

## 电化学氧化灭活铜绿微囊藻及藻毒素的降解

周石庆<sup>1,2†</sup>, 卜令君<sup>1,2</sup>, 施周<sup>1,2</sup>, 许仕荣<sup>1,2</sup>, 王涛<sup>1,2</sup>

(1. 湖南大学 土木工程学院, 湖南 长沙 410082;  
2. 湖南大学 建筑安全与节能教育部重点实验室, 湖南 长沙 410082)

**摘要:** 利用混合金属氧化物( $\text{IrO}_2\text{-Ta}_2\text{O}_5/\text{Ti}$ )电极在氯化钠电解质中产生的活性氯(氯气和次氯酸)灭活铜绿微囊藻细胞。活性氯在溶液中的生成符合法拉第定律,其浓度与电流密度和反应时间成正比。实验系统考察了藻细胞完整性、表面形态和光合活性在电化学氧化过程中的变化,并研究了藻类有机物和微囊藻毒素(MC-LR)在该过程中的释放与降解情况。结果表明:电化学氧化工艺可有效灭活铜绿微囊藻细胞;电流密度越大,反应时间越长,藻细胞破损程度越严重;胞外 MC-LR 在氧化过程中呈现先升高再降低的趋势,最终质量浓度可达到  $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  以下。电化学氧化工艺不仅可以有效灭活藻细胞,还能有效控制藻细胞胞外有机物和藻毒素,因此对于高藻水处理具有良好的应用前景。

**关键字:** 电化学氧化;铜绿微囊藻;活性氯;细胞完整性;微囊藻毒素

中图分类号:X522

文献标志码:A

## Inactivation of *Microcystis Aeruginosa* by Electrochemical Oxidation and Degradation of Microcystins

ZHOU Shiqing<sup>1,2†</sup>, BU Lingjun<sup>1,2</sup>, SHI Zhou<sup>1,2</sup>, XU Shirong<sup>1,2</sup>, WANG Tao<sup>1,2</sup>,

(1. College of Civil Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China;  
2. Key Laboratory of Building Safety and Energy Efficiency, Ministry of Education, Hunan University, Changsha 410082, China)

**Abstract:** Active chlorine (chlorine and hypochlorite) was generated with NaCl electrolytes by mixed metal oxide ( $\text{IrO}_2\text{-Ta}_2\text{O}_5/\text{Ti}$ ) electrode to inactivate *Microcystis aeruginosa*. The generation of active chlorine abides by the Faraday's law, and its concentration is proportional to the applied current density and reaction time. The variation of integrity, surface morphology, and photosynthetic ability of *Microcystis aeruginosa* during the electrochemical oxidation processes (EOPs) were investigated, and the release and degradation of algal organic matters and microcystins (MC-LR) were also studied. The results indicated that the EOPs can effectively inactivate *Microcystis aeruginosa*, and the proportion of cell lysis increased with current density and reaction time. The concentration of extracellular MC-LR during the EOPs increased and then decreased to below  $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . The EOPs can not only inactivate *Microcystis aeruginosa*, but also control the concentrations of algal organic matters and MC-LR. Therefore, the EOPs have a promising application potential for treating algae-laden water.

**Key Words:** electrochemical oxidation; *Microcystis aeruginosa*; active chlorine; cell integrity; microcystins

\* 收稿日期:2017-05-02

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51508174), National Natural Science Foundation of China(51508174)

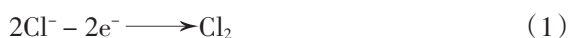
作者简介:周石庆(1986—),男,湖南岳阳人,湖南大学助理教授,博士生导师

† 通讯联系人, E-mail: shiqingzhouwater@163.com

近年来, 由于严重的水体富营养化现象, “水华”在世界各地的湖泊、水库中频繁发生<sup>[1-2]</sup>。其中铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)是最常见的藻种, 也是我国大部分湖泊的主要危害型藻类<sup>[3]</sup>。在“水华”过程中, 大量的藻细胞及其代谢物如藻毒素、内毒素、臭味物质等均会影响常规水处理工艺的正常运行<sup>[4-6]</sup>。虽然气浮工艺在一些饮用水厂中取得了较好的处理效果, 但在大多数地区混凝仍被视为去除藻细胞及其代谢物的关键屏障<sup>[7]</sup>。然而, 在水华现象发生时, 混凝对藻细胞的去除效果不佳, 且藻细胞破裂后释放的藻毒素等胞内物质无法被常规处理工艺有效去除<sup>[8]</sup>。

预氧化已经被越来越广泛应用于高藻水处理以提高藻细胞去除率并控制消毒副产物生成。在前人的研究中, 液氯<sup>[9,10]</sup>、二氧化氯<sup>[11]</sup>、高锰酸钾<sup>[12]</sup>等被大量应用于高藻水处理工艺, 取得了较好的效果。但此类氧化剂也存在运输、储存不便, 水体色度增加等问题。

随着电力行业的飞速发展, 太阳能、风力等新型能源的普及大大降低了电力成本, 使得电化学氧化工艺有潜力成为水处理过程中的重要一环。近年来, 大量学者针对电化学氧化在水处理工艺中的应用进行了研究并取得了进展<sup>[13-16]</sup>。电化学氧化中, 电解质和电极材料对水处理效率有着较大影响。通常情况下, 氯离子作为电解质可取得较好效果(原理如式(1)和式(2)所示)<sup>[17]</sup>。对于电极材料, 有研究表明活性电极(如  $\text{RuO}_2$  电极、铂电极)相较惰性电极(如金刚石电极、 $\text{SnO}_2$  电极)有着较低的析氧(氯)电位, 更易产生活性氯<sup>[18]</sup>。本文采用析氧(氯)电位较低的混合金属氧化物 (Mixed metal oxide,  $\text{IrO}_2\text{-Ta}_2\text{O}_5/\text{Ti}$ ) 电极作为工作电极、氯离子作为电解质, 以铜绿微囊藻作为研究对象, 探讨电化学氧化在高藻水处理过程中的效能及机理, 以期为实际水处理方面的应用提供理论基础。



## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

铜绿微囊藻藻种 (FACHB-912) 购自中科院武汉水生所, 采用 BG-11 培养液 (不含氯离子), 在光

照培养箱培养, 温度为 25 °C, 光照周期为 12 h 光照~12 h 黑暗。

如无特殊说明, 本实验采用所有样品均为分析纯, 实验中所有溶液均由超纯水配制。HPLC 级乙腈和甲酸购于 Sigma-Aldrich 公司, DPD 余氯试剂购于哈希公司, 玻纤滤膜购自 Whatman 公司, 氯化钠、硫代硫酸钠及 BG-11 培养基所需试剂均购自上海国药集团,  $\text{IrO}_2\text{-Ta}_2\text{O}_5/\text{Ti}$  电极购于陕西开达有限公司, 藻毒素 (MC-LR) 标准样品购于 Alexis 公司, SYTOX 核酸染剂购于 Invitrogen 公司。

### 1.2 实验方法

本实验采用  $\text{IrO}_2\text{-Ta}_2\text{O}_5/\text{Ti}$  电极 (5 cm × 2.5 cm) 为阳极, 不锈钢电极为阴极; 采用直流电源; 磁力搅拌器和磁力搅拌子用来加速藻细胞溶液的混合。实验装置示意图如图 1 所示。按固定时间取样, 所取样品中立即加入过量硫代硫酸钠溶液淬灭剩余氧化剂终止反应进行。

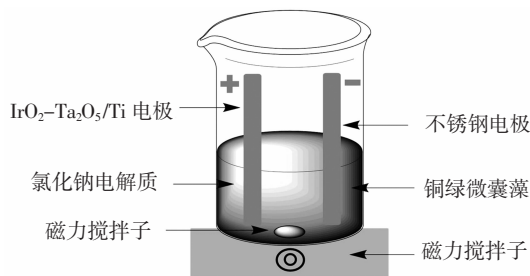


图 1 实验装置示意图

Fig.1 Schematic diagram of test apparatus

实验过程中, 藻细胞初始浓度为  $1.0 \sim 4.0 \times 10^6$  个· $\text{mL}^{-1}$ , 氯化钠电解质浓度为 30 mmol/L, 反应时间如无特殊说明均为 20 min, 电流密度为  $2.5 \sim 10.0$   $\text{mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。

### 1.3 分析方法

藻细胞浓度由紫外-可见光分光光度计 (U-3900, Hitachi) 于波长 680 nm 处测定; 活性氯含量采用余氯仪 (DR3900, Hach) 测定; 藻细胞氧化前后表面形态的变化通过扫描电镜观察 (SEM, JSM-6700F, Jeol)。

铜绿微囊藻细胞活性采用流式细胞仪 (FC500, Beckman Coulter) 检测: 通道 FL1 (530 nm) 收集 SYTOX 染剂产生的绿色荧光, 通道 FL3 (630 nm) 收集叶绿素-a 产生的红色荧光。SYTOX 染剂可以渗入死细胞内并将核酸染色, 因而可以用来判断细胞活性<sup>[19]</sup>。数据通过 Flowjo\_v10 软件分析。

三维荧光光谱采用 Hitachi F-7000 型荧光光谱分析仪进行分析: 发射波长扫描范围为 280 ~ 550 nm, 激发波长扫描范围为 220 ~ 450 nm, 扫描间隙 5 nm. 所得数据由 Surfer 软件分析处理.

藻毒素 MC-LR 浓度采用液相色谱-三重四级杆串联质谱联用仪(Agilent 1290/6460)测定: 流动相为超纯水(质量分数为 0.1%甲酸)和乙腈混合物(质量配比 65: 35), 流速 0.2 mL·min<sup>-1</sup>, 进样体积 10 μL, 质谱电离源为电喷雾电离正源(ESI).

## 2 结果与讨论

### 2.1 电化学氧化体系中的活性氯

为验证电化学氧化体系中活性氯的产生, 本研究在无藻细胞的情况下对该系统中活性氯浓度进行了测定. 图 2 为不同电流密度条件下电化学氧化中活性氯的质量浓度, 由图 2 可知, 当施加电流密度为 2.5 mA·cm<sup>-2</sup> 时, 在 20 min 内系统能够产生 7.3 mg·L<sup>-1</sup> 活性氯, 当电流密度增加至 10.0 mA·cm<sup>-2</sup> 时, 活性氯产量增加到 34.3 mg·L<sup>-1</sup>. 由法拉第定律(式(3))可知, 活性氯浓度与电流及反应时间成正比, 活性氯浓度随着电流密度及反应时间增大而增大.

$$C = I \times t / (F \times Z \times V) \quad (3)$$

式中:  $C$  代表活性氯的浓度(mol·L<sup>-1</sup>);  $Z$  是指电子转移数 (eq·mol<sup>-1</sup>);  $F$  为法拉第常数 (96 485.3 Coulombs·mol<sup>-1</sup>);  $V$  为电解液体积 (L);  $I$  为电流 (A);  $t$  为反应时间(s).

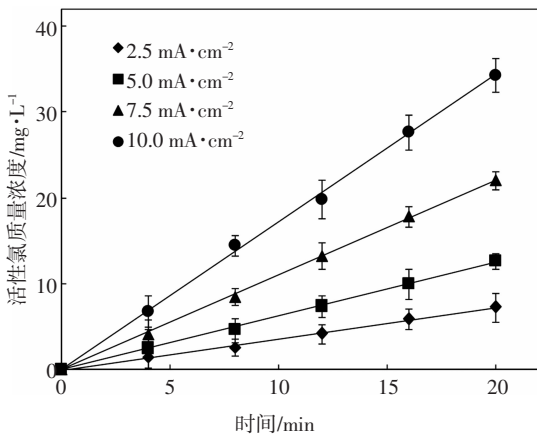


图2 不同电流密度条件下电化学氧化中活性氯的质量浓度

Fig.2 Generation of active chlorine at different applied current densities during the electrochemical oxidation

### 2.2 藻细胞完整性及其表面形态的变化

图 3 为采用不同电流密度电化学氧化处理后藻细胞完整性的变化情况. 如图 3 所示, R1 区域代表完整藻细胞, 其叶绿素-a 含量较高, 且 SYTOX 染料无法进入细胞内与核酸结合, 因此通道 FL3 强度较强, 而通道 FL1 强度较弱; 相反, R2 区域代表破损藻细胞, 通道 FL3 强度较弱, 通道 FL1 强度较强.

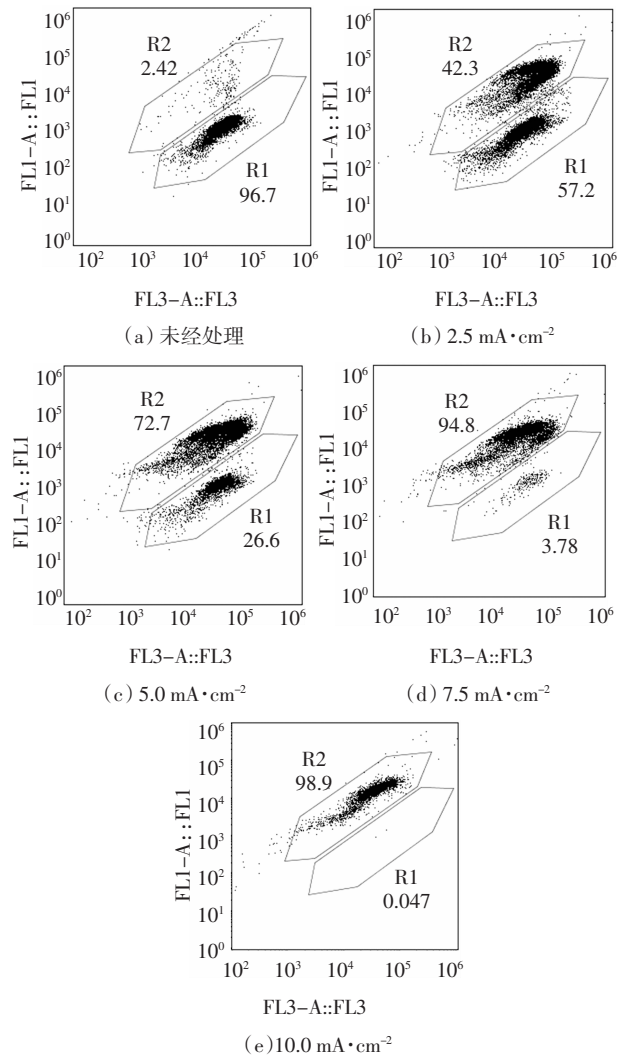


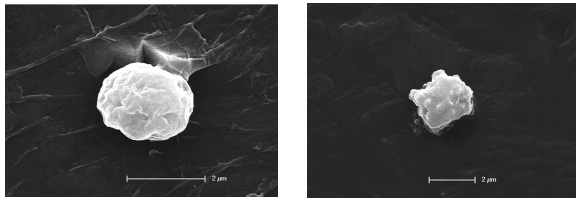
图3 不同电流密度电化学氧化处理后藻细胞的流式细胞图

Fig.3 Flow cytometry results of *Microcystis aeruginosa* after treatment of electrochemical oxidation with different current densities

由图 3 可知, 未经处理的藻细胞中有 96.7% 均为完整的细胞, 当向含藻细胞的溶液分别施加 2.5 mA·cm<sup>-2</sup> 和 5.0 mA·cm<sup>-2</sup> 的电流密度时, 伴随着细胞膜的破裂和叶绿素-a 的分解, 完整细胞比例分别降至 57.2% 和 26.6%; 而当电流密度继续分别增加至

7.5 mA·cm<sup>-2</sup> 和 10.0 mA·cm<sup>-2</sup> 时,溶液中几乎没有完整细胞残留,超过 90%的藻细胞被溶液中产生的活性氯氧化。

为获得电化学氧化铜绿微囊藻细胞的直观过程,采用电子扫描电镜(SEM)进行了实验表征,氧化前后藻细胞表面形态如图 4 所示,进一步证实了藻细胞在电化学氧化过程中的凋亡。电化学氧化处理前,藻细胞呈椭圆型,表面光滑,形状饱满,结构完整;而氧化后的藻细胞明显被溶液中产生活性氯严重侵蚀,虽然藻细胞大小仍能维持在 2 μm 左右,但其形状发生了很大改变,出现一些褶皱和萎缩,可见其失去了正常的形态,濒临死亡。



(a) 电氧化前 (b) 电氧化后  
图 4 藻细胞表面形态扫描电镜图

Fig.4 SEM images of *Microcystis aeruginosa* cell surface morphology

### 2.3 藻类光合活性的变化

为证明剩余藻细胞是否仍具有光合活性,将电化学氧化处理后的藻细胞置于培养基中继续光照培养 10 d,每隔 2 d 取样观察藻细胞浓度变化。铜绿微囊藻溶液的最大吸光度位于 680 nm 处,因此本研究采用 OD<sub>680</sub> 来反映溶液中藻细胞浓度。如图 5 所示,未经处理的藻细胞溶液吸光度在 10 d 内由 0.10

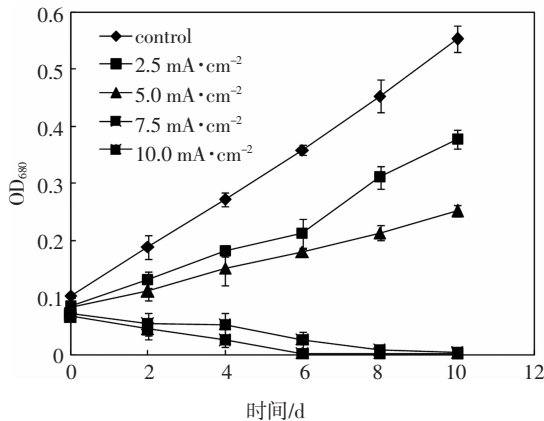


图 5 电化学氧化处理之后藻细胞溶液 OD<sub>680</sub> 的变化  
Fig.5 OD<sub>680</sub> variation of *Microcystis aeruginosa* solution after electrochemical oxidation

持续增长至 0.55;而分别经 2.5 mA·cm<sup>-2</sup> 和 5.0 mA·cm<sup>-2</sup> 电流密度氧化处理后藻细胞溶液吸光度虽仍在增长,但其增幅均有一定程度下滑(分别由 0.09 和 0.08 增长至 0.38 和 0.25)。而当外加电流密度分别增加至 7.5 mA·cm<sup>-2</sup> 和 10.0 mA·cm<sup>-2</sup> 时,藻细胞溶液吸光度在培养过程中呈下降趋势,10 d 后溶液几乎呈透明状,吸光度降至 0,表明采用该条件处理后的藻细胞基本不具有光合活性,无法继续增殖。此实验结果与流式细胞仪测试结果基本一致。

### 2.4 电化学氧化对藻类胞外有机物的影响

如图 6(a)所示,铜绿微囊藻胞外有机物的荧光光谱有 3 个特征峰,分别为类腐殖酸区域(C, Ex/Em = 330/420 nm)、类蛋白区域(B, Ex/Em = 280/335 nm)、类富里酸区域(A, Ex/Em = 280/450 nm)。当向藻细胞溶液中分别施加 5.0、7.5 和 10.0 mA·cm<sup>-2</sup> 的电流密度时,如图 6(b)(c)(d)所示,对应的 3 个特征峰均不同程度地被削弱,说明胞外有机物被不同程度的降解。在本研究中,并未观察到胞内有机物释放的现象,这可归因为溶液反应时间相对较长(20 min),释放的有机物被进一步降解。实验结果表明电化学氧化工艺不仅可以有效灭活藻细胞,还可以有效氧化藻细胞胞外有机物,从而可降低后续工艺中消毒副产物的生成潜能。

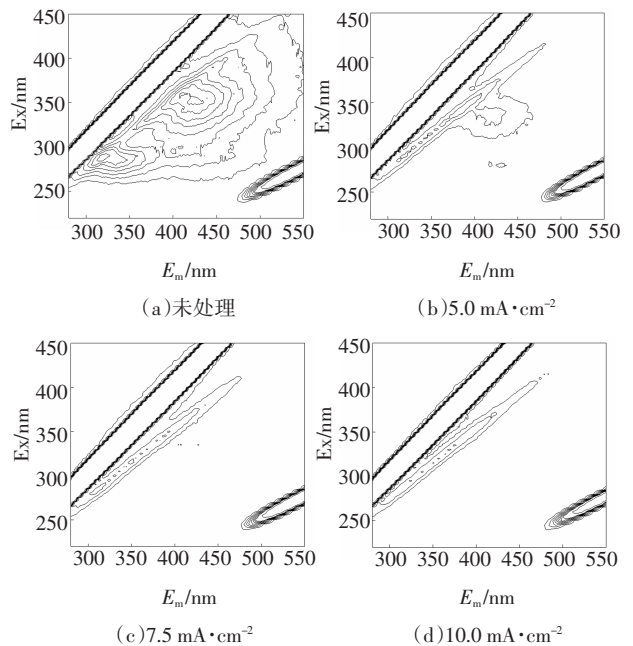


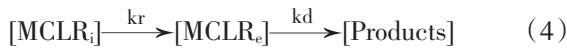
图 6 胞外有机物荧光光谱  
Fig.6 Fluorescence spectra of EOM



## 2.5 藻毒素在电化学氧化过程中的释放与降解

由于氧化剂能够引起藻细胞裂解,预氧化过程中常常会导致藻毒素 MC-LR 释放,加重后续水处理工艺的负荷.世界卫生组织和我国饮用水水质标准中均将 MC-LR 临界值限制为  $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  以下<sup>[20]</sup>,因此考察藻毒素在电化学氧化过程中的释放和降解非常重要.

根据 Zamyadi 等<sup>[9]</sup>对氯化铜绿微囊藻细胞的研究,预氧化过程中藻毒素的释放和降解可归纳为两个连续不可逆的一级反应,如方程(4)所示.



式中: $[\text{MCLR}_i]$ 和 $[\text{MCLR}_e]$ 分别为胞内和胞外藻毒素质量浓度; $k_r$ 和 $k_d$ 分别为胞内 MCLR 的释放速率和胞外 MCLR 的降解速率.如图 7 所示,当电流密度为  $2.5 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$  时,溶液中 MC-LR 质量浓度在 20 min 氧化时间内从  $15.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  缓慢增长至  $29.8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .这是由于在此电流密度下,胞内 MCLR 的释放速率大于胞外 MCLR 的降解速率,造成胞外藻毒素浓度逐渐升高.当电流密度增加到  $5.0 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$  时,20 min 氧化时间内溶液中 MC-LR 质量浓度先升高再降低.这是因为初始阶段伴随着胞内 MC-LR 的大量释放,其释放速率高于胞外 MC-LR 的降解速率,因此溶液中 MC-LR 质量浓度升高,8 min 时溶液中 MC-LR 质量浓度达到峰值( $55.7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ).随着体系中活性氯的质量浓度不断升高以及胞内 MC-LR 的完全释放,胞外 MC-LR 的降解速率大于胞内 MCLR 的释放速率,因此溶液中 MC-LR 的质量浓度开始降低,反应进行至 20 min 时,剩余 MC-LR 质

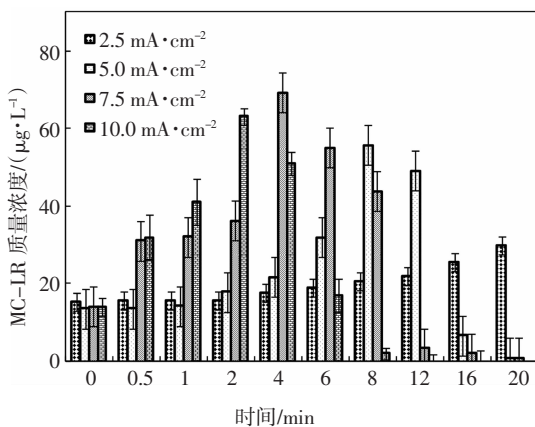


图 7 电流密度和接触时间对藻毒素释放和降解的影响

Fig.7 Effect of current density and contact time on the release and degradation of MC-LR

量浓度已低至  $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  以下.同理,当电流密度持续分别增加至  $7.5 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$  和  $10.0 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ ,溶液中 MC-LR 质量浓度呈现先升高后降低的趋势.但由于活性氯质量浓度随电流密度的增加而增加,溶液中 MC-LR 峰值出现的时间越来越提前,且随着氧化的进行,20 min 以内溶液中 MC-LR 的质量浓度均可降至  $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  以下.

## 3 结论

1)在本文所研究的电化学氧化体系中产生了活性氯(氯气、次氯酸),能够有效灭活藻细胞.

2)藻细胞完整性、表面形态和光合活性均在电化学氧化过程中遭到破坏.

3)电化学氧化过程能够有效氧化藻细胞胞外有机物,从而降低后续工艺中消毒副产物生成潜能.

4)电化学氧化过程可以有效降解胞外 MC-LR,达到我国饮用水卫生标准的要求( $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  以下).

## 参考文献

- [1] YANG M, YU J W, LI Z L, *et al.* Taihu Lake not to blame for Wuxi's woes [J]. *Science*, 2008, 319:158—158.
- [2] 余亚琴, 吕锡武, 吴义锋. 改进型 ABR 处理太湖富藻水启动研究[J]. 湖南大学学报(自然科学版), 2014, 41(3), 94—100.  
YU Y Q, LÜ X W, WU Y F. Start-up research on cyanobacteria in Taihu Lake treatment by the improved anaerobic baffle reactor [J]. *Journal of Hunan University (Natural Sciences)*, 2014, 41(3), 94—100. (In Chinese)
- [3] 高乃云, 沈嘉钰, 黎雷, 等. 高锰酸钾灭活铜绿微囊藻及胞内毒素释放机制 [J]. 同济大学学报(自然科学版), 2014, 42(5), 721—728.  
GAO N Y, SHEN J Y, LI L, *et al.* Inactivation of *Microcystis aeruginosa* by permanganate and release kinetics of intracellular microcystin [J]. *Journal of Tongji University (Natural Science)*, 2014, 42(5), 721—728. (In Chinese)
- [4] 张可佳, 高乃云, 黎雷. 高锰酸钾氧化嗅味物质  $\beta$ -环柠檬醛的动力学 [J]. 中南大学学报(自然科学版), 2011, 42(4), 1161—1166.  
ZHANG K J, GAO N Y, LI L. Kinetics of oxidation of odorant  $\beta$ -cyclocitral by potassium permanganate [J]. *Journal of Central South University (Science and Technology)*, 2011, 42(4), 1161—1166. (In Chinese)
- [5] ZHOU S Q, SHAO Y S, GAO N Y, *et al.* Characterization of algal

- organic matters of *Microcystis aeruginosa*: biodegradability, DBP formation and membrane fouling potential [J]. *Water Research*, 2014, 52, 199—207.
- [6] HENDERSON R K, BAKER A, PARSONS S A, *et al.* Characterisation of algogenic organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms [J]. *Water Research*, 2008, 42, 3435—3445.
- [7] 罗岳平, 施周, 张丽娟, 等. 高岭土对铜绿微囊藻的 PAC 强化絮凝去除技术 [J]. *湖南大学学报 (自然科学版)*, 2009, 36(2), 22—26.
- LUO Y P, SHI Z, ZHANG L J, *et al.* Study of enhanced removal of *Microcystis aeruginosa* by adding Kaolin and PAM in PAC flocculation process [J]. *Journal of Hunan University (Natural Sciences)*, 2009, 36(2), 22—26. (In Chinese)
- [8] PIVOKONSKY M, KLOUCEK O, PIVOKONSKA L. Evaluation of the production, composition and aluminum and iron complexation of algogenic organic matter [J]. *Water Research*, 2006, 40, 3045—3052.
- [9] ZAMYADI A, FAN Y, DALY R I, *et al.* Chlorination of *Microcystis aeruginosa*: toxin release and oxidation, cellular chlorine demand and disinfection by-products formation [J]. *Water Research*, 2013, 47, 1080—1090.
- [10] 欧桦瑟, 高乃云, 郭建伟, 等. 氯化法和 UVC 灭活铜绿微囊藻的机理 [J]. *华南理工大学学报 (自然科学版)*, 2011, 39(6), 100—105.
- OU H S, GAO N Y, GUO J W, *et al.* Inactivation mechanism of *Microcystis aeruginosa* by chlorination and UVC irradiation [J]. *Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition)*, 2011, 39(6), 100—105. (In Chinese)
- [11] ZHOU S Q, SHAO Y S, GAO N Y, *et al.* Effect of chlorine dioxide on cyanobacterial cell integrity, toxin degradation and disinfection by-product formation [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 482:208—213.
- [12] LI L, SHAO C, LIN T F, *et al.* Kinetics of cell inactivation, toxin release, and degradation during permanganation of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48:2885—2892.
- [13] RADJENOVIC J, SEDLAK D L. Challenges and opportunities for electrochemical processes as next-generation technologies for the treatment of contaminated water [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49:11292—11302.
- [14] SIRÉS I, BRILLAS E, OTURAN M A, *et al.* Electrochemical advanced oxidation processes: today and tomorrow. a review [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 21:8336—8367.
- [15] MARTÍNEZ-HUTLE C A, RODRIGO M A, SIRÉS I, *et al.* Single and coupled electrochemical processes and reactors for the abatement of organic water pollutants: a critical review [J]. *Chemical Review*, 2015, 115:13362—13407.
- [16] BU L J, ZHOU S Q, SHI Z, *et al.* Removal of 2-MIB and geosmin by electrogenerated persulfate: Performance, mechanism and pathways [J]. *Chemosphere*, 2017, 168: 1309—1316.
- [17] ZHOU S Q, BU L J, YU Y H, *et al.* A comparative study of microcystin-LR degradation by electrogenerated oxidants at BDD and MMO anodes [J]. *Chemosphere*, 2016, 165: 381—387.
- [18] COMNINELLIS C. Electrocatalysis in the electrochemical conversion/combustion of organic pollutants for waste water treatment [J]. *Electrochimical Acta*, 1994, 39: 1857—1862.
- [19] DALY R I, HO L, BROOKES J D. Effect of chlorination on *microcystis aeruginosa* cell integrity and subsequent microcystin release and degradation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41: 4447—4453.
- [20] World Health Organization. Cyanobacterial toxins: microcystin-LR, guidelines for drinking-water quality, addendum to vol. 2 [J]. Geneva: World Health Organization, 1998:95—110.