

异噻唑酮用作循环冷却水杀菌灭藻剂的研究

吕翠玲 巫中德

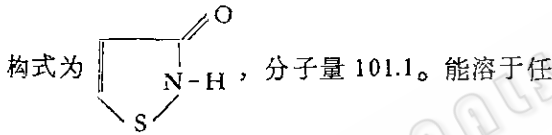
(中山大学生物系, 广州)

摘要 本试验采用杯碟法、试管稀释法和显微直接计数法测试异噻唑酮对常见菌藻的抑杀效果, 并用该药剂对循环冷却水主要危害菌——硫酸盐还原菌, 铁细菌和形成粘液的异养菌进行室内静态杀菌试验。结果表明, 其杀菌灭藻效果优于目前常用的工业杀菌剂, 投药量 10ppm, 对水中主要危害菌的杀灭率达到 99% 以上。

关键词 异噻唑酮; 杀生物剂

异噻唑酮及其衍生物是高效、广谱的杀菌灭藻剂, 对常见细菌、霉菌和藻类具有强力抑杀作用。这类化合物毒性低, 使用安全, 容易降解, 不造成环境污染, 是一类新的工业杀菌剂。有关这类化合物的化学、毒性和药理方面的综述见文献 [1, 2]。

异噻唑酮的分子式为 C_3H_3ONS , 其化学结



何有机溶剂, 易溶于水。工业品为淡黄色粉末。急性毒性实验: 大白鼠口服 LD_{50} 为 422 mg/kg。

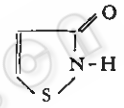
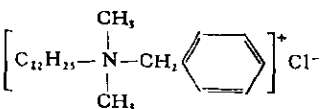
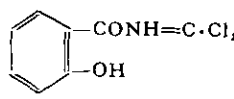
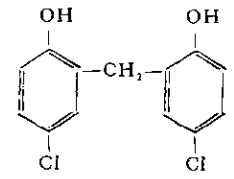
巫中德采用新工艺合成异噻唑酮, 其工艺特点是: 原料易得, 工艺简单, 成本较低。产品已在汽车电泳漆防腐方面获得工业应用, 效果良好。为了推广应用, 我们以其作为主要有效成分, 配成杀生物剂 K313, 对其用作循环冷却水杀生剂进行较系统的研究。结果表明, 这种新药对循环水中主要危害菌和常见藻类的杀灭作用, 可与目前国内使用的最有效的杀生剂相媲美, 值得进行扩大生产试验。

材料和方法

(一) 杀生剂

本实验所用杀生剂的有效成分和来源见表 1。使用时可按所需浓度直接稀释。

表 1 杀生物剂的有效成分和来源

杀生物剂名称	主要有效成分及其结构式	来源
K313	异噻唑酮 	中山大学化学系
S15	二硫氰基甲烷 $H_2C \begin{matrix} \diagup SCN \\ \diagdown SCN \end{matrix}$	广东省化工研究所
洁尔灭 (1227)	十二烷基二甲基苄基氯化铵 	上海合成洗涤剂三厂
A26	N-2, 2'-二氯乙烯基水杨酰胺 	广东省化工研究所
G4 (NL-4)	2, 2'-二羟基-5, 5'-二氯苯甲烷 	江苏六合县第二化工厂

(二) 供试菌藻及其来源

抑菌试验所用指示菌是由循环冷却水分离纯化而得的芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) 和假单胞杆菌 (*Pseudomonas* sp.) 以及曲霉 (*Aspergillus* sp.)。测药剂最低抑菌浓度所用的菌株计有: 白色葡萄球菌 (*Staphylococcus albus* AS

1.184)、蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus* AS 1.196)、绿脓假单胞杆菌 (*Pseudomonas pyocyanea* As. 1.50)、黄曲霉 (*Aspergillus flavus* AS 3.3950) 和土曲霉 (*Aspergillus terreus* AS 3.3955)。除了白色葡萄球菌是本校微生物教研室的保存菌株外,其余都由广东省微生物研究所提供。测药剂灭藻效果所用的藻种是斜生栅列藻 [*Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kütz.]。和普通小球藻 (*Chlorella vulgaris* Beijerinck), 均是南京大学惠赠的藻种。测异噻唑酮对循环冷却水主要危害菌的杀菌效果所用的三类菌: 形成粘液的异养菌 (Slime-forming bacteria), 简称异养菌、铁细菌 (Iron bacteria) 和硫酸盐还原菌 (Sulfate-reducing bacteria), 均系由循环冷却水样经分别增殖培养后获得, 测试时, 分别将它们加入水样中, 以增加水样相应菌类的数量。

(三) 试验方法

1. 药剂对供试菌株抑杀力的对比试验

(1) 抑菌圈大小的测定: 按常规杯碟法进行测定。各种杀生剂的浓度均为 200ppm。细菌用肉膏蛋白胨培养基、霉菌用蔗糖马铃薯培养基培养。株均系由循环冷却水分纯而得。细菌用芽孢杆菌和假单胞杆菌混合菌测试, 菌量 10^7 个/ml, 菌龄 24 小时。曲霉孢子浓度为 10^6 个/ml, 菌龄 3 天。30℃ 培养 24 小时后量取抑菌圈直径。

(2) 最低抑菌浓度 (MIC 值) 的测定: 采用自然界常见的三种细菌、两种霉菌作为抑杀对象 (表 2), 测定各种药剂对它们的最低抑菌浓度。

将菌龄 24 小时的细菌和菌龄 7—10 天的霉菌分别制成均匀的菌悬液或孢子悬浮液, 以体积为培养液 1% 量加入无菌培养液中, 从而制得含细菌浓度为 10^5 — 10^6 个/ml 的肉膏蛋白胨培养液和含霉菌孢子浓度为 10^4 — 10^5 个/ml 的蔗糖马铃薯培养液。立即取这种含菌培养液 4.5ml, 分别加入已盛有 0.5ml 杀生剂的试管中。摇匀。30℃ 培养。细菌 24 小时、霉菌 48 小时观察结果, 以无菌生长的最低浓度为杀生

剂的 MIC 值。

2. 药剂对循环冷却水样中异养菌的抑杀效果: 为了对药剂的评价与生产使用效果一致, 因而直接利用循环冷却水样中天然存在的异养菌作为抑杀对象, 以此对比各药剂的抑杀力强弱。所用循环水样, 其水质稳定剂为磷系, 运行 pH 值为 7.2—8.2。本试验采用试管稀释法。30℃ 培养。逐日观察各药剂的最低抑菌浓度。

3. 药剂对试验藻种的杀灭效果: 首先用水生 6 号培养液通气培养斜生栅列藻和普通小球藻混合藻种, 七天后补加新鲜培养液, 加入量为藻液体积的 1/4。充分摇匀后进行分装, 每个 250ml 三角瓶装藻液 99ml, 各加入 5000ppm 杀生剂 1ml, 即以 50ppm 杀生剂处理供试藻种。一瓶不加杀生剂的加入 1ml 无菌水作为对照。室温 26—34℃ 培养, 昼夜用一支 40w 日光灯照射, 灯与瓶底边相距 5cm, 每日用微型空气压缩机通气 16 小时。逐日显微直接计算藻细胞数, 并观察藻液颜色的变化情况, 以此判别杀生物剂的灭藻效果。

4. 异噻唑酮对循环冷却水三类主要危害菌的室内静态杀菌试验: 循环冷却水的主要危害菌为形成粘液的异养菌、硫酸盐还原菌和铁细菌。本实验按照化工部制订的《循环水中几类菌类分析试行操作规程》测定这三类菌经异噻唑酮处理前后数量变化情况, 经运算后, 以杀菌率表示其杀菌效果^[3]。

结果与讨论

1. 药剂对供试菌株的抑杀力和最低抑菌浓度: 异噻唑酮对供试菌株和循环冷却水中天然存在的微生物的抑杀力均比常用的季胺盐类、氯酚类等工业杀菌剂强^[4]。其抑菌圈直径最大; 最低抑菌浓度都较低。洁尔灭和 G4 对蜡状芽孢杆菌的 MIC 值稍比异噻唑酮低, 但这两种杀生剂对绿脓假单胞杆菌、黄曲霉和土曲霉的 MIC 值却比异噻唑酮高得多。S15 对测试菌株的 MIC 值也较低, 但仍比异噻唑酮高。用 25—50ppm K313 处理循环冷却水样, 对其中天然存在的微生物能完全抑杀, 时间超过半个月。

表 2 几种杀生物剂的药效对比

指标	时间(d)	检测菌种	K313	S15	洁尔灭	G4	A26
抑菌圈直径* (mm)	1	芽孢杆菌和假单胞杆菌混合	22.3	16.8	14.5	14.8	9.8
		曲霉	20.4	16.1	8.1	9.2	8.4
最低抑菌浓度 (ppm)	1	蜡状芽孢杆菌 AS. 1.196	5	10	2.5	2.5	7.5
		绿脓假单胞杆菌 AS. 1.50	5	7.5	125	750	1500
		白色葡萄球菌 AS. 1.184	5	10	150	5	75
	2	黄油霉 AS. 3.3950	25	25	100	125	25
		土曲霉 AS. 3.3955	12.5	12.5	75	100	75
	15	循环冷却水天然存在的异养菌	25-50	50-100	50-100	100-200	>200

* 表中所列抑菌圈直径是 5 个平行试验的平均值。所用药剂浓度均为 200ppm。

表 3 几种杀生剂的灭藻效果 (50ppm, 7天)

藻种	指标	对照	K313	S15	洁尔灭	G4	A26
斜生栅列藻和普通小球藻混合	藻细胞数($\times 10^4$ 个/ml)*	1624	302	703	468	489	503
	藻细胞减少率(%)	0	81.40	56.71	71.18	69.89	67.79
	藻液颜色	深绿	白色	草绿	白色	浅绿	浅绿

* 藻细胞数是 5 次取样测得的平均值。

表 4 异噻唑酮对循环冷却水主要危害菌的杀灭效果 (K313 浓度=10ppm)

菌类 杀菌效果 作用时间(h)	异养菌		铁细菌		硫酸盐还原菌	
	存活菌数 (个/ml)	杀菌率 (%)	存活菌数 (个/ml)	杀菌率 (%)	存活菌数 (个/ml)	杀菌率 (%)
0	3.5×10^7	0	4.5×10^4	0	1.4×10^7	0
4	6.4×10^4	81.71	7.5×10^3	83.33	1.4×10^3	99
8	1.5×10^4	95.71	2.0×10^3	95.56	4	>99.99
12	1.6×10^3	99.54	6.5×10^2	98.56	4	>99.99
24	9.1×10^1	99.97	2.5×10^1	99.94	0	100
48	8.2×10^1	99.98	3×10^1	99.93	0	100

半个月的 MIC 值随水样而异,原因是由于不同批次水样,其中所含的微生物种类、数量以及水的理化条件有所改变所致。经反复试验,证明其 MIC 值不超过 50ppm。在同样条件下要达到相同效果,其它几种杀生物剂的使用浓度则需加倍。详见表 2。

2. 药剂对供试藻种的杀灭效果: 实验结果表明,异噻唑酮的杀灭力最强。以 50ppm 处理藻种,7 天后与未经药剂处理的对照相比,藻细胞数减少了 81.4%, 并且残存的藻细胞全部变白,藻细胞中的叶绿素遭受严重破坏,最终导致藻种死亡。详见表 3。

3. 异噻唑酮对循环冷却水三类主要危害菌的室内静态杀菌效果: 用 10ppm 药剂处理循环冷却水样,作用 4 小时后,水中三类主要危害菌的死亡率超过 80%, 8 小时后死亡率超过 95%, 两天内杀菌率均达到 99% 以上,详见表 4。

参 考 文 献

- [1] CA, 84-111520, 1976.
- [2] U. S. Patent, 4129448, 1979.
- [3] 陈华葵: 微生物学实验, 农业出版社, 北京, 101-104, 138, 1962.
- [4] 徐寿昌等: 工业冷却水处理技术, 化学工业出版社, 北京, 277-301, 1984.