



文章栏目：水污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.201811004

中图分类号 X703

文献标识码 A

冯俊生, 蔡晨, 姚海祥, 等. 紫外联合过硫酸盐杀灭水中大肠杆菌[J]. 环境工程学报, 2019, 13(8): 1847-1856.

FENG Junsheng, CAI Chen, YAO Haixiang, et al. Inactivation effect of *Escherichia coli* by ultraviolet combined with persulfate[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2019, 13(8): 1847-1856.

紫外联合过硫酸盐杀灭水中大肠杆菌

冯俊生*, 蔡晨, 姚海祥, 张郢, 王晓红, 申荣艳

常州大学环境与安全工程学院, 常州 213100

第一作者: 冯俊生 (1963—), 男, 硕士, 副教授。研究方向: 工业废水处理与回用。E-mail: lwg992003@126.com

*通信作者

摘要 为提高 UV 杀菌效率并同时解决 UV 杀菌存在光复活现象的问题, 以大肠杆菌为研究对象, 采用 UV-PS (紫外联合过硫酸盐) 体系杀灭水中大肠杆菌, 研究了各因素对 UV-PS 体系杀菌效果的影响, 并考察复活光强度 ($0\sim 42 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$) 对不同体系处理后大肠杆菌复活的影响, 最后分析其杀菌机理。结果表明: UV-PS 体系杀菌效率高于单独 UV 及单独 PS 杀菌, $15 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 紫外剂量下, $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PS 的加入较单独 UV 杀菌时大肠杆菌对数去除率增加 1.0 个对数级; 且一定范围内大肠杆菌对数去除率随着 PS 初始浓度的增加而增加; 中性条件更有利于大肠杆菌杀灭; Fe^{2+} 对大肠杆菌杀灭产生抑制效果; 大肠杆菌经 UV-PS 体系处理后光复活能力明显下降, 且仅在较强的复活光照下才会产生一定的光复活; UV-PS 体系较单独 UV 杀菌时大肠杆菌细胞形态破坏更为严重, UV-PS 体系产生的硫酸根自由基首先攻击细胞表面, 使得细胞结构破损, 细胞膜破裂, 进而对其内容物进行氧化损伤, 导致细胞死亡。UV-PS 体系杀菌效率高且对大肠杆菌的光复活现象抑制明显, 具有一定的应用前景。

关键词 污水厂出水安全; 紫外线杀菌; 过硫酸盐消毒; 大肠杆菌; 光复活

污水中含有大量的细菌等对人体有害的物质。经过城市污水处理厂二级生化处理后虽然可以大大降低水中细菌的浓度, 但出水中仍然含有数量可观的细菌, 会造成潜在的危险, 消毒是保证出水安全性的重要措施。紫外线消毒由于其具有消毒效率高, 灭菌广谱, 有害消毒副产物量少以及操作简单等优势^[1-3], 在污水、再生水、饮用水处理过程中已得到广泛的应用。但紫外线不具有持久的消毒能力, 消毒出水中微生物存在光复活现象, 即微生物在可见光照射下, 通过自身损伤修复机制修复紫外线造成的 DNA 损伤, 重新获得活性, 从而使水质无法达到使用和回用标准, 产生安全健康风险^[4-6]。因此, 提高出水中紫外光消毒效果, 抑制出水中微生物的光复活对于保证出水水质安全具有重要的意义。

过硫酸盐 (PS) 在降解顽固污染物^[7] 以及处理生物危害^[8] 等方面具有优异表现, 在工业、消毒和分析等领域有着广泛的应用^[9]。过硫酸盐可通过多种活化方式产生硫酸根自由基 ($\text{SO}_4^{\cdot-}$), $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 具有极高的氧化还原电位, 能够降解多种难去除有机污染物^[10]。蒋梦迪等^[11] 利用热活化过硫酸盐降解三氯生, 探讨了热活化的有效性; 高金龙等^[12] 研究表明, 二价铁活化过硫酸盐能有效降解土壤

收稿日期: 2018-11-01; 录用日期: 2019-03-07

基金项目: 江苏省高校自然科学研究面上项目 (16KJB610001)

中十溴联苯醚；孙昕等^[13]采用真空紫外/过二硫酸盐去除饮用水中臭味物质，解决了饮用水的臭味问题。UV-PS工艺一直以来大多用于有机物处理，但其作用原理证明其适合于微生物灭活。本研究以粪便污染指示菌大肠杆菌为研究对象，采用紫外联合过硫酸盐进行水中大肠杆菌灭活，考察各反应条件对大肠杆菌杀灭的影响，并对单独UV消毒和UV-PS 2种不同方法消毒后水中大肠杆菌光复活性能进行研究，分析UV-PS联合消毒对水中大肠杆菌光复活能力的影响。

1 材料与方法

1.1 实验菌种及水样

受试菌种：大肠杆菌，由常州大学生物医学工程与健康科学研究院提供。

实验水样：将-80℃冰箱中保存的冰冻菌种融化后接种10 μL于5 mL营养肉汤培养基中，于37℃、100 r·min⁻¹下振荡培养16 h，再以1 000 r·min⁻¹离心1 min，将沉淀重新悬浮于灭菌生理盐水中，重复2次以去除培养基。将最终的沉淀溶于100 mL灭菌水中得到菌悬液。根据实验要求配制初始浓度约为10⁷ CFU·mL⁻¹的菌悬液作为实验水样。

1.2 主要试剂与仪器

过硫酸钾(K₂S₂O₈)、七水合硫酸亚铁(FeSO₄·7H₂O)，氢氧化钠(NaOH)、硫酸(H₂SO₄)均为分析纯。

离心机(3K15, 西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司)；激光共聚焦显微镜(LSM 710, 德国卡尔蔡司公司)；场发射扫描电子显微镜(Hitachi TM-1000, 株式会社日立制作所)；超低温冰箱(DW-HL398S, 长虹美菱股份有限公司)；洁净工作台(北京东联哈尔滨仪器制造有限公司)；笔式pH计(RPB10型, 上海今迈仪器仪表有限公司)；低压汞灯(15 W, 0.104 mW·cm⁻², 荷兰皇家飞利浦公司)；多通道型紫外辐照计UV-M(辽宁赛亚斯科技有限公司)。

1.3 紫外反应装置

紫外光源为低压汞灯，紫外灯主波长为254 nm，功率为15 W，额定工作电压为220 V，其装置如图1所示。紫外线强度采用多通道型紫外辐照计UV-M(辽宁赛亚斯科技有限公司)测定。

1.4 消毒实验

UV及UV-PS消毒实验。将90 mL实验大肠杆菌水样加入到无菌培养皿中($d=12$ cm)，大肠杆菌的起始浓度约为10⁷ CFU·mL⁻¹，随后向该溶液中加入5 mL所需浓度的PS储备液以及5 mL所需浓度的FeSO₄·7H₂O储备液后，立即置于紫外灯下开启反应；在分析pH对反应的影响时，预先使用H₂SO₄(0.1 mol·L⁻¹)或NaOH(0.1 mol·L⁻¹)溶液以调节初始pH；在无PS或FeSO₄·7H₂O的实验中，使用相应体积的蒸馏水代替。培养皿中细胞悬浮液的深度为1 cm。每组实验重复3次。

单独PS消毒实验。将90 mL实验大肠杆菌水样加入到无菌培养皿中($d=12$ cm)，大肠杆菌的起始浓度约为10⁷ CFU·mL⁻¹，随后向该溶液中加入10 mL所需浓度的PS储备液以开始反应，培养皿中细胞悬浮液的深度为1 cm。每组实验重复3次。

空白实验。取100 mL实验大肠杆菌水样于无菌培养皿中($d=12$ cm)，相同时间点取样计算大肠杆菌浓度。每组实验重复3次。

1.5 光复活实验

经消毒后的水样立即进行光复活实验。以15 W日光灯为光源，调整光源与水面的距离，研究在365 nm^[14]处0、8、20、42 μW·cm⁻²光源强度下水中细菌的光复活情况，光源强度采用多通道型

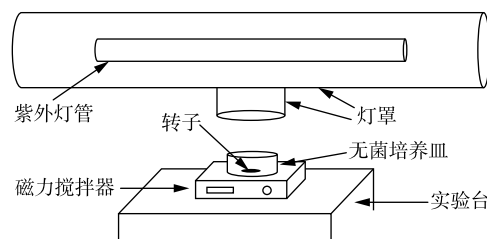


图1 实验装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the reactor

紫外辐照计 UV-M(辽宁赛亚斯科技有限公司)测定。采用磁力搅拌子搅拌水样, 延长光照时间分别为 0、2、4、8、12、24 h, 测定不同光复活时间后水样中的大肠杆菌浓度。

1.6 细菌计数方法

定时取样 1 mL, 并用无菌水以 10 倍浓度梯度连续稀释(保证平板中细菌数在 30~300 个之间), 然后立即取 1 mL 和约 15 mL 融化后温度不高于 40 °C 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在 37 °C 培养箱中培养 24 h, 计菌落数。每个样品做 3 个平行样。平板最低检出限为 1 CFU·mL⁻¹。

大肠杆菌对数去除率根据式(1)计算。

$$E = \lg(N_0/N_t) \quad (1)$$

式中: E 为对数去除率; N_0 为溶液中大肠杆菌初始数, CFU·mL⁻¹; N_t 为 t 时刻溶液中大肠杆菌浓度, CFU·mL⁻¹。

复活百分比根据式(2)计算。

$$R = (N_p - N) / (N_0 - N) \times 100\% \quad (2)$$

式中: R 为复活百分比; N_0 为溶液中大肠杆菌初始浓度, CFU·mL⁻¹; N 为自紫外线照射后水样中的大肠杆菌数, CFU·mL⁻¹; N_p 为光复活后水样中的大肠杆菌数, CFU·mL⁻¹。

1.7 消毒机理分析方法

死/活荧光染色实验考察了消毒剂是否破坏细菌细胞膜。在 15 °C 以下以 14 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 收获所有细菌样品。将样品重悬于生理盐水中至终体积为 0.5 mL。将等体积(0.5 μL)的 SYTO9 和 PI 染料溶液分别加入到实验组和对照组的样品中。将样品在黑暗中放置 30 min 后, 在激光共聚焦显微镜下观察。

扫描电子显微镜(SEM), 观察了细胞表面形态的变化。在 15 °C 以下以 14 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 收获所有细菌样品, 弃上清液。加入 2.5% 戊二醛 4 °C 固定过夜。用 0.1 mol·L⁻¹ 的 PBS 将样品漂洗 3 次, 每次 15 min; 接着梯度乙醇溶液(30%、50%、70%、80%、90%、95%)对样品进行脱水处理, 各 15 min。再用乙醇与醋酸异戊酯的混合液处理样品 30 min, 最后用纯醋酸异戊酯处理样品 1 h。临界点干燥。镀膜, 观察。处理好的样品在扫描电镜中观察。

2 结果与讨论

2.1 单独 PS 对大肠杆菌的杀灭效果

实验首先考察 PS 对大肠杆菌的杀灭效果。在室温条件下, 保持反应体系初始 pH 为 7, 大肠杆菌的初始浓度为 1.2×10^7 CFU·mL⁻¹, 考察不同 PS 初始浓度对大肠杆菌对数去除率的影响, 反应 30 min 后结果如图 2 所示。可以看出, 单独 PS 对大肠杆菌杀灭作用有限, 当 PS 浓度从 0.1 mmol·L⁻¹ 增加到 0.5 mmol·L⁻¹ 时, 大肠杆菌对数去除率从 0.03 个对数级增加到 0.2 个对数级。这主要是由于 S₂O₈²⁻ 本身具有一定氧化能力(标准电极电位 2.01 V), 对大肠杆菌有一定杀灭作用。

2.2 单独 UV 对大肠杆菌的杀灭效果

在室温条件下, 保持反应体系初始 pH 为 7, 大肠杆菌的初始浓度为 1.1×10^7 CFU·mL⁻¹, 单独

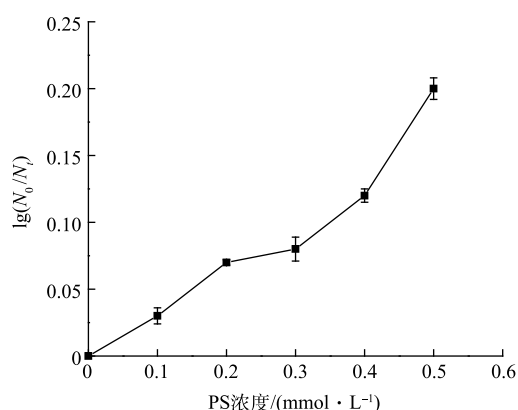


图 2 单独 PS 对大肠杆菌杀灭的影响

Fig. 2 Effect of PS alone on the killing of *E. coli*

UV 消毒对大肠杆菌的灭活如图 3 所示。随着紫外剂量的增加, 大肠杆菌迅速被灭活, 当紫外剂量达到 $15 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 时, 大肠杆菌的对数去除率达到 5.6 个对数级。继续增加紫外剂量, UV 对大肠杆菌的灭活进入拖尾阶段。即达到一定紫外剂量后, 继续增加紫外剂量大肠杆菌对数去除率保持一定水平不变。拖尾现象主要是由于微生物表面性质发生变化产生的自我聚集现象引起的^[15-16]。当紫外剂量达到 $40 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 和 $80 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 时, 大肠杆菌对数去除率分别达到 6.7 个对数级和 6.95 个对数级, 几乎完全灭活。

2.3 UV-PS 联用对大肠杆菌的杀灭效果

2.3.1 UV、PS 及 UV-PS 联用杀灭大肠杆菌比较

研究了 UV、PS 以及 UV-PS 联用杀灭大肠杆菌, 实验条件为固定紫外光强为 $0.104 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ 、保持反应体系初始 pH 为 7、大肠杆菌的初始浓度为 $1.1\times 10^7 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、PS 初始浓度为 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 结果如图 4 所示。可以看出, $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PS 对大肠杆菌几乎无杀灭效果; UV-PS 联合消毒效率也高于单独 UV 消毒。这主要是由于 UV 与 PS 产生了协同作用。紫外线依靠破坏微生物细胞内 DNA 或 RNA 的分子结构, 进而影响其复制而不破坏其细胞膜达到灭菌的目的^[17-18]。而 UV-PS 联合消毒在紫外光对水中微生物灭活的同时, 过硫酸盐经紫外激活产生 $\text{SO}_4^{\cdot-}$, 如式 (3) 所示, $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 具有较高的氧化还原电位 (2.6~3.1 V)。氧化剂能够通过攻击、氧化和瓦解细胞膜、细胞壁, 同时也能扩散进细胞内部, 对其内容物及 DNA 进行氧化破坏^[19-20]。因此, UV-PS 联合消毒效率高于单独 UV 消毒效率。



2.3.2 PS 初始浓度的影响

在室温条件下, 固定紫外光强为 $0.104 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$, 保持反应体系初始 pH 为 7, 大肠杆菌的初始浓度为 $1.3\times 10^7 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$, 考察 PS 初始浓度在 $0.1\sim 0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内变化时对大肠杆菌对数去除率的影响, 结果如图 5 所示。由图 5 可以看出, 紫外剂量相同时, 大肠杆菌对数去除率随着 PS 初始浓度的增大而增大。 $15 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的紫外剂量下, PS 初始浓度为 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 大肠杆菌对数去除率为 6.3 个对数级; 在 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 初始浓度下达到 6.6 个对数级; 而单独 UV 仅有 5.6 个对数级的对数去除率。这表明在一定范围

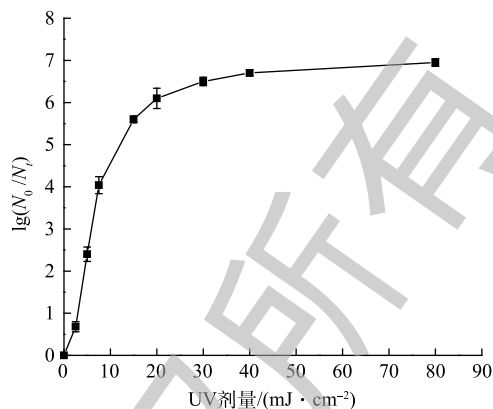


图 3 单独 UV 对大肠杆菌杀灭的影响

Fig. 3 Effect of UV alone on the killing of *E. coli*

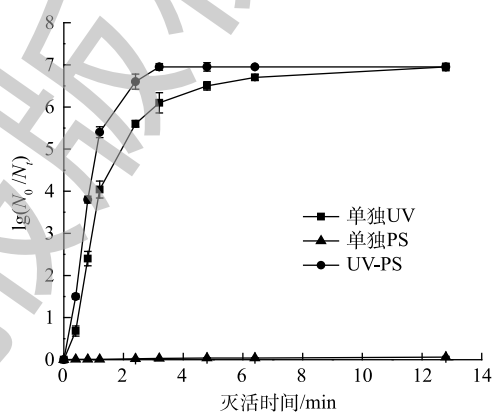


图 4 不同工艺对大肠杆菌杀灭效果比较

Fig. 4 Comparison of different processes on the killing of *E. coli*

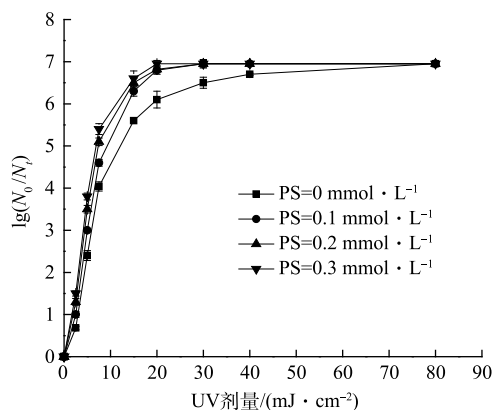


图 5 PS 初始浓度对大肠杆菌杀灭的影响

Fig. 5 Effect of PS initial concentration on the killing of *E. coli*

内, 增加 PS 的初始浓度能够提高大肠杆菌杀灭效果。这是由于随着 PS 投加量的增加, 反应体系中产生了越来越多的 SO_4^- , 因而可以更有效的杀灭大肠杆菌。

有研究^[21]表明, 过量的过硫酸盐会降低目标污染物的降解速率, 其原因可能是 SO_4^- 会与 SO_4^- 或过量的 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 反应, 消耗一定量的 SO_4^- , 导致降解污染物的 SO_4^- 变少, 污染物降解速率下降, 如式(4)和式(5)所示。但在本实验中未观察到 PS 投加量对大肠杆菌杀灭效果的抑制现象, 这可能是由于 PS 的最高投加量 ($0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 未达到抑制大肠杆菌杀灭效果的临界值。



2.3.3 初始 pH 的影响

在室温条件下, 固定紫外光强为 $0.104 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$, PS 初始浓度为 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 大肠杆菌的初始浓度为 $1.1 \times 10^7 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$, 分别调节溶液初始 pH 分别为 5、7、9 进行实验。考察在不同初始 pH 条件下, 体系对大肠杆菌对数去除率的影响, 结果如图 6 所示。可以看出, 紫外剂量相同时, pH 为 7 时大肠杆菌对数去除率最高, $15 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的紫外剂量下, 达到 6.4 个对数级。这主要是由于在酸性条件下, 过硫酸盐反应生成 SO_4^- 的过程中会受到水中某些离子干扰, 过硫酸盐会和水中硫酸根离子、氢离子等发生反应, 故反应速率下降^[22]。在碱性条件下, 体系中的 SO_4^- 将转化为 $\cdot\text{OH}$, 体系中以 $\cdot\text{OH}$ 为主, 如式(6)所示。由式(7)~式(9)中 $\cdot\text{OH}$ 和 SO_4^- 的氧化还原电位值可知, 碱性状态下 $\cdot\text{OH}$ 的电位 (1.8 V) 明显小于酸性条件下的 $\cdot\text{OH}$ (2.7 V) 和 SO_4^- (2.6~3.1 V) 的电位, 导致整体氧化能力的降低。所以在实验范围内, 当 pH 为 7 时体系对大肠杆菌的杀灭效果最佳。

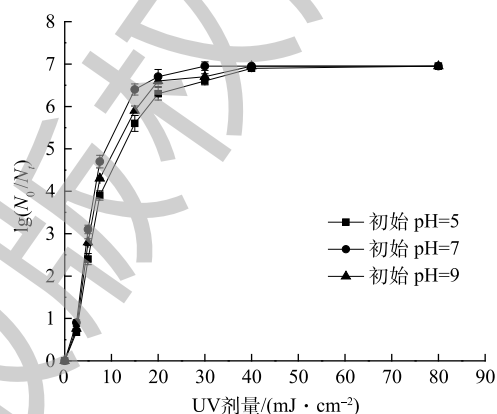


图 6 pH 对大肠杆菌杀灭的影响

Fig. 6 Effect of pH on the killing of *E. coli*



2.3.4 Fe^{2+} 的影响

过渡金属离子常被用来活化 PS 产生 SO_4^- 处理有机物^[12]。由于 Fe^{2+} 在常温条件下即可快速激活 PS 产生 SO_4^- , 且其廉价易得, 反应体系简单。因此, 本小节选择反应条件温和且活化效率高的 Fe^{2+} 作为活化剂, 考察 Fe^{2+} 的加入对 UV-PS 体系的影响。

在室温条件下, 固定紫外光强为 $0.104 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$, 保持反应体系初始 pH 为 7、PS 初始浓度为 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、大肠杆菌的初始浓度为 $0.9 \times 10^7 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$, 考察 Fe^{2+} 浓度在 $0.1 \sim 0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内变化时对大肠杆菌对数去除率的影响, 结果如图 7 所示。可以看出, 紫外剂量相同时, 大肠杆菌对数去除率随着 Fe^{2+} 浓度的增加而降低。 $15 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的紫外剂量下, 当 Fe^{2+} 浓度从 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 大肠杆菌对数去除率从 4.5 个对数级降低到 3.8 个对数级。 Fe^{2+} 对大肠杆菌对数灭活率的影响一方面是由于铁离子在水中吸收部分紫外光^[23], 因此在灭活过程中紫外线被水中的铁离子吸收, 使得微生物接受的紫外线照射会减少, 导致灭活效果减弱; 另一方面由于铁易形成

絮体,多孔的物质可以吸附包裹微生物避免其受到紫外线照射^[24]。所以相比于活化PS产生 SO_4^- , Fe^{2+} 的负面作用更为显著,导致随着 Fe^{2+} 浓度的增加大肠杆菌的对数去除率降低。

2.4 UV及UV-PS工艺消毒后光复活情况对比

在室温条件下,固定紫外光强为 $0.104 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$,保持反应体系初始pH为7、PS初始浓度为 $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、大肠杆菌的初始浓度为 $1.0\times 10^7 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。实验水样分别经过 $20 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 单独UV和 $20 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ UV-PS处理后,置于不同复活光强度下进行照射,从而得到大肠杆菌的光复活情况,结果如图8和图9所示。可以看出,水样分别经过UV和UV-PS消毒后均有光复活发生,且复活光强越高,复活速度越快。这主要是由于在较强的复活光强度下,细菌恢复受损细胞结构所接受的能量越高,从而光复活速度也越快^[25-26]。

但水样在分别经过单独UV处理和UV-PS处理后,大肠杆菌的光复活能力表现不同,经过UV-PS处理后大肠杆菌光复活能力明显下降。在单独UV辐射后,水样在 $20 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 复活光强照射24 h后,大肠杆菌的最大复活百分比达到0.38%,与郭美婷等^[27]0.4%的最大复活百分比一致。而在UV-PS辐射后,水样在 $20 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 复活光强照射24 h后,大肠杆菌最大复活百分比仅为0.03%,明显低于单独UV处理后最大复活百分比。

除此之外,在单独UV消毒条件下,水样在 $8, 20, 42 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 复活光强下均发生明显光复活,且最大复活百分比较为接近,分别为0.3%、0.38%、0.45%;而在UV-PS联合消毒时,不同复活光强对大肠杆菌的最大复活百分比则明显不同。由图9可知,水样经UV-PS联合消毒后,在 $0, 8, 20, 42 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的复活光强下,大肠杆菌最大复活百分比分别0.001%、0.005%、0.03%、0.08%。在 $0 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 和 $8 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的低复活光强下水样中大肠杆菌数量变化不大。这可能是由于UV-PS联合消毒对细菌细胞结构损伤较大,在低复活光强照射下受损细胞很难恢复,只有在较强的复活光照射下,受损细胞在高能量补充下才能快速恢复,大肠杆菌才会出现较强的光复活情况。这说明UV-PS联合

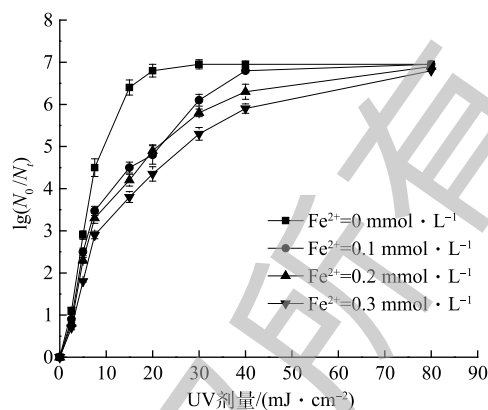


图7 Fe^{2+} 初始浓度对大肠杆菌杀灭的影响

Fig. 7 Effect of Fe^{2+} initial concentration on the killing of *E. coli*

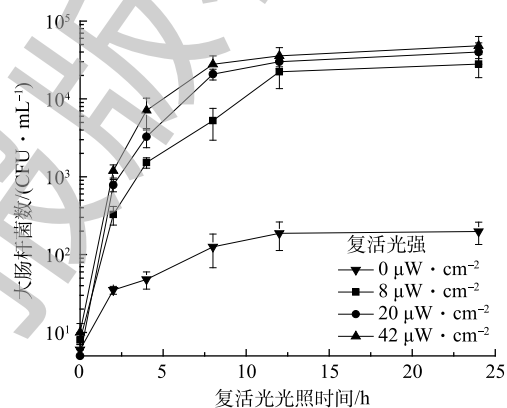


图8 UV消毒后复活光强对大肠杆菌光复活的影响

Fig. 8 Effect of light intensity after UV disinfection on *E. coli* photoreactivation

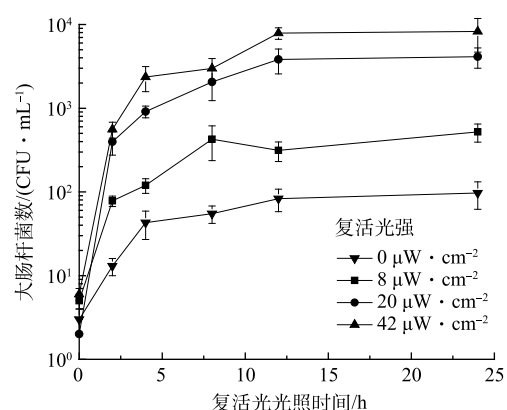


图9 UV-PS消毒后复活光强对大肠杆菌光复活的影响

Fig. 9 Effect of light intensity after UV-PS disinfection on *E. coli* photoreactivation

消毒对大肠杆菌灭活效果高于单独的 UV 消毒。

2.5 UV-PS 联合消毒机理

对 UV-PS 联合消毒的机理进行了初步分析。图 10 分别为空白实验、单独 UV 和 UV-PS 处理后大肠杆菌死/活荧光染色实验结果。可以看出，相比于空白样品，单独 UV 处理并未造成更严重的细胞膜损伤，而经过 UV-PS 联合消毒后的大肠杆菌则失去了细胞膜完整性。因为 Syto9 是活体核酸透性染料，对死活细胞都染色，而 PI 染料不能通过活细胞膜，但能穿过破损的细胞膜而对核染色。这主要是由于 UV-PS 联合消毒过程中产生的 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ 破坏了细菌细胞膜的完整性，从而使 PI 染料能对细胞核进行染色。

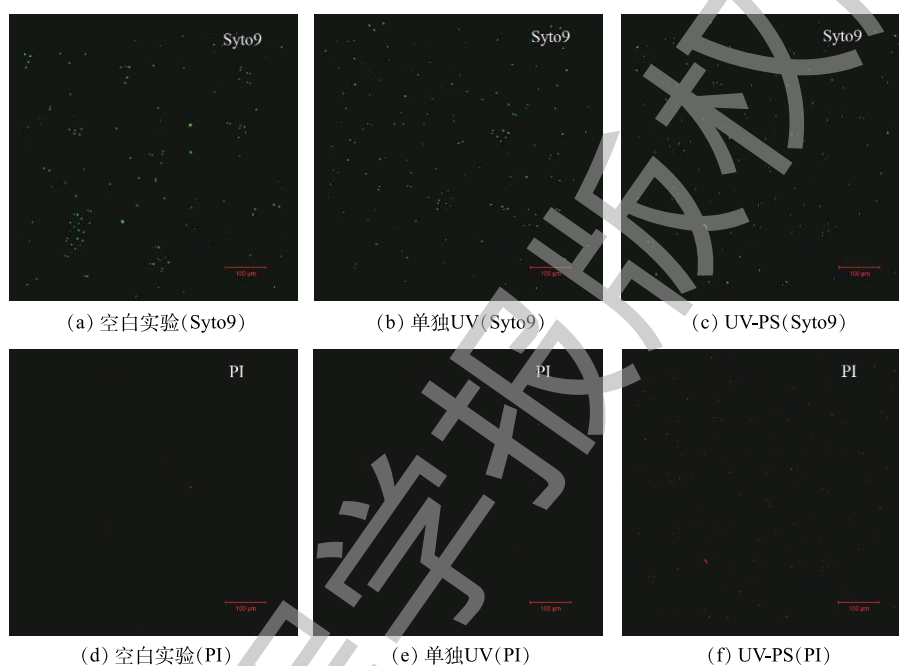


图 10 大肠杆菌灭活前后死/活荧光染色图像

Fig. 10 Live/dead assay images of *E.coli* before and after disinfection

图 11 分别为空白实验、单独 UV 和 UV-PS 处理后大肠杆菌 SEM 图像。SEM 图像也证实了 UV-PS 联合消毒后大肠杆菌细胞膜损伤的发生。处理前，大肠杆菌表面光滑，形态完整。单独 UV 处理后，大肠杆菌形态依然完整，仅表面出现略微褶皱。而经过 UV-PS 联合消毒后，大肠杆菌细胞形态被破坏，细胞表面发生不同程度凹陷，有部分细胞破裂。

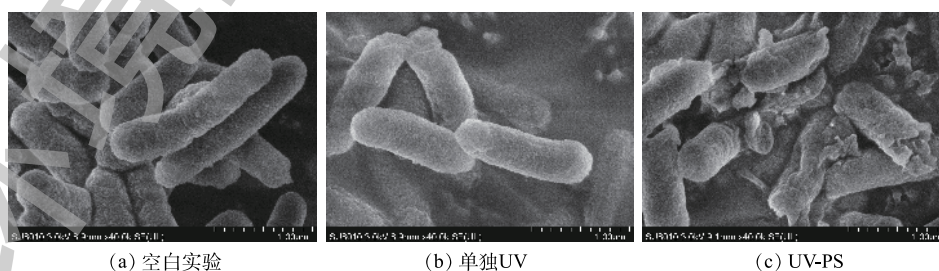


图 11 大肠杆菌灭活前后扫描电子显微镜图像

Fig. 11 SEM images of *E.coli* before and after inactivation

紫外线依靠破坏微生物细胞内 DNA 或 RNA 的分子结构, 影响其复制而不破坏其细胞膜达到灭菌的目的^[17-18], 同时也会使细胞表面蛋白质变性, 导致细胞通透性屏障受损, 其体内外渗透压遭到破坏, 从而发生皱缩现象。而 UV-PS 联合消毒后大肠杆菌细胞形态遭到破坏, 这是由于自由基攻击细胞表面, 使得细胞结构破损, 细胞膜破裂。在穿透细胞膜后, SO_4^- 扩散进细胞内部, 对其内容物与 DNA 进行氧化破坏, 进而导致细胞死亡。而且在自由基的作用下, 细胞内容物暴露, 更利于紫外线进行作用, 紫外及过硫酸盐具有协同作用^[28]。

3 结论

1) UV-PS 体系杀菌效率高于单独 UV 及单独 PS 杀菌。15 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 紫外剂量下, 0.3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PS 的加入较单独 UV 杀菌时大肠杆菌对数去除率增加 1.0 个对数级。

2) 在一定浓度范围内, 大肠杆菌对数去除率随着 PS 初始浓度的增加而增加; 中性条件更有利于大肠杆菌杀灭; Fe^{2+} 的存在抑制了大肠杆菌的杀灭效果。

3) 大肠杆菌经 UV-PS 消毒后光复活能力明显下降, 且只有在较强的复活光照下才会产生一定的光复活。

4) UV-PS 工艺较单独 UV 灭活时大肠杆菌细胞形态破坏更为严重, UV-PS 产生的硫酸根自由基首先攻击细胞表面, 使得细胞结构破损, 细胞膜破裂, 进而对其内容物进行氧化破坏, 导致细胞死亡。

参考文献

- [1] 张光辉, 孙迎雪, 顾平, 等. 紫外线灭活水中病原微生物[J]. 水处理技术, 2006, 32(5): 1463-1468.
- [2] REED D. Selecting alternatives to chlorine disinfection[J]. Pollution Engineering, 1998, 30(9): 48-51.
- [3] LINDEN K G, SHIN G A, FAUBERT G, et al. UV Disinfection of *Giardia lamblia* Cysts in water[J]. [Environment Science Technology](#), 2002, 36(11): 2519-2522.
- [4] RAJALA-MUSTONEN R L, TOIVOLA P S, HEINONEN-TANSKI H, et al. Effects of peracetic acid and UV irradiation on the inactivation of *coliphages* in wastewater[J]. [Water Science and Technology](#), 1997, 35(11): 237-241.
- [5] LOCAS A, DEMERS J, PAYMENTA P. Evaluation of photoreactivation of *Escherichia coli* and enterococci after UV disinfection of municipal wastewater[J]. [Canadian Journal of Microbiology](#), 2008, 54(11): 971-975.
- [6] HIJNEN W A M, BEERENDONK E F, MEDEMA G J. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan(oocysts) in water: A review[J]. [Water Research](#), 2006, 40: 3-22.
- [7] 廖云燕, 刘国强, 赵力, 等. 利用热活化过硫酸盐技术去除阿特拉津[J]. 环境科学学报, 2014, 34(4): 931-937.
- [8] XIA D H, LI Y, HUANG G C, et al. Activation of persulfates by natural magnetic pyrrhotite for water disinfection: Efficiency, mechanisms, and stability[J]. [Water Research](#), 2017, 112: 236-247.
- [9] STANISLAW, HOLGER V L, KLAUDIUSZ G, et al. Chemistry of persulfates in water and wastewater treatment: A review[J]. [Chemical Engineering Journal](#), 2017, 30: 44-62.
- [10] NETA P, HUIE R, POSS A B. Rate constants for reactions of inorganic radicals in aqueous-solution[J]. [Journal of Physical and Chemical Reference Data](#), 1988, 17(3): 1027-1284.

- [11] 蒋梦迪, 张清越, 季跃飞, 等. 热活化过硫酸盐降解三氯生[J]. 环境科学, 2018, 39(4): 1661-1667.
- [12] 高金龙, 马玉琳, 孟庆来, 等. 二价铁活化过硫酸盐降解土壤中十溴联苯醚[J]. 环境工程学报, 2016, 10(12): 7339-7343.
- [13] 孙昕, 史路肖, 张焱, 等. 真空紫外/过二硫酸盐去除饮用水中嗅味物质[J]. 环境科学, 2018, 39(5): 2195-2201.
- [14] 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.
- [15] KOLLU K, ORMECI B. UV-induced self-aggregation of *E.coli* after low and medium pressure ultraviolet irradiation[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2015, 148: 310-321.
- [16] AZIMI Y, ALLEN D G, FARNOOD R R. Kinetics of UV inactivation of wastewater bioflocs[J]. Water Research, 2012, 46(12): 3827-3836.
- [17] SNOWBALL M R, HORNSEY I S. Purification of water supplies using ultraviolet light[J]. Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum Surfaces & Films, 1998, 2(2): 1037-1038.
- [18] FARIBORZ T. Ultraviolet and ionizing radiation for microorganism inactivation[J]. Water Research, 2004, 38(6): 3940-3948.
- [19] FOEGEDING P M. Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore populations and the importance of the spore coat to resistance[J]. Food Microbiology, 1985, 2(2): 123-134.
- [20] KHADRE M A, YOUSEF A E. Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: A comparative study[J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 71(2/3): 131-138.
- [21] HORI H, YAMAMOTO A, HAYAKAWA E, et al. Efficient decomposition of environmentally persistent perfluorocarboxylic acids by use of persulfate as a photochemical oxidant[J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(7): 2383-2388.
- [22] MCCALLUM J E B, MADISON S A, DEPINTO R L, et al. Analytical studies on the oxidative degradation of the reactive dye uniblue A[J]. Environmental Science and Technology, 2000, 34(24): 5157-5164.
- [23] 孙艳芝, 李彩鸚, 万平玉, 等. 紫外分光光度计法测定硝酸盐氮时消除铁离子干扰的新方法[J]. 光谱实验室, 2011, 28(6): 3143-3147.
- [24] 郭美婷, 胡洪营, 李莉. 污水紫外线消毒工艺的影响因素研究[J]. 中国环境科学, 2007, 27(4): 534-538.
- [25] EDE S, HAFNER L, DUNLOP P, et al. Photocatalytic disinfection of bacterial pollutants using suspended and immobilized TiO₂ powders[J]. Photochemistry and Photobiology, 2012, 88(3): 728-735.
- [26] NATH R K, ZAIN M F M, KADHUM A A H. Photocatalysis: A novel approach for solving various environmental and disinfection problems: A brief review[J]. Journal of Applied Sciences Research, 2012, 8(8): 4147-4155.
- [27] 郭美婷, 胡洪营, 刘文君. 避光处理对污水紫外线消毒后大肠杆菌光复活的影响研究[J]. 环境科学, 2008, 29(6): 1644-1648.
- [28] 朱红. 紫外及紫外联合灭活地下水供水系统中真菌效能及机理研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2017.
- (本文编辑: 金曙光, 曲娜, 郑晓梅)

Inactivation effect of *Escherichia coli* by ultraviolet combined with persulfate

FENG Junsheng*, CAI Chen, YAO Haixiang, ZHANG Yun, WANG Xiaohong, SHEN Rongyan

School of Environmental and Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213100, China

*Corresponding author, E-mail: lwg992003@126.com

Abstract In order to improve UV sterilization efficiency and solve the problem of photoreactivation in UV sterilization, ultraviolet (UV) and persulfate (PS) were combined for *Escherichia coli* (*E. coli*) inactivation. The effects of different factors on the inactivation were investigated, as well as the effects of different photoreactivating light intensities (0~42 $\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$) on *E. coli* photoreactivation. The sterilizing mechanism was briefly analyzed. The results showed that *E. coli* inactivation by UV-PS was more effective than that by UV or PS alone. The addition of 0.3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PS elevated the logarithmic removal rate of *E. coli* by 1.0 lg compared with UV disinfection alone at the dosage of 15 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$. And the logarithmic removal rate of *E. coli* increased with the initial concentration of PS. The neutral conditions were more conducive to *E. coli* inactivation, while the presence of Fe^{2+} had the inhibition effect on *E. coli* inactivation. The photoreactivation rate of UV-PS disinfected *E. coli* was much lower than that of UV alone, and only high light intensity could cause the resurrection of some UV-PS disinfected *E. coli*. The morphological damage of *E. coli* cells in UV-PS process was more serious than that in UV process. Sulfate free radicals produced by UV-PS first attacked the cell surface, broke the cell structure and ruptured the cell membrane, and then oxidized and destroyed the cellular contents, eventually led to the death of *E. coli* cell. UV-PS showed high inactivation efficiency and strong inhibition effect on *E. coli* photoreactivation, and had a promising prospect for practical application.

Keywords effluent safety of sewage plant; ultraviolet sterilization; persulfate disinfection; *Escherichia coli*; photoreactivation