

城市污水处理工艺对噬菌体的去除效果

李梅, 胡洪营*, 张薛, 申欢

(清华大学环境科学与工程系环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 测定了北京市 3 座城市污水处理厂各处理单元出水中的 SC 噬菌体和 F-RNA 噬菌体浓度. 进水中 SC 噬菌体和 F-RNA 噬菌体浓度范围分别为 $6.25 \times 10^3 \sim 1.34 \times 10^4$ PFU $\cdot$ mL $^{-1}$ 和 $2.4 \times 10^2 \sim 2.4 \times 10^3$ PFU $\cdot$ mL $^{-1}$, 经过处理, 上述 2 类噬菌体的总去除率分别为 72.45% ~ 99.89% 和 57.84% ~ 93.06%, 低于对粪大肠菌的处理效果. 生物曝气工艺对噬菌体的去除效率最高, 深度处理中的砂滤工艺对噬菌体的去除作用不明显. 根据测定的 F-RNA 噬菌体浓度预测水中肠道病毒的浓度, 结果显示生活污水经常规处理和深度处理后仍含有 0.65 ~ 15.8 PFU $\cdot$ L $^{-1}$ 的肠道病毒.

关键词: 水处理工艺; SC 噬菌体; F-RNA 噬菌体; 肠道病毒; 指示生物; 污水回用

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)01-0080-05

Removal of Coliphages by Wastewater Treatment Processes

LI Mei, HU Hong-ying, ZHANG Xue, SHEN Huan

(State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: The concentrations of somatic coliphages (SC) and F-specific RNA bacteriophages in effluent of three wastewater treatment plants in Beijing city were detected. Somatic coliphages and F-RNA bacteriophages in source wastewater were $6.25 \times 10^3 \sim 1.34 \times 10^4$ PFU $\cdot$ mL $^{-1}$ and $2.4 \times 10^2 \sim 2.4 \times 10^3$ PFU $\cdot$ mL $^{-1}$ respectively, and the corresponding average removal rates were 72.45% ~ 99.89% and 57.84% ~ 93.06% by the wastewater processes, and which were lower than that of faecal coliforms. Biological aerated stage appeared to be the most efficient step in reducing the numbers of phages in wastewater, but not obviously in sand filter. The result of predicted concentrations of enteroviruses according to concentrations of F-RNA bacteriophages in water show that there are 0.65 ~ 15.8 PFU $\cdot$ L $^{-1}$ of the enteroviruses in final effluent.

Key words: wastewater treatment process; somatic coliphages; F-specific bacteriophages; enteroviruses; indicators; water reclamation

城市回用污水中可能存在的病毒(主要是肠道病毒)对人体健康的风险日益受到重视^[1]. 直接检测病毒本身操作复杂并且存在安全隐患, 因此需要寻找合适的病毒指示生物. 美国 EPA 提出用大肠杆菌噬菌体作为病毒指示生物^[2]. 噬菌体作为潜在的水中病毒的指示物, 可用于污水处理和再生利用过程中的病毒学安全性评价、阐明病毒灭活机理等领域研究^[3]. 常用于水质评价的指示噬菌体包括: SC 噬菌体 (Somatic coliphages)、F-噬菌体 (F-specific bacteriophages) 和 *Bacterioides fragilis* 噬菌体. SC 噬菌体是一类通过细胞膜感染大肠杆菌宿主菌的 DNA 病毒, 被认为是反映水的粪便污染程度和肠道病毒的良好指示物^[4]. F-RNA 噬菌体 (F-specific RNA bacteriophages) 是一类通过菌毛感染雄性大肠杆菌的 RNA 细菌病毒, 与水中肠道病毒有稳定的数量上的对应关系, 是最常用的水中肠道病毒的指示生物^[5]. 本研究测定了北京市 3 个污水处理厂的各单元出水中的 SC 噬菌体、F-RNA 噬菌体和粪大肠菌浓度, 分析水处理过程对噬菌体和细菌的去除效果, 并对水中肠道病毒的存在水平进行

了预测.

1 材料与方法

1.1 宿主菌

大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) CN (也称为 WG5) 和鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) WG49, 作为噬菌体宿主菌, 来自 ATCC.

1.2 培养基和试剂

MSB 培养基: 胰蛋白胨 10 g, 酵母提取物 3 g, 牛肉膏 12g, NaCl 3g, Na₂CO₃ 750mg, MgCl₂ 0.6g, CaCl₂ 876mg, 蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.2. MSA 培养基为 MSB 培养基中加入 18 g 琼脂粉, ssMSA 为 MSB 培养基中加入 9 g 琼脂粉. TYGB 培养基: 胰蛋白胨 10 g, 酵母提取物 1 g, NaCl 8 g, CaCl₂ 300

收稿日期: 2005-01-28; 修订日期: 2005-03-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(20477021); 建设部重点科技项目(2004-2005)

作者简介: 李梅(1972~), 女, 博士, 主要从事环境微生物学研究.

* 通讯联系人

mg, 葡萄糖 1 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.2. TYGA 培养基为 TYGB 培养基中加入 18 g 琼脂粉, ssTYGA 为 TYGA 培养基中加入 9 g 琼脂粉. M-TEC培养基: 示蛋白胨 5 g, 酵母膏 3 g, 乳糖 10 g, K_2HPO_4 3.3 g, KH_2PO_4 1 g, NaCl 7.5 g, 十二烷基磺酸钠 0.2 g, 脱氧胆酸钠 0.1 g, 溴甲酚紫 80 mg, 溴酚红 80 mg, 琼脂粉 15 g, H_2O 1 000 mL, pH7.3. 蛋白胨-盐溶液: 蛋白胨 1 g, NaCl 8.5 g, 蒸馏水 1 000 mL.

1.3 噬菌体的检测

采用传统的双层琼脂平板法. SC 噬菌体和 F-RNA 噬菌体的检测参照国际标准方法(ISO10705-2 和 ISO10705-1)^[6,7]. 以 *E. coli* CN 作为 SC 噬菌体宿主菌, 用 MSA 铺下层平板, 上层采用 ssMSA. 以 *S. typhimurium* WG49 作为 F-RNA 噬菌体的宿主菌, TYGA 铺下层平板, 上层采用 ssTYGA. 水样用蛋白胨-盐做梯度稀释或不稀释. 接种后的平板在 $(36 \pm 2)^\circ C$ 培养 4~12 h 后, 计每板上的噬菌斑数. 噬菌体浓度用单位体积水样的噬菌斑形成单位(PFU)表示.

1.4 粪大肠菌的检测

采用 M-TEC 培养基, 铺平板的方法测定, 在平板中加入 1mL 梯度稀释水样, 加入 10mL 左右的培养基, $45^\circ C$ 培养 24h 后, 计黄色菌落数, 用单位体积水样的菌落形成单位(CFU)表示.

2 水样的采集和处理

水样取自北京市 3 座城市污水处理厂 A、B、C 的各处理单元. A 厂为典型的活性污泥工艺, B 厂为氧化沟工艺, C 厂为 A^2O 工艺, 各污水厂都有深度处理工艺, 包括絮凝沉淀、加氯消毒和砂滤, 其中 C 厂没有砂滤工艺. 各厂的工艺流程如图 1. A 厂的取水点为: 进水(A-1), 曝气沉砂池进水(A-2), 曝气沉砂池出水(A-3), 初沉池出水(A-4), 二沉池出水(A-5), 絮凝沉淀池出水(A-6)和总出水(A-7). B 厂的取水点为进水(B-1), 曝气沉砂池进水(B-2), 曝气沉砂池出水(B-3), 二沉池出水(B-4), 絮凝沉淀池出水(B-5), 加氯间出水(B-6), 总出水(B-7)和污泥脱水滤液. C 厂的取水点为进水(C-1), 初沉池出水(C-2), 二沉池出水(C-3), 絮凝沉淀池出水(C-4)

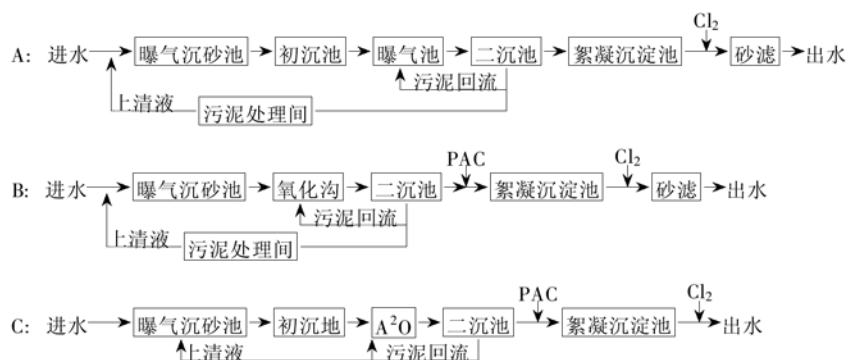


图 1 A、B 和 C 3 个污水处理厂的污水处理工艺流程

Fig. 1 Processes of sewage treatment of three wastewater plants in Beijing

和总出水(C-5). 水样在 $4^\circ C$ 冰箱保存, 24h 内测定.

3 结果与讨论

3.1 污水处理厂对噬菌体的总去除效果

分别测定 A、B、C 3 个污水处理厂进、出水中的噬菌体及 A 厂的粪大肠菌浓度, A 厂进水中粪大肠菌浓度约为 1.67×10^4 PFU $\cdot$ mL⁻¹. A、B、C 3 个污水处理厂进水中 SC 噬菌体浓度范围为 $6.25 \times 10^3 \sim 1.34 \times 10^4$ PFU $\cdot$ mL⁻¹, F-RNA 噬菌体为 $2.4 \times 10 \sim 2.4 \times 10^3$ PFU $\cdot$ mL⁻¹, 说明噬菌体在污水中普遍存在且浓度较高, 其中 SC 噬菌体浓度高于 F-RNA 噬菌体, 与文献报道相同^[8,9].

A、B、C 3 个污水处理厂对 2 类噬菌体的总去除率见表 1. SC 噬菌体及 F-RNA 噬菌体的平均总去除率分别为 72.45% ~ 99.89% 和 57.84% ~ 93.06%, 均低于 A 厂对粪大肠菌的去除效果(总去除率 99.994%). 与 Chung 报道的结果相比, A 污水厂对 F-RNA 噬菌体、C 污水厂对 SC 噬菌体的去除率偏低^[10]. 上述指标均远远低于 Jofre 报道的自来水厂对指示生物的去除率^[11].

3.2 各处理单元对噬菌体的去除效果

测定 A、B、C 3 个污水处理厂各单元出水中的噬菌体和 A 污水厂各单元出水中粪大肠菌浓度, 结果见图 2、3 和 4.

表 1 污水处理厂对指示噬菌体和细菌的总去除率/ %

Table 1 Removal rates of indicator bacteriophages and faecal coliforms in wastewater plants/ %

微生物	A	B	C	Morehead 污水厂 ^[10]	自来水厂 1 ^[11]	自来水厂 2 ^[11]
SC 噬菌体	99. 89	99. 73	72. 45	99. 03	99. 997<	> 99. 999 5
F-RNA 噬菌体	57. 84	91. 90	93. 06	90~ 99	> 99. 999 7	99. 996 8
粪大肠菌	99. 994	未测定	未测定	> 99. 99	> 99. 999 94	> 99. 999 80

A 厂进水中的粪大肠菌和 SC 噬菌体浓度接近, 超过 $10^4\text{CFU (PFU)} \cdot \text{L}^{-1}$, 比 F-RNA 噬菌体浓度高 500~ 700 倍. 经过曝气池、二沉池和絮凝沉淀池后, 水样中的 2 种噬菌体粪大肠菌浓度显著减少, 其中粪大肠菌浓度下降最多, 絮凝沉淀池出水样品中粪大肠菌和 F-RNA 噬菌体浓度均低于 $1\text{CFU (PFU)} \cdot \text{mL}^{-1}$, 与原水相比, 粪大肠菌、SC 噬菌体和 F-RNA 噬菌体的浓度分别下降了 99. 996%、99. 924% 和 96. 671%. 显示粪大肠菌对水处理过程的抗性明显低于噬菌体.

各污水厂的进水在进入处理工艺时, F-RNA 噬菌体浓度有明显增加. 如 A 厂的曝气沉砂池进水中 F-RNA 噬菌体浓度是进水的 4. 5 倍, B 厂是 2. 7 倍, C 厂初沉池出水中 F-RNA 噬菌体浓度是进水的 4. 3 倍. 根据污水处理工艺, 进水与污泥上清液和污泥处理后的回流液混合后进入曝气沉砂池和(或)初沉池. 本研究中测定了 B 厂中污泥脱水机房的污泥脱水滤液中的噬菌体浓度, 该水样中含有 $4. 4 \times 10^6\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 F-RNA 噬菌体, 是原水的 2 000 倍左右, 说明进水中 F-RNA 噬菌体浓度的增加是由于与污泥回流液混合引起的.

分析污水厂各处理单元对 SC 噬菌体的去除效果表明, 曝气生物处理过程对 SC 噬菌体的去除效果最好. A 厂和 C 厂二沉池出水中的 SC 噬菌体浓度比初沉池分别下降了 99. 54% 和 95. 13%, B 厂二沉池出水中的 SC 噬菌体浓度比曝气沉砂池出水下降了 98. 15%. 其次为絮凝沉淀(A 厂去除率 77. 66%, B 厂去除率 80. 15%) 和氯消毒处理(C 厂, 去除率 85. 93%).

分析各处理单元对 F-RNA 噬菌体的去除效果表明, A 厂中, 曝气生物处理对 F-RNA 噬菌体的去除率最高, 为 93. 88%, 其次为曝气沉砂池和初沉池, F-RNA 噬菌体的去除率分别为 61. 89% 和 59. 50%. B 厂的曝气生物处理过程对 F-RNA 噬菌体的去除率为 90. 12%, 曝气沉砂池工艺对 F-RNA 噬菌体的去除率为 60. 87%. C 厂中, 加氯消毒处理工艺可去除 98. 02% 的 F-RNA 噬菌体, 絮凝沉淀和

曝气生物处理过程的去除率分别为 64. 73% 和 34. 20%.

各污水厂都有污水的深度处理工艺, 包括絮凝沉淀、加氯消毒和砂滤工艺, 其中 C 厂没有砂滤工艺. A 厂的絮凝沉淀工艺对 SC 噬菌体、F-RNA 噬菌体和粪大肠菌有明显的去除效果, C 厂的絮凝沉淀和加氯消毒工艺对 SC 噬菌体、F-RNA 噬菌体有明显的去除效果, 与文献报道的结论相同^[11]. B 厂的这 2 个工艺对 F-RNA 噬菌体的去除效果不明显. A、B 厂的砂滤工艺对 2 类噬菌体和粪大肠菌没有明显的去除作用, 其中 A 厂中的 F-RNA 噬菌体浓度在经过加氯消毒和砂滤后有明显增加, 原因可能与 F-RNA 噬菌体的吸附特性有关, 还需要进一步的研究验证.

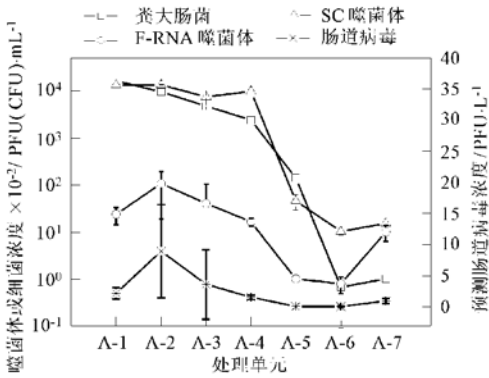


图 2 A 厂各级出水中噬菌体、粪大肠菌和预测的肠道病毒浓度

Fig. 2 Concentrations of bacteriophages, faecal coliforms and predicted enteroviruses in wastewater treatment plant A

综合本研究的 3 个污水厂对噬菌体和粪大肠菌的去除效果, 污水处理过程中的曝气沉砂池、初沉池、生物曝气池、絮凝沉淀池对噬菌体和粪大肠菌都有明显的去除效果, C 厂的加氯消毒工艺对噬菌体有明显的去除作用. 其中曝气生物处理过程对噬菌体和粪大肠菌的去除效果最好, 砂滤工艺对噬菌体没有明显的去除效果.

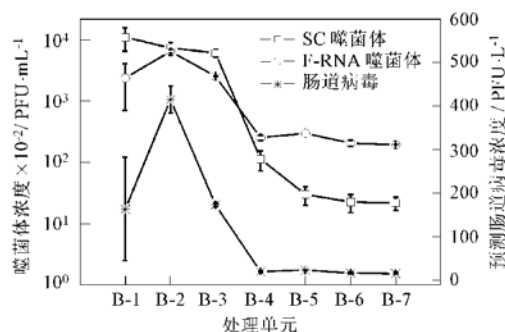


图3 B厂各出水中噬菌体和预测的肠道病毒浓度

Fig. 3 Concentrations of bacteriophages and predicted enteroviruses in wastewater treatment plant B

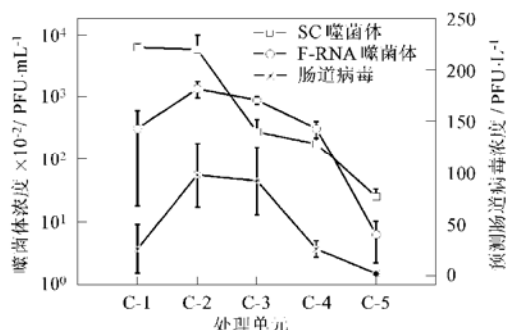


图4 C厂各级出水中噬菌体和预测的肠道病毒浓度

Fig. 4 Concentrations of bacteriophages and predicted enteroviruses in wastewater treatment plant C

3.3 水中肠道病毒浓度的预测

根据 Havelaar 建立的针对二级出水、絮凝沉淀出水和氯化消毒出水中 F-RNA 噬菌体与肠道病毒浓度的数学模型^[12]:

$$\lg(y) = -0.98 + 0.931 \lg(x)$$

其中, y 为 F-RNA 噬菌体浓度 ($\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$), x 为肠道病毒浓度 ($\text{PFU} \cdot \text{L}^{-1}$)

预测 A、B、C 3 个污水厂各级出水中肠道病毒浓度 (图 2, 3, 4), 进水肠道病毒平均浓度分别为 $2.22 \text{ PFU} \cdot \text{L}^{-1}$, $163.57 \text{ PFU} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $24.95 \text{ PFU} \cdot \text{L}^{-1}$, 二级出水中肠道病毒浓度分别为 $0.12 \text{ PFU} \cdot \text{L}^{-1}$, $20 \text{ PFU} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $65.60 \text{ PFU} \cdot \text{L}^{-1}$, 与颜文洪报道的活性污泥处理出水中的病毒浓度范围相近 ($19 \sim 53.5 \text{ PFU/L}$)^[13]. 总出水中肠道病毒的平均浓度分别为 $1 \text{ PFU} \cdot \text{L}^{-1}$, $15.8 \text{ PFU} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.65 \text{ PFU} \cdot \text{L}^{-1}$. 如按照回用水中病毒与粪大肠菌的比值为 $1:10^5$ 计算^[1], A 污水厂出水中病毒浓度约为 $1 \text{ PFU} \cdot \text{L}^{-1}$, 与 Havelaar 的模型计算的 A 厂出水的结果相同. 上述结果显示, 生活污水经常规和深度处理

后, 仍含有较高浓度的肠道病毒.

随着水的病毒学安全性日益受到关注, 一些国家已提出水的病毒指标, 主要针对饮用水^[14], 并开始注重回用水的有关研究. 美国加利福尼亚制定了污水回用标准 (CWRC), 要求回用水中病毒的去除率 (以脊髓灰质炎病毒或噬菌体 MS2 或抗性相当的其它病毒) 应达到 $5 \log$ (即去除率为 99.999%)^[15], MS2 是 F-RNA 噬菌体的代表株, 因此与 CWRC 要求的病毒去除率相比, 本研究中的 3 个污水厂出水中肠道病毒的去除率均没有达到该标准. 由于我国目前还没有制定有关污水的病毒学标准, 因此急需开展水病毒学和水病毒指示生物的研究, 并建立相应标准.

4 结论

(1) 城市生活污水中含有大量的 SC 噬菌体和 F-RNA 噬菌体, 污水经常规和深度处理能分别去除 72.45% ~ 99.89% 的 SC 噬菌体和 57.84% ~ 93.06% 的 F-RNA 噬菌体, 但低于对粪大肠菌的处理效果.

(2) 污水处理过程中的生物曝气工艺对噬菌体的去除效率最高, 深度处理中的砂滤工艺对噬菌体的去除作用不明显. 根据测定的 F-RNA 浓度预测肠道病毒的浓度, 生活污水经常规处理和深度处理后仍含有较高浓度的肠道病毒.

参考文献:

- [1] 仇付国, 王晓昌. 城市回用污水中病毒对人体健康风险的评价 [J]. 环境与健康杂志, 2003, 20 (4): 197~199.
- [2] EPA. Report of task force on guide standard and protocol for testing microbiological water purifiers [R]. Cincinnati: US Environmental Protection Agency, 1986.
- [3] 李梅, 胡洪营. 噬菌体作为水中病毒指示物的研究进展 [J]. 中国给水排水, 2005, 21 (2): 23~26.
- [4] Morinigo M A, David W, Christine C J. Evaluation of different bacteriophage groups as faecal indicators in contaminated natural waters in southern England [J]. Wat. Sci. Tech., 1992, 26 (3): 267~271.
- [5] IAWPRC. Study Group on Health Related Water Microbiology. Bacteriophages as model viruses in water quality control [J]. Wat. Res., 1991, 5: 529~545.
- [6] Anonymous. Water quality. Detection and enumeration of bacteriophages part 1: Enumeration of F-specific RNA bacteriophages. International Organization for Standardization, ISO 10705-1. Geneva, Switzerland, 1995.
- [7] Anonymous. Water quality. Detection and enumeration of bacteriophages / part 2: Enumeration of somatic coliphages. International Organization for Standardization, ISO 10705-2.

- Geneva, Switzerland, 2000.
- [8] Liping P, Murray C, Mark G, *et al.* Estimation of septic tank setback distances based on transport of *E. coli* and F-RNA phages [J]. *Environ. Int.*, 2003, **29**: 907~ 921.
- [9] Skraber S, Gassilloud B, Schwartzbrod L, *et al.* Survival of infectious *Poliovirus* 1 in river water compared to the persistence of somatic coliphages, thermotolerant coliforms and *Poliovirus* 1 genome [J]. *Wat. Res.*, 2004, **38** (12): 2927~ 2933.
- [10] Chung H, Jaykus L A, Lovelace G, *et al.* Bacteriophages and bacteria as indicators of enteric viruses in oysters and their harvest waters [J]. *Wat. Sci. Tech.*, 1998, **38** (12): 37~ 44.
- [11] Jofre J, Olle E, Lucena F, *et al.* Bacteriophage removal in water treatment plants [J]. *Wat. Sci. Tech.*, 1995, **31** (5-6): 69~ 73.
- [12] Havelaar A H, Marja V O, Yvonne C D. F-specific RNA bacteriophages are adequate model organisms for enteric viruses in fresh water [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, **59** (9): 2956~ 2962.
- [13] 颜文洪, 欧阳劲进, 商谦, 等. 去除生活废水及污泥中病毒的研究 [J]. *重庆环境科学*, 2003, **25** (9): 18~ 22.
- [14] Schijven J F, Bruin H A M, Hassanizadeh S M, *et al.* Bacteriophages and clostridium spores as indicator organisms for removal of pathogens by passage through saturated dune sand [J]. *Wat. Res.*, 2003, **37**: 2186~ 2194.
- [15] Jolis D, Robin A H, Paul A P, *et al.* Assessment of tertiary treatment technology for water reclamation in San Francisco, California [J]. *Wat. Sci. Tech.*, 1996, **33** (10-11): 181~ 192.

近年《Ei》收录《环境科学》论文数¹⁾

英文刊名	中文刊名	Coden	ISSN	2003 年	2004 年	2005 年
Environmental Science	环境科学	HCKHDV	0250-3301	112	152	249

1) 数据源于 www.engineeringvillage.2.org.cn; 2) 2005 年《环境科学》共发表论文 249 篇,《Ei》收录 249 篇, 数据截止日期 2005 年 12 月 31 日