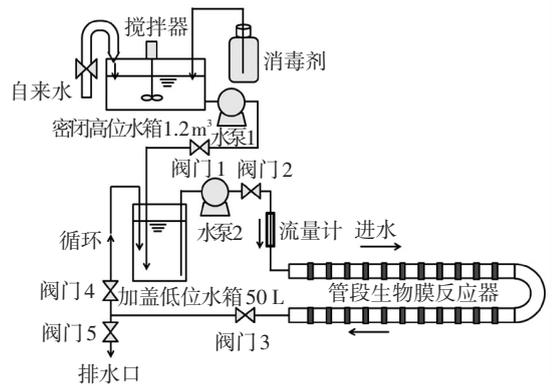


图 1 管道模拟系统示意

1.2 生物膜取样方法

在反应器运行至 7、14、21、35、56、77、98 d 时关闭泵 2 和阀门 2、3、4,分别从 6 套管道模拟系统中各自小心竖直拆卸 (尽量确保其他未拆管段充满水) 2 段管段进行异养菌 (HPC) 计数。每次采样结束组装好系统后,通过调节阀门和水泵状态先直流排出置换水后再恢复至正常循环运行工况。反应器运行至 119 d 时,分别收集管道模拟系统中剩余 6 段管段内壁生物膜进行 HPC 测定和 PCR-DGGE 分析。将取下的管段用无菌小毛刷刷取管段内壁生物膜^[7],并将其悬浮于 10 ~ 30 mL 灭菌蒸馏水中。

1.3 生物膜和进出水 HPC 测定

将待计数的生物膜悬浮液置于超声振荡器中冰浴超声振荡 1 min,间歇 1 min,如此重复 3 次,再漩涡振荡 30 s,使生物膜细菌能够均匀分布在悬浮液中,之后将悬浮液稀释适宜质量浓度在 R2A 固体培养基上进行异养菌总数计数 (HPC)。对于主体水,用 0.22 μm 滤膜过滤 10 ~ 100 mL 的水样,然后将滤膜截滤微生物的一面向上贴于 R2A 固体培养基上进行 HPC 计数。将处理好的

R2A 培养基平板放于 20 °C 倒置恒温培养 10 d, 即可获得异养菌平板计数。

1.4 生物膜 DNA 提取和 PCR-DGGE 分析

将生物膜悬浮液用 PowerSoil™ DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, Inc., CA, USA) 试剂盒提取生物膜上细菌总 DNA。PCR 及 DGGE 分析参照文献[8]进行。PCR 所用引物为真细菌通用引物, 引物序列分别为 8F (5' - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3'), 518R (5' - ATTACCGCGGCTGCT GG-3'), 带 GC 夹。测序结果与 NCBI 的 BlastX 进行序列比对, 并挑选相关序列用 MEGA 5.2 软件构建系统发育树。

1.5 其他水质测定方法

实验中温度、浊度、pH、电导率、TOC、总铁等常规指标分析均按国家标准方法测定^[9], 余氯的测定采用 DPD(N,N-二甲基-1,4-二苯胺) 比色法。

1.6 数据处理方法

水质实验结果表示为平均值±标准误差, 采用 SPSS 13.0 软件对数据进行方差统计分析, 用 F 检验判断实验组间是否存在显著性差异, $p < 0.05$ 表示存在显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 不同条件下进出水水质变化

不同运行条件的设置及其进出水水质变化和方差分析见表 1, 2。经过加氯后的进水水质较好, 变化幅度小, 运行期间进水细菌总数维持在 1~15 CFU/mL, pH 稳定在 7.32 左右。在模拟实际管

道运行工况的实验中, 加氯水在各模拟装置循环流动 12 h 后, 水质均有不同程度变化。其中, 以余氯、TOC 变化最为显著 ($p < 0.001$), 其余水质变化均未达显著水平。各模拟装置进水余氯质量浓度为 0.97 mg/L, 12 h 后衰减至 0.20 mg/L 左右; 进水 TOC 为 2.14 mg/L, 12 h 后增至 2.99~3.59 mg/L。管材对主体水中余氯、TOC 均有显著影响, 而流速只对余氯的衰减影响显著。本实验中管道模拟系统辅助管道和低位水箱材质均为 PVC, 有研究表明, 塑料管材 (PVC、PE 等) 在输送自来水时, 会向水体中溶出可溶性有机碳 (DOC)^[10], 本实验中 PVC 辅助材料大约释放 1 mg/L 的 TOC, 不同装置出水 TOC 均会有不同程度的升高, PE 管道系统和不锈钢管道系统 PVC 辅助材料的接触面积基本相同, 与不锈钢管道系统相比, PE 管材系统出水 TOC 增加更为显著, PE 管材释放的 TOC 为 0.39~0.54 mg/L, 且 PE 管材的出水 TOC 质量浓度随着流速的增大而增加, 但未达显著水平。初始氯质量浓度在 0.97 mg/L 时, 经循环流动 12 h 后, 各装置的氯衰减率均达 74% 以上, 与 Gibbs 等^[11] 在 1 mg/L 余氯质量浓度下培养的 PVC 和镀锌铁管道成熟生物膜的氯衰减率 (0.72 和 0.86) 相近。本实验中 PE 管道生物膜对氯衰减率高于不锈钢管道, 并且流速也是影响 PE 管道中氯衰减的重要因素之一 ($p < 0.01$), 因为 PE 管道本身会释放部分消耗氯的有机物^[10], 流速越快, 释放的有机物就越多, PE 管道附着的生物膜数量也会高于不锈钢。

表 1 不同实验条件下进出水水质变化

运行条件		$t/^\circ\text{C}$	浊度/ NTU	pH	电导率/ ($\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$)	TOC/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	ρ (总铁)/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	ρ (余氯)/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
管材	流速/($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)							
聚乙烯 (PE)	0.2	21.99±3.18	0.62±0.22	7.38±0.06	107.90±11.58	3.38±0.42	0.20±0.09	0.19±0.04
	0.4	21.44±3.15	0.65±0.25	7.39±0.06	103.46±10.41	3.52±0.39	0.20±0.10	0.16±0.04
	0.8	22.98±3.33	0.71±0.26	7.42±0.07	102.15±10.00	3.59±0.40	0.20±0.08	0.15±0.05
不锈钢	0.2	21.81±3.19	0.60±0.19	7.37±0.06	106.75±11.54	2.99±0.42	0.22±0.08	0.25±0.06
	0.4	21.25±3.11	0.61±0.23	7.38±0.06	107.78±10.05	3.13±0.40	0.21±0.08	0.22±0.06
	0.8	22.61±3.23	0.67±0.23	7.41±0.06	110.19±13.16	3.05±0.46	0.21±0.08	0.20±0.07
进水		18.30±3.09	0.46±0.13	7.32±0.06	105.63±8.85	2.14±0.36	0.19±0.07	0.97±0.08

表 2 不同实验条件下出水水质方差分析 (F 检验)

运行条件	温度	浊度	pH	电导率	TOC	总铁	余氯	细菌总数
管材	0.15	0.40	0.30	2.85	29.08***	0.29	32.06***	39.07***
流速	1.79	1.19	3.06	0.21	1.26	0.03	6.94**	0.54
管材×流速	0.748	0.56	1.28	1.24	6.49***	0.08	9.24***	8.13***
PE 管内不同流速	1.00	0.64	1.56	1.36	1.22	0.01	4.44*	0.55
不锈钢管内不同流速	0.79	0.56	1.51	0.39	0.50	0.04	3.14	0.10

***. $p < 0.001$; **. $p < 0.01$; *. $p < 0.05$.

图2是不同运行条件下各管道模拟系统进出水细菌总数随系统运行时间的变化。运行期间管材对出水细菌总数影响显著($p < 0.001$, 见表2)。各装置运行初期(前11 d), 出水细菌总数略低于进水细菌总数。随着运行时间的增加, 各装置出水细菌总数逐步增加。首先是PE管中出水细菌总数快速增加, 第53天后增速放缓, 第81天后出水细菌总数基本维持在1 100~1 800 CFU/mL。流速对其影响不大($p > 0.5$), 在0.4 m/s流速时出水细菌总数略高于0.2和0.8 m/s时。在前39 d不锈钢管中出水细菌总数呈缓慢上升, 之后进入快速上升状态, 第81天后增速放缓, 第96天后出水细菌总数基本维持在480~580 CFU/mL。流速对不锈钢管中出水细菌总数的影响与PE管相似。各装置稳定运行后, 出水细菌总数比进水增加25倍以上。进水经循环流动12 h的时间远少于实际细菌增殖继代的时间(1~17 d), 而且本实验装置是相对封闭的系统, 没有大量外源细菌的引入, 因此, 出水细菌总数主要来源于管壁生物膜上附着细菌的脱落^[12]。

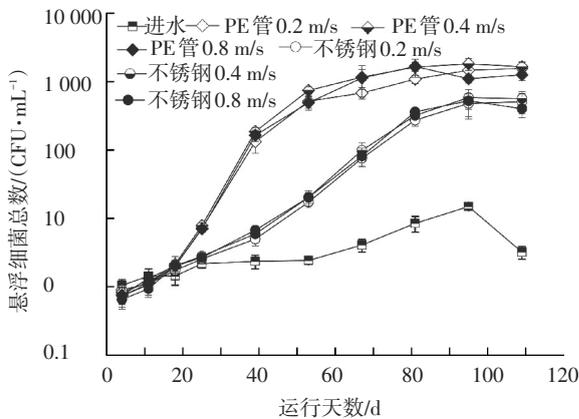


图2 不同实验装置出水细菌总数随时间变化

2.2 不同条件下生物膜上细菌总数变化

图3为不同运行条件下各管道生物膜细菌总数随系统运行时间的变化。整个运行期间, 管材对生物膜上附着细菌总数的影响要大于流速对其的影响。不论何种水力条件, PE管道生物膜细菌总数均显著大于同一时期的不锈钢管道($p < 0.001$), 运行前期(前14 d)PE和不锈钢生物膜细菌总数均快速增长, 21 d后两类管材上附着的细菌总数增速放缓, 至第56天左右PE管道生物膜细菌总数基本稳定, 达7 000~16 000 CFU/cm², 第98天左右不锈钢管道生物膜细菌总数基本稳定, 达2 500~6 000 CFU/cm²。由于塑料管材(PVC、PE等)在输送水时会向水体中溶出DOC和磷^[10], PE管材生物膜上的微生物可以得到更多的营养

物进行增殖生长。不同流速条件下, 0.8 m/s下生长的PE和不锈钢管道生物膜细菌总数均显著低于同类管材中其他流速下生长的生物膜($p < 0.001$), 两类管材均在0.4 m/s下生长的生物膜细菌总数达最大, 但0.2和0.4 m/s下生长的生物膜细菌总数差异均不显著($p > 0.1$)。上述研究结果与Lehtola等^[13]的研究相似, 小于0.3 m/s流速条件下管道生物膜中的生物量随流速的增大而增大, 在0.5 m/s流速条件下管道生物膜中的微生物由于冲刷作用出现明显脱落, 数量开始减少^[13]。研究表明, 生物膜上的生物量增加主要是微生物在管壁上的增殖, 增加流速有助于主体水中的营养物质向生物膜内部扩散, 从而使生物膜中的细菌增殖加快。但是, 流速升高, 对生物膜的冲刷作用加大, 渗透进生物膜内部的消毒剂也增多, 因而生物膜的生长也会受到抑制^[5], 而当流速达3~4 m/s时才足以使大部分生物膜脱落^[13]。因此, 生物膜上的细菌会随着水流速度的增加呈现先增加后显著减少的趋势。

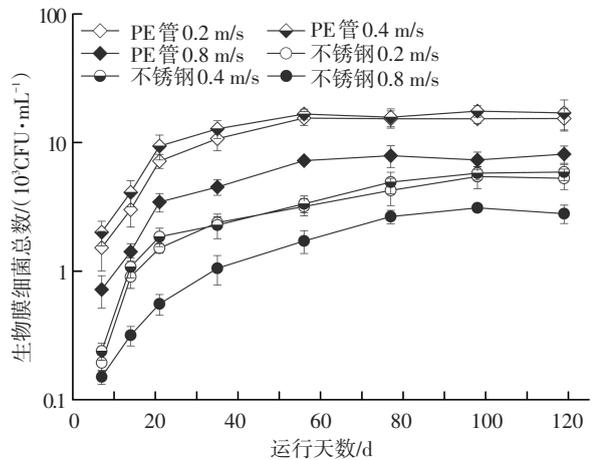


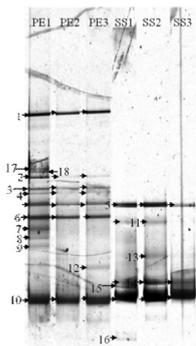
图3 不同实验装置生物膜细菌总数随时间变化

2.3 不同条件下稳定生物膜细菌种群结构变化

在管道生物膜生长达到稳定时, 运用PCR-DGGE技术研究不同运行条件下的管道生物膜细菌种群结构的变化。由图4可以看出, 管材对生物膜上附着细菌种群的影响要大于流速对其的影响, PE管材和不锈钢管材间的条带相似度小于30%, 而同种管材内不同流速间的条带相似度均大于80%。为进一步研究不同运行条件下管道生物膜的细菌种群结构, 从41个条带中挑取了18个有明显代表性的条带进行测序, 测序序列经过NCBI比对做成进化树图(图5)。由图4, 5可知, 变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)在所有6个生物膜样品中均存在, 其中, 变形菌门中主要是 α 变形菌纲

(*Alphaproteobacteria*) 和 γ 变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*), β 变形菌纲 (*Betaproteobacteria*) 则较少. 另外, 放线菌门 (*Actinobacteria*) 在 0.2 m/s 流速下生长的 PE 管道生物膜上也有发现. Zhu 等^[8]的研究也发现在较高质量浓度余氯下 (1.20 mg/L), α 变形菌纲和 γ 变形菌纲存在较多, β 变形菌纲相对较少, 这可能是由于 β 变形菌纲对氯较敏感, α 变形菌纲和 γ 变形菌纲对氯相对较为迟钝, 而且 α 变形菌纲更能在贫营养条件下生长.

从条带的相对亮度看, α 变形菌纲中的鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas echinoides*, 条带 10) 和厚壁菌门中的蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*, 条带 5) 在所有 6 个生物膜样品中均存在且相对数量较多, 不锈钢管生物膜中相对含量要高于 PE 管生物膜. 鞘氨醇单胞菌属能够利用多种碳源, 并且可以分泌胞外聚合物 (EPS), 有助于其更迅速地黏附在管壁上, 并能抵抗较高质量浓度的氯^[14]. 芽孢杆菌属具有特殊的生理多样性, 能够在不利环境条件下形成芽孢, 在度过不利条件后又能重新扩增繁殖, 这些具孢子的细菌能够更加耐氯^[15]. 由此可见, 某些具生理多样性 (孢子) 或易分泌胞外聚合物等特殊性质的细菌容易在各类管壁上聚集而成为优势菌.



泳道 PE1: PE 管, $v=0.2$ m/s;
PE2: PE 管, $v=0.4$ m/s;
PE3: PE 管, $v=0.8$ m/s;
SS1: 不锈钢管, $v=0.2$ m/s;
SS2: 不锈钢管, $v=0.4$ m/s;
SS3: 不锈钢管, $v=0.8$ m/s

图 4 不同运行条件下生物膜样品的 PCR-DGGE 凝胶图谱

从管材和流速上看, PE 管上生物膜细菌种群更为丰富, 除 0.8 m/s 流速下生长的不锈钢管道生物膜外, γ 变形菌纲中的假单胞菌目 (*Pseudomonadales*) 和 α 变形菌纲中的根瘤菌目 (*Rhizobiales*) 也均存在且相对数量较多, PE 管生物膜中相对含量要高于不锈钢管. 某些菌只存在于 PE 管生物膜中, 如 β 变形菌纲中伯克氏菌目 (*Burkholderiales*) 和 γ 变形菌纲中黄色单胞菌目 (*Xanthomonadales*) 的寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas*), 随着流速的增加, 菌的相对含量减少, 而放线菌门中的微杆菌属

(*Microbacterium*) 和未鉴定的 α 变形菌纲细菌则只存在于 0.2 m/s 流速下生长的 PE 管道生物膜上. Bachmann 等^[16-17]的研究发现假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、伯克氏菌目中的食酸菌属 (*Acidovorax*) 和根瘤菌目中的甲基杆菌属 (*Methylobacterium*) 细菌在较低流速的生物膜中更具有优势. 伯克氏菌目中的食酸菌属 (*Acidovorax*) 和根瘤菌目中的甲基杆菌属 (*Methylobacterium*) 细菌具有较高的表面疏水性, 且细胞的疏水性随着流速/剪切力的增加而增加^[17], 不锈钢是中度亲水性的管材^[8], 因此, 这些菌在不锈钢管材上不容易聚集, 特别是在流速增大时更难聚集. 另外, β 变形菌纲中红环菌属 (*Rhodocyclus*) 只在 0.2 m/s 流速下生长的不锈钢管道生物膜上出现, 该类菌可能跟铁的氧化有关^[18], 不锈钢作为一种铁合金, 在该管材上发现该菌也是可能的.

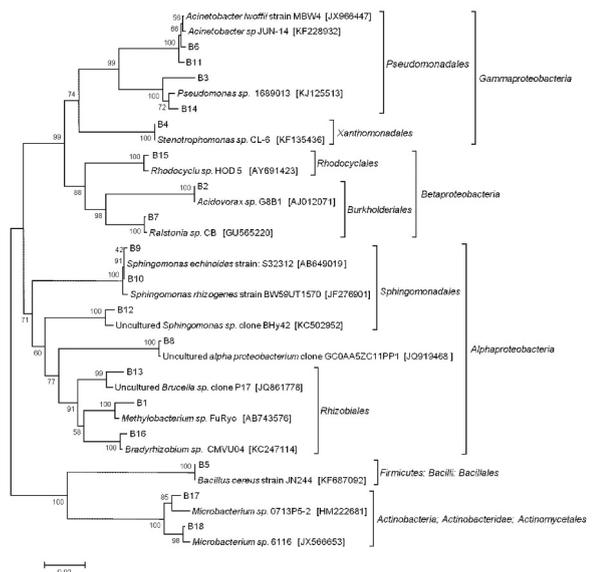


图 5 基于图 4 标记的典型 DGGE 条带序列构建的进化树

3 结论

1) 出水余氯、TOC、出水细菌总数在不锈钢和 PE 管材间差异极显著 ($p < 0.001$), 只有 PE 管材出水余氯在流速间差异显著 ($p < 0.05$).

2) 管材对生物膜附着细菌总数的影响大于流速, PE 管道生物膜细菌总数均显著大于同一时期不锈钢管道. 不同流速中, 生物膜细菌总数先随着流速的增大而略微增大, 进一步加大流速时生物膜细菌总数则显著减少. PE 管道生物膜达稳定的时间要短于不锈钢管道. 不同流速的 PE 管道生物膜均在第 56 天左右达到稳定, 细菌总数为 7 000~16 000 CFU/cm², 不锈钢管道生物膜均在

第98天左右达到稳定,细菌总数为2 500~6 000 CFU/cm².

3)生物膜中以 α 变形菌纲、 γ 变形菌纲和厚壁菌门的芽孢杆菌占优势,而 β 变形菌纲和放线菌门相对较少.某些具生理多样性(孢子)或易分泌胞外聚合物等特殊性质的细菌易在各类管壁上聚集而成为优势菌,而某些疏水性细菌则较难在不锈钢管材上聚集,特别在流速增大时更难聚集.

参考文献

- [1] SIMOES L C, SIMOES M, OLIVEIRA R, et al. Potential of the adhesion of bacteria isolated from drinking water to materials [J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2007, 47(2): 174-183.
- [2] CHANDY J P, ANGLES M L. Determination of nutrients limiting biofilm formation and the subsequent impact on disinfectant decay [J]. *Water Research*, 2001, 35(11): 2677-2682.
- [3] SZEWZYK U, SZEWZYK R, MANZ, W, et al. Microbiological safety of drinking water [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2000, 54: 81-127.
- [4] DOUTERELO I, SHARPE R L, BOXALL J B. Influence of hydraulic regimes on bacterial community structure and composition in an experimental drinking water distribution system [J]. *Water Research*, 2013, 47(2): 503-516.
- [5] TSAI Y P. Impact of flow velocity on the dynamic behaviour of biofilm bacteria [J]. *Biofouling*, 2005, 21(5/6): 267-277.
- [6] SIMOES L C, SIMOES M. Biofilms in drinking water: problems and solutions [J]. *Rsc Advances*, 2013, 3(8): 2520-2533.
- [7] GUAN Yuntao, ZHAO Wanwan, JIANG Zhanpeng, et al. Effect of hydraulic conditions and disinfectants on biofilm in model distribution systems [J]. *Desalination and Water Treatment*, 2009, 2(1/2/3): 82-88.
- [8] ZHU Zebing, WU Chenguang, ZHONG Dan, et al. Effects of pipe materials on chlorine-resistant biofilm formation under long-term high chlorine level [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 173(6): 1564-1578.
- [9] 国家环保总局. 水和废水监测分析方法 [M]. 4版.北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [10] LEHTOLA M J, MIETTINEN I T, KEINANEN M, et al. Microbiology, chemistry and biofilm development in a pilot drinking water distribution system with copper and plastic pipes [J]. *Water Research*, 2004, 38(17): 3769-3779.
- [11] GIBBS S G, MECKES M C, GREEN C F, et al. Evaluation of the ability of chlorine to inactivate selected organisms from the biofilm of a drinking water distribution system simulator following a long-term wastewater cross-connection [J]. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 2004, 3(2): 97-105.
- [12] CODONY F, MORATÓ J, MAS J. Role of discontinuous chlorination on microbial production by drinking water biofilms [J]. *Water Research*, 2005, 39(9): 1896-1906.
- [13] LEHTOLA M J, MIETTINEN I T, HIRVONENET A, et al. Estimates of microbial quality and concentration of copper in distributed drinking water are highly dependent on sampling strategy [J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2007, 210(6): 725-732.
- [14] ZHANG Minglu, LIU Wenjun, NIE Xuebiao, et al. Molecular analysis of bacterial communities in biofilms of a drinking water clearwell [J]. *Microbes and Environments*, 2012, 27(4): 443-448.
- [15] CHU C W, LU C Y, LEE C M, et al. Effects of chlorine level on the growth of biofilm in water pipes [J]. *Journal of Environmental Science and Health Part a: Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 2003, 38(7): 1377-1388.
- [16] BACHMANN R T, EDYVEAN R G J. Biofouling: an historic and contemporary review of its causes, consequences and control in drinking water distribution systems [J]. *Biofilms*, 2005, 2(3): 197-227.
- [17] RICKARD A H, MCBAIN A J, STEAD A T, et al. Shear rate moderates community diversity in freshwater biofilms [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(12): 7426-7435.
- [18] LI Dong, LI Zheng, YU Jianwei, et al. Characterization of bacterial community structure in a drinking water distribution system during an occurrence of red water [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(21): 7171-7180.

(编辑 刘彤)