

文丘里空化空蚀杀灭大肠杆菌的试验研究

耿 坤,董志勇*,张 凯,居文杰,赵文倩,李杨如,秦兆雨,王 磊 (浙江工业大学建筑工程学院,浙江 杭州 310014)

摘要: 利用自主研发的文丘里式水力空化反应装置,选取大肠杆菌为病原微生物的指示菌,对大肠杆菌水样进行灭菌处理.使用琼脂平板计数法检测大肠杆菌的杀灭率,同时利用生物显微镜观察大肠杆菌在空化空蚀作用前后的形态变化.分析了文丘里管喉部长径比、初始浓度、喉部流速、运行时间、水流空化数对大肠杆菌杀灭率的影响.实验结果表明:喉部长径比 $L/R=60$ 时,大肠杆菌的杀灭效果最好;降低空化数、增加喉部流速、延长运行时间、选取合适的大肠杆菌初始浓度均有利于提高大肠杆菌的杀灭率.

关键词: 喉部长径比; 水力空化; 文丘里管; 大肠杆菌; 饮用水消毒

中图分类号: TV131 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2017)09-3385-07

Experimental study of *Escherichia coli* killed by hydrodynamic cavitation due to venturi tube. GENG kun, DONG Zhi-yong*, ZHANG kai, JU Wen-jie, ZHAO Wen-qian, LI Yang-ru, QIN Zhao-yu, WANG lei (College of Civil Engineering and Architecture, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China). *China Environmental Science*, 2017,37(9): 3385~3391

Abstract: A self-developed Venturi-type hydrodynamic cavitation reaction device was used. *Escherichia coli* was selected as the indicative bacterium of pathogenic microorganism, and water samples containing *E. coli* were sterilized. Killing rates of *E. coli* were detected by agar plate counting method. Morphological changes in *E. coli* before and after cavitation were observed with a biological microscope. The effects of varying throat lengths, initial concentration, throat velocity, treatment time and cavitation number on the killing rates of *E. coli* were analyzed. The experimental results showed that the killing effect of *E. coli* was best at relative throat length $L/R=60$. Also, lowering cavitation number, increasing throat velocity, prolonging treatment time, and choosing a suitable initial concentration of *E. coli* can be helpful to improving the killing rates of *E. coli*.

Key words: varying throat lengths; hydrodynamic cavitation; Venturi tube; *Escherichia coli*; drinking water disinfection

饮用水是人类生活中不可或缺的资源,安全的饮用水水源为人类的健康提供了保障^[1],随着经济建设的快速发展,人们对饮用水的质量要求也越来越高.传统的饮用水消毒技术存在着诸多问题,以氯消毒为主,其在消毒的同时与水体中的有机化合物反应产生消毒副产物,其中最为常见的是三卤甲烷 THMs 和卤乙酸 HAAs^[2],这些副产物所具有的“三致”(致癌、致畸、致突变)作用,对人体的健康安全产生极大的威胁.空化是指当液体内部局部压力降低时,液体内部或液固交界面上蒸汽或气体空穴的形成、发展和溃灭过程.空泡溃灭时一方面产生高温(1000~5000K)和瞬时高压($1\sim 5\times 10^9\text{Pa}$),另一方面产生冲击波和水射流,能引起细胞溶解和其他损伤^[3].同时在这种极

端环境中水分子可以发生分裂反应及链式反应,产生羟基自由基·OH 及 H_2O_2 ^[4]破坏细胞的分子组成,使其失活.

水力空化作为一种新型的消毒技术,已引起国内外一些学者的研究兴趣.Doulah 等^[5]认为,当脉动漩涡尺度大于细胞尺度时,将引起细胞的动力运动;当脉动漩涡尺度与细胞尺度相当时,引起细胞振动,当振动能量超过细胞壁强度时,细胞壁破裂.若空化脉动频率与细胞自振频率相近,则会形成“共振”效应,加速细胞崩溃.陈利军等^[3]发现多孔板入口压力越大,消毒效果越好;水力空化

收稿日期: 2017-02-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51479177)

* 通讯作者, 教授, dongzy@zjut.edu.cn

技术与次氟酸钠联合使用时,提高了药剂的杀菌效果,既可减少药剂的用量,也缩短了杀菌时间;而且对次氯酸钠消毒产生的三氯甲烷,水力空化技术有抑制和消除作用.张晓冬等^[6]在水力空化对水中微生物的灭活效果考察中发现水力空化的能量效应对水中微生物能够产生灭活作用,实现对含菌污水的灭菌消毒处理,提高文丘里管入口压力、增加空化处理时间、优化空化器结构设计均有利于增强空化灭菌效果.Mezzule 等^[7]在实验室规模装置中研究水动力空化对大肠杆菌消毒的影响,发现水动力空化在减少细菌分裂能力方面非常有效.输入 490W/L 的能量 3min 发现 75% 的大肠杆菌细胞停止分裂增殖.然而 CTC 的分析显示大多数细胞维持呼吸能力,表明细菌进入活性但不可培养(VBNC)状态.因此,应进一步研究细菌从 VBNC 状态复苏的潜力.Karamah 等^[8]研究了污染物降解的基本机制,空化反应器中的压力分布建模,以及与化学反应耦合的气泡动力学模型,比较具有不同空化反应器和操作参数的实验装置以降解特定类型的污染物,发现水力空化因其操作简单、易规模化在水处理方面有很大的潜力.张茜等^[9]、刘昶等^[10]和陈乐等^[11]分别采用三角形、圆形和方形孔口多孔板产生空化空蚀作用以杀灭原水中的大肠杆菌,试验着重分析了多孔板的孔口大小、孔口数量、孔口排列以及大肠杆菌的浓度等因素对大肠杆菌杀灭率的影响,并阐述了多孔板空化空蚀杀灭大肠杆菌的作用机理.

本文所采用的文丘里管考虑了不同喉部长径比对空泡形成、生长及溃灭的影响,从机理上研究空化空蚀对大肠杆菌的杀灭作用.以饮用水质量控制指标中的大肠杆菌作为指示菌,在文丘里式水力空化发生装置中,对含有大肠杆菌的水样进行处理.通过平板菌落计数法检测大肠杆菌的杀灭率,利用生物显微镜观察空化空蚀作用前后大肠杆菌的形态变化,研究文丘里管喉部长径比、喉部流速、运行时间、空化数及初始浓度对空化空蚀杀灭大肠杆菌的影响.

1 实验装置及量测方法

1.1 实验装置

实验装置如图 1 所示.主要由内筒水箱、冷却外筒、玻璃转子流量计、离心泵、文丘里管、压力表及管道系统组成.

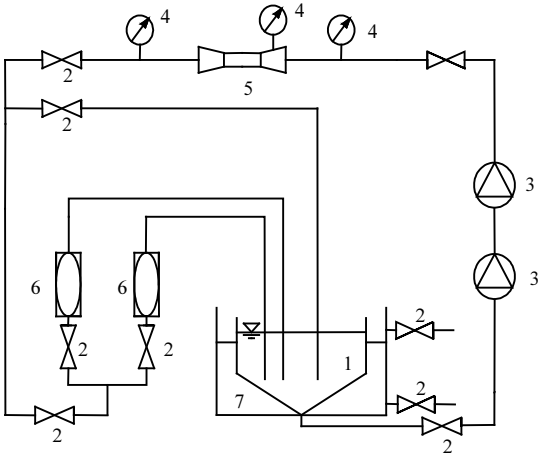


图 1 水力空化实验装置

Fig.1 Experimental setup of hydrodynamic cavitation
1.内筒水箱;2.阀门;3.离心泵;4.压力表;5.文丘里管;6.转子流量计;7.冷却外筒

1.2 水力空化发生器

水力空化发生器是空化空蚀装置的核心部件,本文共设计了 4 种文丘里管,如图 2 所示.



200-500-200 组合(L/R=100)

图 2 文丘里空化空蚀工作段

Fig.2 Venturi cavitation working section

其喉部长径比分别为 $L/R=10$ 、 30 、 60 和 100 (其中 L 为喉部长度, R 为水力半径),入口断面和出口断面均为 $50\text{mm}\times 50\text{mm}$ 方形断面,喉部直

管段为 20mm×20mm 的方形断面,收缩段及扩散段长度均为 200mm,喉部直管段的两侧和顶部设有便于观测的有机玻璃,喉部底板上设有多个便于实时采集各测点压力的测压孔。

1.3 量测方法

选取大肠杆菌埃希氏菌 ATCC25922 为指示菌种,实验前在灭菌后的 Luria-Bertani 液体培养基接种大肠杆菌菌种,将培养基置于台式恒温振荡器中以 37℃,转数 120r/min 培养 24h,使其增殖至一定浓度并备用,实验设 5 种初始浓度,梯度分别为 10^3 CFU/mL、 10^4 CFU/mL、 10^5 CFU/mL、 10^6 CFU/mL 及 10^7 CFU/mL。实验开始时往内筒水箱中加入 110L 自来水,取一定容积的大肠杆菌悬浮液加入水箱混合均匀,开启冷却装置、离心泵,装置运行 20min,0~5min 每隔 1min 取 1 次水样,5~20min 每隔 5min 取 1 次水样,共取 9 次水样。通过玻璃转子流量计量测流量。YE6263 压力数据采集系统连接测压孔,利用计算机实时采集压力数据。

采用生物显微镜对水样进行镜检,观察实验前后大肠杆菌的形态变化,取 1~2 滴水样滴加在载玻片上,在酒精灯焰上来回移动玻片使细菌固定在玻片上,将玻片置于牛皮纸上,滴加草酸铵结晶紫液,染 1min 后水洗,再加 1 滴碘液染色 1min 后用蒸馏水清洗,然后连续滴加 95%乙醇脱色 20~30s 至流出液无紫色,立即水洗,最后滴加蕃红复染 1~2min,用蒸馏水冲洗后待干镜检;通过平板菌落计数法对大肠杆菌的杀灭率定量分析,用移液枪吸取 1mL 水样至 9mL 生理盐水中做 10 倍递增稀释,对于不同初始浓度不同时间点的水样分别选取两种适宜的稀释倍数,每种稀释倍数的稀释液均取 0.1mL 均匀涂布在两个培养基表面,为防止自来水中其他细菌的干扰,选取伊红美蓝培养基对大肠杆菌进行选择,在生化培养箱中 37℃恒温条件下培养 48h 后计数,根据所得菌落数及稀释倍数计算出各个时间点水样中大肠杆菌的浓度,根据浓度可计算出杀灭率:

$$\gamma = \left(1 - \frac{C_i}{C_0} \right) \times 100\% \quad (1)$$

式中: γ 为杀灭率; C_i 为各时间点水样大肠杆菌浓

度,CFU/mL; C_0 为大肠杆菌初始浓度,CFU/mL。

2 结果与分析

2.1 喉部长径比对杀灭率的影响

对不同喉部长径比的 4 种文丘里管,在相同工况下分别进行实验,初始浓度为 10^6 CFU/mL,开启两台离心泵运行 20min。杀灭速率可以用下式进行估算^[12]:

$$\begin{aligned} -\frac{dC}{dt} &= kC \\ -\int_{C_1}^{C_2} \frac{dC}{C} &= k \int_0^t dt \\ -k &= \frac{\ln(C/C_0)}{t} \end{aligned} \quad (2)$$

式中: C_0 为大肠杆菌初始浓度,CFU/mL; C 为水样大肠杆菌浓度,CFU/mL; t 为运行时间,min; k 为杀灭速率常数,min⁻¹。

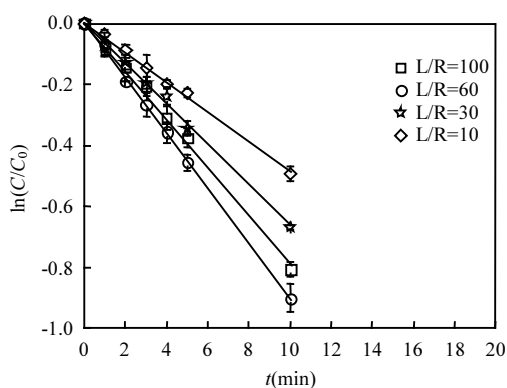


图3 喉部长径比对杀灭速率的影响

Fig.3 Effects of varying throat lengths on killing speeds

图3为喉部长径比对杀灭速率的影响,经过拟合,图中直线的斜率即为杀灭速率常数。图4为喉部长径比对杀灭率的影响。当喉部长径比 L/R 分别为 10、30、60、100 时,对应的杀灭速率常数分别为 0.049、0.066、0.090 和 0.079min⁻¹。这是因为水流经过文丘里管收缩段后,在喉部形成低压区,空化在该区域初生并发展,喉部长径比越小,其喉部长度越短(4种文丘里管喉部湿周相同),大部分水流未发生空化就进入扩散段,影响空泡的产生;喉部长径比越大,相应的喉部长度就越长,

空泡在其中的持续时间延长,导致空泡溃灭的周期变长,溃灭所产生的微射流、冲击波较弱,对大肠杆菌的空蚀作用减弱,致使杀灭能力降低.故存在最佳喉部长径比,本次实验的 4 种文丘里管中,喉部长径比 $L/R=60$ 的杀灭率最高.

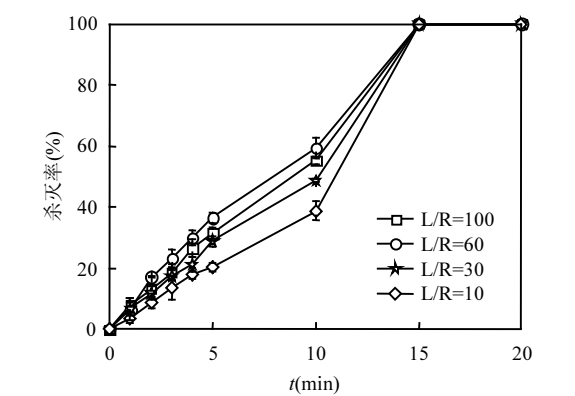


图 4 喉部长径比对杀灭率的影响
Fig.4 Effects of varying throat lengths on killing rates

2.2 运行时间对杀灭率的影响

以 200-150-200 组合($L/R=30$)为例,初始菌液浓度为 10^6 CFU/mL,开启双泵(喉部流速 $v=31.18$ m/s),考察大肠杆菌杀灭率随时间的变化规律,结果如表 1 和图 5 所示.

表 1 运行时间对杀灭率的影响		
Table 1 Effects of treatment time on killing rates		
时间(min)	200-150-200 组合($L/R=30$)	
	菌落数(CFU/mL)	杀灭率(%)
0	957000	0
1	900000	5.96
2	850000	11.18
3	797000	16.72
4	767000	19.85
5	687000	28.21
10	535000	44.31
15	0	100
20	0	100

可以看出,随着运行时间的增加,杀灭率随之升高,0~10min 时间段大肠杆菌数降至 55.69%,运行至 15min 时大肠杆菌数骤降至 0.这是由于空化段所产生的空泡数量是一定的,随着运行时

间的延长,水流经过文丘里管的次数增多,大肠杆菌与空泡的作用次数增加,空泡溃灭所产生的冲击波和微射流对大肠杆菌的作用时间延长,随着装置的运行水温逐渐升高,水流饱和蒸气压升高从而空化数降低,当空化数降低至一定程度时,空化发生效果显著增强,提高空化空蚀对大肠杆菌的灭菌效果,故延长运行时间,可提高空化空蚀对大肠杆菌的杀灭率.

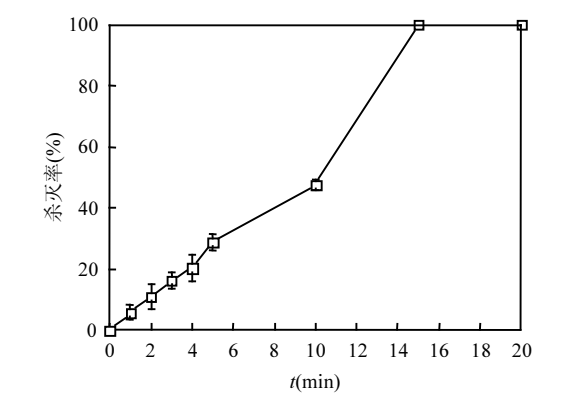


图 5 运行时间对杀灭率的影响
Fig.5 Effects of treatment time on killing rates

2.3 喉部流速对杀灭率的影响

表 2 喉部流速对杀灭率的影响				
Table 2 Effects of throat velocity on killing rates				
时间(min)	$V=30.9$ m/s		$V=25.7$ m/s	
	菌落数(CFU/mL)	杀灭率(%)	菌落数(CFU/mL)	杀灭率(%)
0	840	0	1546	0
1	745	11.31	1440	6.86
2	700	16.67	1365	11.71
3	670	20.24	1325	14.29
4	656.7	21.82	1290	16.56
5	570	32.14	1230	20.44
10	410	50.59	1160	24.97
15	0	100	895	42.11
20	0	100	440	71.54

选取 200-50-200 组合($L/R=10$),投加大肠杆菌悬浮液混合均匀至初始菌液浓度为 10^3 CFU/mL,通过开启单双泵改变喉部流速,分别运行 20min 取样并分析,结果见表 2、图 6.分别对主管

路及喉部取截面,根据能量方程及连续性方程

$$z_1 + \frac{v_1^2}{2g} + \frac{p_1}{\rho g} = z_2 + \frac{v_2^2}{2g} + \frac{p_2}{\rho g} + h_w$$
$$v_1 A_1 = v_2 A_2 \tag{3}$$

推导可知 $\Delta P \sim v_2^2$,即压降与喉部流速平方成正比.喉部流速越大,压降越明显,越容易发生空化,产生空泡,空泡溃灭产生的冲击波、微射流及强烈的紊动剪切作用增强,对细胞的破坏强度增大,从而杀灭率提高.因此,大肠杆菌杀灭率与喉部流速成正相关,喉部流速越大,杀灭率越高.

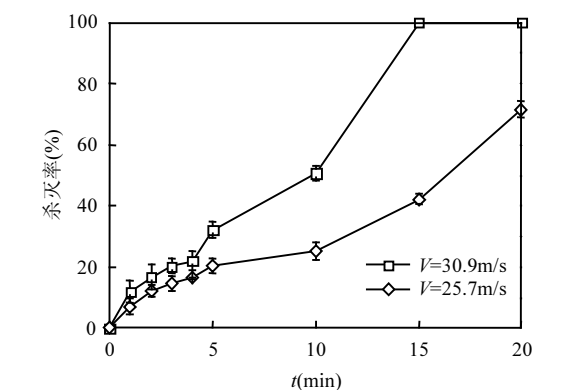


图 6 喉部流速对杀灭率的影响
Fig.6 Effects of throat velocity on killing rates

2.4 空化数对杀灭率的影响

空化数是描述空化状态的重要指标,它是表征水流空化特性的无量纲数,可以判断流场中是否发生空化并且反映了空化的发生程度^[13],其实质上就是一个压力系数或欧拉数,可定义为:

$$C_v = \frac{P_0 - P_v}{\rho V^2 / 2}$$

式中: P_0 为测点绝对压强,kPa; P_v 为相应温度下的饱和蒸汽压强,kPa; V 为喉部平均流速,m/s.

选取 200-50-200 组合($L/R=10$),初始菌液浓度均为 10^4 CFU/mL,通过开启单双泵改变喉部流速,实验结果见表 3、图 7.其水力参数见表 4.将水力参数代入式中可得不同喉部流速的空化数.结果表明,大肠杆菌杀灭率随空化数降低而增加.随着空化数的降低,流动状态发生转变,空化发生初期流态由单相流向二相空泡流转变;随着空化的

发展,由二相空泡流再向二相环形喷射流转变^[5],此时流场产生的微射流、冲击波增强,对大肠杆菌的作用强度增大,从而提高杀灭率.

表 3 空化数对杀灭率的影响
Table 3 Effects of cavitation number on killing rates

项目	$C_v=0.197$		$C_v=0.294$	
	菌落数 (CFU/mL)	杀灭率(%)	菌落数 (CFU/mL)	杀灭率(%)
0	12900	0	12000	0
1	11000	14.73	11450	4.58
2	10450	18.99	11450	6.25
3	9000	30.23	10700	10.83
4	8350	35.27	10350	13.75
5	7000	45.74	8700	27.5
10	1800	86.05	7850	34.58
15	500	96.12	5800	51.67
20	0	100	5600	53.33

表 4 水力参数及空化数
Table 4 Hydraulic parameters and cavitation number

喉部流速(m/s)	喉部测点平均 压强(kPa)	饱和蒸汽压 (kPa)	空化数 C_v
30.9	0.02	7.375	0.197
25.7	1.97	6.275	0.294

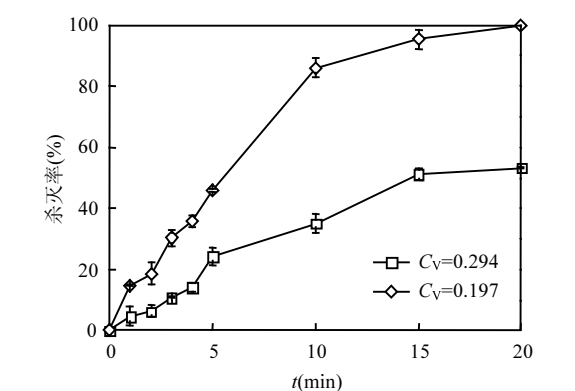


图 7 空化数对杀灭率的影响
Fig.7 Effects of cavitation number on killing rates

2.5 初始浓度对杀灭率的影响

选取 200-150-200 组合($L/R=30$),分别投加大肠杆菌悬浮液混合均匀,初始菌液浓度梯度为

10^3CFU/mL 、 10^4CFU/mL 、 10^5CFU/mL 、 10^6CFU/mL 、 10^7CFU/mL ,开启双泵(喉部流速 $v=31.18\text{m/s}$),考察大肠杆菌初始浓度对杀灭率的影响,结果见表 5、图 8.结果表明,由于初始浓度的不同,杀灭率在同一时间点各不相同,运行至 10min 时,初始浓度为 10^3CFU/mL 、 10^4CFU/mL 、 10^5CFU/mL 的实际杀灭率均已达到 91%以上,而初始浓度为 10^6CFU/mL 、 10^7CFU/mL 的实际杀灭率却不足 49%,这是由于水力空化段流场内产生的空泡数量是一定的,当菌液浓度较低时,空泡溃灭作用的大肠杆菌数量占初始数量的比例比较大,故杀灭率较高^[8].装置运行 15min 内,不同初始浓度大肠杆菌均已杀灭完毕,初始浓度越低杀灭率越高.

表 5 初始浓度对杀灭率的影响
Table 5 Effects of initial concentration on killing rates

项目	空化空蚀作用时间(min)								
	0	1	2	3	4	5	10	15	20
菌落数(CFU/mL)	740	627	577	547	480	220	0	0	0
杀灭率(%)	0	15.27	22.03	26.08	35.14	70.27	100	100	100
菌落数(CFU/mL)	8500	7800	7300	7150	6600	5350	670	0	0
杀灭率(%)	0	12.94	14.12	15.88	22.35	37.06	92.12	100	100
菌落数(CFU/mL)	107000	102000	100000	98000	91000	817000	9000	0	0
杀灭率(%)	0	4.67	6.54	8.41	14.95	23.64	91.59	100	100
菌落数(CFU/mL)	957000	900000	850000	797000	767000	687000	497000	0	0
杀灭率(%)	0	5.96	11.18	16.72	19.85	28.21	48.07	100	100
菌落数(CFU/mL)	8600000	8100000	8000000	7160000	6900000	6250000	5170000	0	0
杀灭率(%)	0	5.81	6.98	16.74	19.77	27.33	39.88	100	100

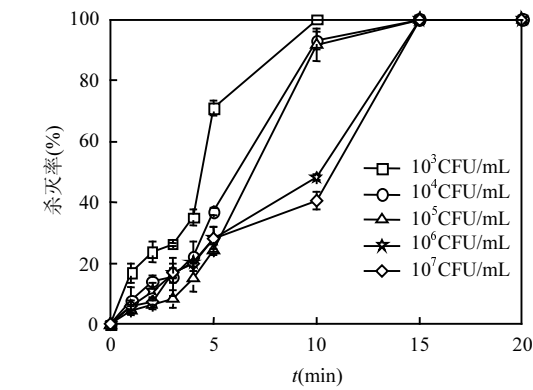


图 8 初始浓度对杀灭率的影响
Fig.8 Effects of initial concentration on killing rates

2.6 显微镜分析

考察 200-50-200 组合($L/R=10$),加入悬浮液至初始菌液浓度均为 10^7CFU/mL ,开启双泵(喉部流速 $v=30.9\text{m/s}$),装置运行 0~5min 内每隔 1min 取 1 次水样,5~20min 内每隔 5min 取 1 次水样,共取水样 9 次,每个水样均制成玻片在显微镜下观察,大肠杆菌形态变化见图 9.

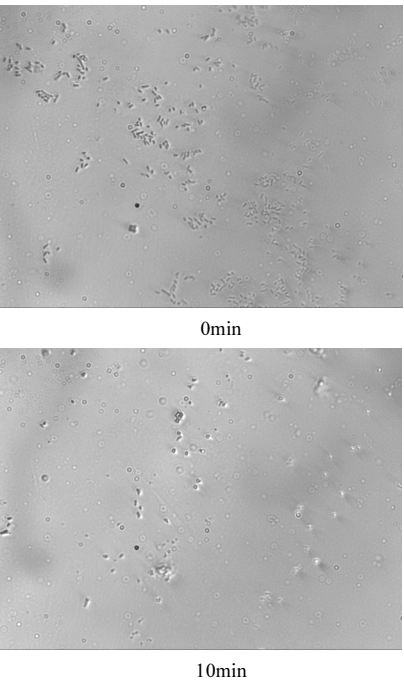


图 9 大肠杆菌的形态变化($\times 640$ 倍)
Fig.9 Morphological changes in *E. coli*(magnified 640 times)

由图可以看出,0min 时大肠杆菌未经过装置,经革兰氏染色在显微镜下呈红色短杆状,形态完整;运行至 10min,大肠杆菌形态发生明显变化,其细胞结构可能发生破坏.有研究表明^[14],在空泡溃灭阶段瞬间产生的压力梯度会导致细胞破裂,且在冲击压力作用下,细胞膜通透性屏障受损,细胞结构和功能成分遭到严重破坏,导致微生物细胞失去活性.可见随着时间的增长,空化空蚀对细菌有显著的杀灭作用.

3 结论

3.1 随着喉部长径比的增大,大肠杆菌的杀灭速率呈现先增加后减小的趋势,本实验的最佳长径比为 $L/R=60$.

3.2 延长运行时间、增大喉部流速均有利于提高大肠杆菌的杀灭率.双泵情况下(喉部流速约为 30m/s),水力空化 15min 内大肠杆菌基本杀灭完毕.

3.3 降低初始浓度,充分利用水力空化效应,会得到更高的处理效率.

参考文献:

- [1] 邢小茹,曹 勤,刘 京,等.中国部分环境保护重点城市集中式饮用水源水质评价 [J]. 中国环境科学, 2008,28(11):961-967.
- [2] 黄 河,徐 斌,朱文倩,等.长江沿线城市水源氯(胺)化消毒副产物生成潜能研究 [J]. 中国环境科学, 2014,34(10):2497-2504.
- [3] 陈利军,吴纯德,张捷鑫.水力空化技术在饮用水消毒中的应用 [J]. 水处理技术, 2007,33(3):45-48.
- [4] Duckhouse H, Mason T J, Phull S S, et al. The effect of

sonication on microbial disinfection using hypochlorite [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2004,11(3/4):173-6.

- [5] Doulah M S, Hammond T H, Brookman J S G. A hydrodynamic mechanism for the disintegration of *Saccharomyces cerevisiae* in an industrial homogenizer [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1975,17(6):845-858.
- [6] 张晓冬,杨会中,李志义,等.水力空化对水中微生物的灭活作用及特性 [J]. 化学工程, 2007,35(10):53-56.
- [7] Mezule L, Tsyfansky S, Yakushevich V, et al. A simple technique for water disinfection with hydrodynamic cavitation: Effect on survival of *Escherichia coli* [J]. Desalination, 2009,248(1): 152-159.
- [8] Karamah E F, Sunarko I. Disinfection of Bacteria *Escherichia Coli* using Hydrodynamic Cavitation [J]. International Journal of Technology, 2013,4(3):209.
- [9] 张 茜,董志勇,陈 乐,等.三角孔多孔板水力空化杀灭大肠杆菌的研究 [J]. 水力发电学报, 2016,35(8):65-71.
- [10] 刘 昶,董志勇,陈 乐,等.圆孔多孔板水力空化杀灭大肠杆菌的实验研究 [J]. 中国环境科学, 2016,36(8):2364-2370.
- [11] 陈 乐,董志勇,刘 昶,等.方孔多孔板水力空化杀灭大肠杆菌的实验研究 [J]. 水力发电学报, 2016,35(9):48-54.
- [12] Jyoti K K, Pandit A B. Ozone and cavitation for water disinfection [J]. Biochemical Engineering Journal, 2004,18(1):9-19.
- [13] 张敬威,张亚磊.初生空化数公式的优化研究 [J]. 吉林水利, 2014,(5):25-28.
- [14] Prajapat A L, Gogate P R. Intensified depolymerization of aqueous polyacrylamide solution using combined processes based on hydrodynamic cavitation, ozone, ultraviolet light and hydrogen peroxide [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2016,23(31):371-382.

作者简介: 耿 坤(1992-),男,河南信阳人,浙江工业大学硕士研究生,主要从事水力学与饮用水消毒技术方面的研究.