

复活光照强度对再生水紫外线消毒后大肠杆菌和粪大肠杆菌光复活的影响

郭美婷, 胡洪营*, 刘文君

(清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要:研究了复活光照强度对污水三级处理出水紫外线消毒后大肠杆菌和粪大肠杆菌光复活的影响。复活光强对复活的影响依消毒时紫外线剂量及菌种的不同而不同。不同复活光强(0~43 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$)下, 大肠杆菌在 5 mJ/cm^2 的紫外线剂量消毒后, 复活情况基本不受复活光强影响。紫外线剂量增高至 20 mJ/cm^2 后复活光强存在阈值, 在 43 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 复活光条件下检测到明显的光复活, 低于此光强没有检测到明显的光复活。粪大肠杆菌的光复活基本不受复活光照强度的影响。复活光强对细菌光复活的不同影响在光复活控制措施提出过程中需要考虑。

关键词:污水再生利用; 紫外线消毒; 光复活; 复活光强; 大肠杆菌; 粪大肠杆菌

中图分类号: X505 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)09-2576-04

Effect of Photoreactivating Light Intensity on Photoreactivation of *Escherichia coli* and Fecal Coliform in the Tertiary Effluent Disinfected by UV

GUO Mei-ting, HU Hong-ying, LIU Wen-jun

(Department of Environmental Science & Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: The effect of photoreactivating light intensity on photoreactivation of *E. coli* and fecal coliform in tertiary effluent after UV disinfection were investigated. The response of the two species to intensity of photoreactivating light varied with UV dose and bacterial species. Photoreactivation of *E. coli* after UV irradiation of 5 mJ/cm^2 achieved the same maximum under three selected intensities of photoreactivating light (0~43 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$). A threshold existed when UV dose increased to 20 mJ/cm^2 and significant photoreactivation was detected only under intensity of light 43 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$. With different UV doses irradiation, fecal coliform showed little difference under selected intensities of photoreactivating light in this study. The different effects of photoreactivating light intensity on photoreactivation of different bacteria should be considered when proposing the control measurements.

Key words: wastewater reclamation; ultraviolet disinfection; photoreactivation; light intensity; *E. coli*; fecal coliform

污水再生利用是缓解水资源短缺的有效途径。安全高效的消毒是保障再生水水质安全的有力措施。紫外线消毒由于其灭菌广谱性、有害消毒副产物少、操作安全等优势成为氯消毒的重要取代工艺^[1~7]。但是紫外线消毒不能提供持久的消毒效果, 使得消毒出水存在微生物风险。很多被紫外线照射后的微生物具有光复活的能力, 在可见光照射下可以修复紫外线造成的 DNA 损伤, 重新获得活性, 从而削弱消毒效果, 威胁消毒的安全性^[8~21]。光照在光复活过程中具有重要的作用, 光照强度的大小可能会影响光复活的程度。再生水紫外线消毒后回用过程中, 如何根据光强对复活的影响来控制复活, 保证再生水的安全性是值得研究的重要课题。了解复活光强对光复活的影响有利于提出合理的控制措施。本研究分析了复活光照的强度(复活光强)对紫外线照射后再生水中大肠杆菌和粪大肠杆菌光复活的影响。

1 材料与方法

1.1 试验菌种及水样

受试菌种: 大肠杆菌 CGMCC 1.3373, 购于中国科学院微生物研究所。粪大肠杆菌 G215, 分离于北京市 G 污水处理厂三级处理的砂滤出水。

试验水样: 取北京市 G 污水处理厂三级处理的砂滤出水。由于砂滤出水中大肠菌群及粪大肠菌群浓度较低, 很难在研究中体现出光照强度对其光复活的影响, 无法评价其规律和复活风险, 为复活控制措施的提出提供有力支持。故本研究将砂滤出水经过 0.22 μm 膜过滤除菌后按照下述步骤添加菌进行

收稿日期: 2007-09-27; 修订日期: 2007-11-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(20477021); 国家自然科学基金-JST 重大国际合作项目(20510076); 日立合作项目

作者简介: 郭美婷(1982~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为污水再生利用, E-mail: gmt00@mails.tsinghua.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: hyhu@tsinghua.edu.cn

分析.检测水样的 COD、DOC、浊度、pH 和 UV_{254} 等水质参数,检测方法依据水质检测标准方法^[22].水质如表 1 所示.

表 1 试验所用水样的水质(三级出水)

Table 1 Quality of tertiary treated effluent used in the experiments				
COD /mg L ⁻¹	DOC /mg L ⁻¹	UV ₂₅₄ /cm ⁻¹	浊度/ NTU	pH
66~87	1.2~3.9	0.11~0.13	0.3~1.0	7.3~7.4

将 - 80 ℃ 冰箱中的冰冻菌种融化后接种 50 μL 于 50 mL 营养肉汤培养基中,37 ℃、130 r/min 振荡培养 16 h,10 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液,用灭菌生理盐水冲洗 2 次,将沉淀溶于 100 mL 预处理除菌的砂滤出水中得到菌悬液.配制初始浓度约为 10⁵ CFU/mL 的菌悬液作为试验水样.

1.2 紫外线照射试验

测定水样的吸光度 $A_{254\text{ nm}}$,计算设计紫外线剂量下所需的照射时间^[23].取 15 mL 试验水样于 60 mm 直径的灭菌培养皿中,放入转子,将培养皿置于紫外平行光束仪(内装有 40 W 低压紫外灯管 1 根)正下方,磁力搅拌器的上面,使水样接受一定时间的紫外线照射.

1.3 光复活试验

以日光灯(40 W)为光源研究光复活特性.调整 365 nm 处光强^[11]分别为 0、7、20 和 43 μW/cm²,将紫外线消毒后水样置于日光灯下,测定光照时间为 0、2、4、6、8、12、24、48 和 72 h 后水样中的菌浓度.

1.4 细菌计数方法

细菌计数采用混合平板法进行.1 mL 一定稀释度的水样和一定量的融化后温度不高于 40 ℃ 的营养琼脂培养基混合,迅速摇匀,待培养基凝固后将平板倒置于 37 ℃ 培养箱中培养 24 h,计菌落数.每个样品做 3 个平行样.

1.5 紫外线消毒后微生物光复活的评价方法

本研究利用最大复活值、复活百分比^[21]和复活速率表征光复活程度.

最大复活值为大肠杆菌和粪大肠杆菌充分光复活后达到的菌浓度.

复活百分比 = $\frac{(N_p - N)}{(N_0 - N)} \times 100\%$

复活速率 = $(N_p - N) / \Delta t$

式中, N_0 为紫外线照射前水样中的菌数 (CFU/mL); N 为紫外线照射后水样中的菌数

(CFU/mL); N_p 为光复活后水样中的菌数 (CFU/mL); Δt 为接触复活光的时间 (h).

2 结果与讨论

2.1 复活光强对大肠杆菌光复活的影响

水样经过紫外线消毒后(剂量分别为 5 和 20 mJ/cm²)放置于不同强度的复活光下进行光复活试验,结果如图 1 所示.

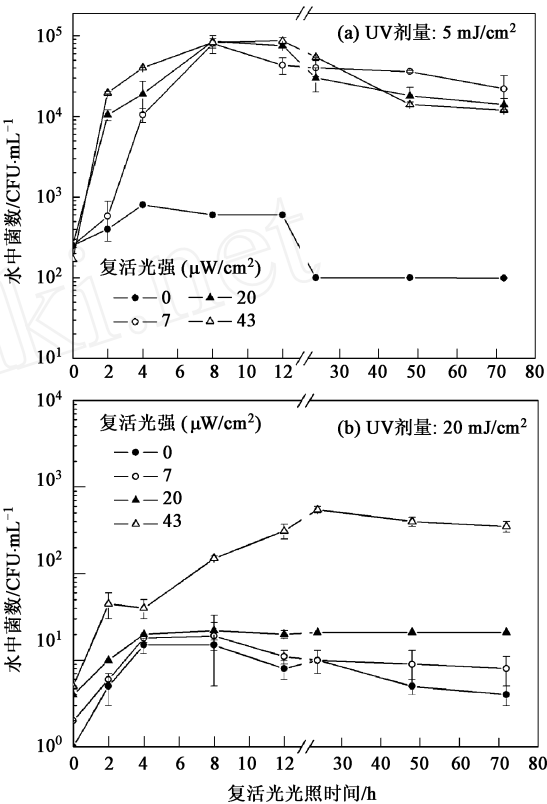


图 1 不同复活光强度对大肠杆菌光复活的影响

Fig. 1 Effect of photoreactivating light intensity on photoreactivation of *E. coli*

不同的复活光强对再生水中大肠杆菌的光复活略有影响,而且紫外线剂量不同,该影响规律不同.当紫外线剂量为 5 mJ/cm²时,复活光强为 7、20 和 43 μW/cm²条件下均发生明显的光复活.接触复活光 2 h 时的平均复活速率分别为 150、4 850 和 9 850 CFU · (mL · h)⁻¹.这表明复活光强越大,接触复活光初期平均复活速率越大.原因可能是光强越强,提供给受损细菌用来光复活的能量越大,相应的光复活的能力也越强.复活光光照 8 h 后,不同复活光强下各水样中的大肠杆菌均达到基本相同的复活最大值,约为 8 × 10⁴ CFU/mL,复活百分比为 39.9%.达到复活最大值再接触复活光至 72 h 后,菌数略有下

降,但不同光照强度下的水样无明显差异,主要由大肠杆菌的衰亡引起,和复活光强无关^[24]。

20 mJ/cm² 紫外线照射后的水样在不同复活光强下的光复活规律与 5 mJ/cm² 照射后的结果略有不同。整体来看,光强越强,复活程度越大,这同 Lamont 等^[25] 的研究结果一致。复活光强为 7、20 和 43 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时,接触复活光 2 h 时的平均复活速率分别为 1.5、4 和 18 CFU · (mL · h)⁻¹。但是复活光强为 7 和 20 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时,接触复活光 72 h 内,复活程度差别不显著,最大复活值约为 20 CFU/mL,复活百分比为 0.02 %;同时复活程度仅略高于无光照的暗修复。而当复活光光强增至 43 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时,光复活现象明显大于低复活光光强下的结果,其最大复活值约为 600 CFU/mL,复活百分比为 5.97 %。

比较 2 个不同紫外线剂量的结果,高复活光强对于低紫外线剂量照射后的大肠杆菌的复活没有促进作用,但有利于高紫外线剂量照射后细菌的复活。这可能因为,5 mJ/cm² 紫外线剂量的照射对大肠杆菌造成的损伤很有限,尽管接触不同光强的复活光前期复活速率不同,但最终都能达到基本相同的复活的最终值。这表明,对于较小的紫外线损伤,大肠杆菌可以利用较弱的复活光完成光复活,同时高复活光强并不能提升复活能力。有研究也表明,在低复活光强下导致 *A. salmonicida* 复活延迟和最大复活速率减小,但是随着照射时间延长,仍然可以达到和高复活光强一样的最终复活值^[26,27]。

当紫外线剂量增至 20 mJ/cm² 时,对大肠杆菌的损伤增大。此时,较低强度的复活光不足以提供足够的能量使得大肠杆菌进行充分的光复活。因此,高强度的复活光照下大肠杆菌的光复活明显凸现,程度高于低复活光强的结果。

以上结果表明,对于本研究所用大肠杆菌来说,能够产生明显光复活的复活光强度存在一个阈值。低于此阈值的复活光照射下没有显著的光复活,但是高于此阈值的不同复活光强导致基本接近的光复活结果。对于不同程度的紫外线损伤存在不同的复活光强阈值。

2.2 复活光强对粪大肠杆菌光复活的影响

紫外线照射后不同复活光强对粪大肠杆菌的光复活影响结果如图 2 所示。紫外线剂量为 5 和 20 mJ/cm² 的结果类似,即不同复活光强下均发生光复活现象,而且复活光强越大复活初期速率越大,但复活最大值基本接近。

5 mJ/cm² 照射后水样复活光强为 7、20 和 43

$\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时,接触复活光 2 h 时的平均复活速率分别为 150、2 700 和 14 700 CFU · (mL · h)⁻¹。不同复活光强下最大复活值为 3×10^4 CFU/mL,复活百分比为 29.7 %。紫外线剂量为 20 mJ/cm² 照射后的水样复活光强为 7、20 和 43 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 时,接触复活光 2 h 时的平均复活速率分别为 0.5、1 和 6 CFU · (mL · h)⁻¹。最大复活值约为 100 CFU/mL,复活百分比为 0.09 %。Kashimada 等^[11] 研究结果指出,光强在 $0.05 \times 10^{-3} \sim 4 \times 10^{-3} \text{ W}/\text{cm}^2$ 的变化范围内污水中的粪大肠杆菌,最大净光复活量不受影响。

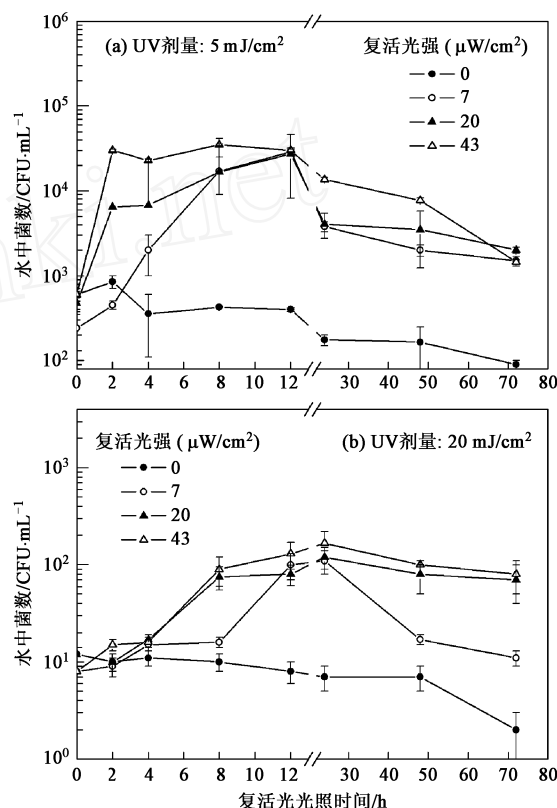


图 2 不同复活光强度对粪大肠杆菌光复活的影响

Fig. 2 Effect of photoreactivating light intensity on photoreactivation of fecal coliform

比较大肠杆菌和粪大肠杆菌的结果可以看出,这 2 种细菌光复活能力及对复活光强的敏感性略有不同。低紫外线剂量 (5 mJ/cm²) 对细菌的损伤较小,大肠杆菌和粪大肠杆菌均可以在不同的复活光强照射下进行光复活,且前者的最大复活值及复活百分比较大。较高的紫外线剂量 (20 mJ/cm²) 下,大肠杆菌的光复活存在阈值,复活光强低于此阈值的复活光强照射下并不能引起明显的光复活。但粪大肠杆菌在试验条件下均发生光复活,没有明显的阈值效应,显示出较大肠杆菌强的复活能力。这表明,细菌

的光复活受细菌种类、紫外线损伤程度和复活光强的相互影响。不同菌对复活光强不同反应的机制有待进一步深入研究,但这种现象对于光复活控制的启示值得重视。复活光照强度小并不预示较低程度的光复活,和紫外线照射剂量及细菌种类有关。以大肠杆菌和粪大肠杆菌为常规指标的消毒效果评价体系的安全性值得研究。

3 结论

(1) 不同复活光强对再生水中大肠杆菌的光复活略有影响,且紫外线剂量不同影响规律亦不同。 5 mJ/cm^2 紫外线照射后在不同复活光强下均发生明显光复活,且最大复活值基本相同; 20 mJ/cm^2 紫外线照射后水样光复活存在光强阈值,仅 $43 \mu\text{W/cm}^2$ 光强下发生明显光复活。

(2) 粪大肠杆菌的光复活基本不受复活光照强度的影响。

(3) 不同细菌光复活对光照强度不同反应的现象,可为光复活有效控制技术提供参考。

参考文献:

- [1] 张辰,张欣,吕东明,等. 污水消毒标准及紫外线消毒技术应用[J]. 给水排水,2003,29(12):1-3.
- [2] Reed D. Selecting alternatives to chlorine disinfection[J]. Pollution Engineering, 1998, 30(9):48-51.
- [3] 张立成,傅金祥. 紫外线消毒工艺与应用概况[J]. 中国给水排水,2002,18(2):38-40.
- [4] 张欣. 污水处理中的紫外线消毒技术[J]. 给水排水,2002,28(11):31-34.
- [5] Lazarova V, Savoye P, Janex M L, et al. Advanced wastewater disinfection technologies: state of the art and perspectives[J]. Water Science & Technology, 1999,40(4):203-213.
- [6] Liberti L, Lopez A, Notarnicola M, et al. Comparison of advanced disinfecting methods for municipal wastewater reuse in agriculture[J]. Water Science & Technology, 2000,42(1-2):215-220.
- [7] Linden K G, Shin G A, Faubert G, et al. UV Disinfection of *Giardia lamblia* Cysts in Water[J]. Environmental Science Technology, 2002, 36(11):2519-2522.
- [8] James E C. Photoreactivation[J]. DNA Repair, 2003, 2:629-638.
- [9] Hijnen W A M, Beerendonk E F, Medema G J. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo) cysts in water: A review[J]. Water Research, 2006,40:3-22.
- [10] Hassen A, Mahrour M, Ouzari H, et al. UV disinfection of treated wastewater in a large-scale pilot plant and inactivation of selected bacteria in a laboratory UV device[J]. Bioresource Technology, 2000,74:141-150.
- [11] Kashimada K, Kamiko N, Yamamoto K, et al. Assessment of photoreactivation following ultraviolet light disinfection[J]. Water Science & Technology, 1996, 33(10-11):261-269.
- [12] Oguma K, Katayama H, Mitani H, et al. Determination of pyrimidine dimers in *Escherichia coli* and *Cryptosporidium parvum* during UV light inactivation, photoreactivation and dark repair[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001,67(10):4630-4637.
- [13] Hu J Y, Chu X N, Quek P H, et al. Repair and regrowth of *Escherichia coli* after low- and medium-pressure ultraviolet disinfection[J]. Water Science & Technology:Water Supply, 2005,5(5):101-108.
- [14] Zimmer J L, Slawson R M. Potential repair of *Escherichia coli* DNA following exposure to UV radiation from both medium- and low-pressure UV sources used in drinking water treatment[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(7):3293-3299.
- [15] Oguma K, Katayama H, Ohgaki S. Photoreactivation of *Escherichia coli* after low- or medium-pressure UV disinfection determined by Endonuclease Sensitive Site assay[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(12):6029-6035.
- [16] Oguma K, Katayama H, Ohgaki S. Photoreactivation of *Legionella pneumophila* after inactivation by low- or medium-pressure ultraviolet lamp[J]. Water Research, 2004,38:2757-2763.
- [17] Zimmer J L, Slawson R M, Huck P M. Inactivation and potential repair of *Cryptosporidium parvum* following low- and medium-pressure ultraviolet irradiation[J]. Water Research,2003,37:3517-3523.
- [18] Liltved H, Landfald B. Influence of liquid holding recovery and photoreactivation on survival of ultraviolet-irradiated fish pathogenic bacteria[J]. Water Science & Technology,1995,30(5):1109-1114.
- [19] Quek P H, Hu J Y, Chu X N, et al. Photoreactivation of *Escherichia coli* following medium-pressure ultraviolet disinfection and its control using chloramination[J]. Water Science & Technology, 2006,53(6):123-129.
- [20] Kalisvaart B F. Re-use of wastewater: preventing the recovery of pathogens by using medium-pressure UV lamp technology[J]. Water Science & Technology, 2004,50(6):337-344.
- [21] Lindenauer K G, Darby J L. Ultraviolet disinfection of wastewater: effect of dose on subsequent photoreactivation[J]. Water Research, 1994, 28(4):805-817.
- [22] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 北京:中国环境科学出版社,2002. 15-80.
- [23] Bolton J R, Linden K G. Standardization of methods for fluence (UV Dose) determination in bench-scale UV experiments[J]. Journal of Environmental Engineering, 2003, 129:209-216.
- [24] Nebot E, Salcedo I, Andrade J A, et al. Modelling of reactivation after UV disinfection: effect of UV-C dose on subsequent photoreactivation and dark repair[J]. Water Research, 2007,41:3145-3151.
- [25] Lamont Y, MacGregor S J, Anderson J G, et al. Effect of visible light exposure on *E. coli* treated with pulsed UV-rich light[C]. Proceedings of the 26th International Power Modulator Symposium and 2004 High Voltage Workshop, 2004, (23-26):619-622.
- [26] Liltved H, Landfald B. Influence of liquid holding recovery and photoreactivation on survival of ultraviolet-irradiated fish pathogenic bacteria[J]. Water Research, 1996, 30(5):1109-1114.
- [27] Damkaer D M, Dey D B. UV Damage and Photoreactivation Potentials of Larval Shrimp, *Pandalus platyceras*, and Adult Euphausiids, *Thysanoessa raschii*[J]. Decologia,1983, 60(2):169-175.