



移动扫码阅读

杨春钰,李洪欣,相金汛,等.84消毒剂对活性污泥效能的影响[J].能源环境保护,2022,36(4):37-43.

YANG Chunyu, LI Hongxin, XIANG Jinxun, et al. The effect of 84 disinfectant on phenol reduction efficiency of activated sludge[J]. Energy Environmental Protection, 2022, 36(4): 37-43.

84 消毒剂对活性污泥降酚效能的影响

杨春钰,李洪欣,相金汛,武井昕,时胜男*

(辽宁师范大学 生命科学院, 辽宁 大连 116081)

摘要:针对序批式活性污泥工艺(SBR),分析了84消毒剂对含酚废水处理效能的影响,确定了浓度阈值,通过毒理学特性及胞外聚合物(EPS)变化分析了84消毒液的毒性机制。结果表明:当浓度小于2 mg/L时,84消毒剂提高了脱氢酶(DHA)及苯酚降解酶活性并促进ATP产生,EPS中的蛋白质(PN)和多糖(PS)的含量随84消毒剂浓度升高而降低;当浓度大于2 mg/L时,相关酶活性降低并抑制ATP产生,活性氧(ROS)、乳酸脱氢酶(LDH)、PN、PS的含量升高。

关键词:84消毒剂;苯酚;苯酚降解酶;胞外聚合物

中图分类号:X703

文献标识码:A

文章编号:1006-8759(2022)04-0037-07

The effect of 84 disinfectant on phenol reduction efficiency of activated sludge

YANG Chunyu, LI Hongxin, XIANG Jinxun, WU Jingxin, SHI Shengnan*

(School of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116081, China)

Abstract: The effect of 84 disinfectant on the treatment of phenol-containing wastewater by sequencing batch reactor (SBR) process was analyzed, and the concentration threshold of 84 disinfectant was determined. The toxicity mechanism of 84 disinfectant was analyzed based on toxicological characteristics and changes of extracellular polymeric substances (EPS). The results indicated that when the concentration of 84 disinfectant was less than 2 mg/L, the addition of 84 disinfectant would improve the activities of dehydrogenase (DHA) and phenol degrading enzymes and promote the production of ATP. The contents of protein (PN) and polysaccharide (PS) in EPS decreased with the increase of 84 disinfectant concentration. When the concentration of 84 disinfectant was more than 2 mg/L, the activity of related enzymes was decreased, the production of ATP was inhibited, and the contents of reactive oxygen species (ROS), lactate dehydrogenase (LDH), PN and PS was increased.

Key Words: 84 disinfectant; Phenol; Phenol degrading enzyme; Extracellular polymeric substances

0 引言

面对突如其来的新冠肺炎疫情,全国人民上下一心共同奋战,国内疫情已得到基本控制。在本次抗击疫情的过程中,预防性消毒工作被公众广泛重视。开展预防性消毒可以切断病毒的传播,含氯消毒剂因其能切断病源传播的特性而被

广泛应用,尤其是84消毒剂。这些含氯消毒剂不可避免的通过生活污水和工业废水流入污水处理厂,导致污水中余氯含量大幅提高。众所周知,余氯主要包括氯气、次氯酸、次氯酸盐离子以及游离的次氯酸单体,具有改变微生物细胞膜通透性的作用,并能进入微生物细胞质中使蛋白质变性,破坏微生物的酶系统,从而起到抑制微生物生长或

收稿日期:2022-03-02;责任编辑:蒋雯婷

基金项目:国家自然科学基金(51508259)

第一作者简介:杨春钰(2001—),女,辽宁葫芦岛人,在校本科生,研究方向为水污染控制。E-mail:327329997@qq.com

通讯作者简介:时胜男(1984—),女,辽宁大连人,副教授,博士生导师,主要研究方向为有机废水生物处理技术。E-mail:shishengnan013@163.com

杀死微生物的作用^[1]。因此,含氯消毒剂的大量使用对活性污泥处理效能是否产生影响成为研究的热点问题。

84 消毒剂的主要成分为次氯酸钠。李渭印等以次氯酸钠为消毒剂,考察其对活性污泥降解性能的影响,当次氯酸钠浓度为 0.5 mg/L 时,对活性污泥的活性基本没有影响,但当次氯酸钠浓度为 0.5~3 mg/L 时,则会抑制活性污泥对氨氮的降解^[2]。陈琳凤等探究了高浓度次氯酸钠对活性污泥系统中微生物的影响,结果表明当次氯酸钠浓度为 15 mg/L 时,能显著杀灭亚硝酸盐氧化菌,进而抑制硝化和反硝化活性,并且胞外聚合物(EPS)总含量降低了 15.48%^[3]。以上研究表明,一定浓度的 84 消毒剂会抑制活性污泥的活性,但关于其对活性污泥效能的影响,缺乏系统的研究,同时 84 消毒剂的浓度阈值未见报道。

本研究以 SBR 体系为对象,系统考察了不同浓度的 84 消毒剂对活性污泥处理含酚废水效能的影响,确定浓度阈值,并通过毒理学特性分析及胞外聚合物(EPS)结构与功能分析,揭示了 84 消毒液的毒性机制。

1 材料与方法

1.1 污泥来源及进水水质

反应器活性污泥(AS)取自大连市春柳河污水处理厂二沉池。本实验废水为人工配制污水,进水水质为:(NH₄)₂SO₄ 2.0 g/L, KH₂PO₄ 2.0 g/L, Na₂HPO₄ 3.3 g/L,苯酚浓度为 600 mg/L,水质指标 COD 理论值为 1 563 mg/L。84 消毒剂有效氯含量为 4%~6%。

1.2 反应体系的构建及运行参数

取 6 个干净的锥形瓶(250 mL),分别加入 100 mL 的泥水混合物以构建批次摇瓶实验,混合液悬浮固体浓度(MLSS)为 4.5 g/L,污泥沉降比(SV₃₀)为 21%,污泥体积指数(SVI)为 46.7 mL/g。根据投加的 84 消毒剂(有效氯)浓度将摇瓶分别命名为 C1 体系(0)、C2 体系(1 mg/L)、C3 体系(2 mg/L)、C4 体系(3 mg/L)、C5 体系(4 mg/L)和 C6 体系(5 mg/L),将各摇瓶置于 30 ℃,150 r/min 的摇床中进行培养。在反应体系运行 24 h 内,每隔 2 h 取样测定苯酚降解效率,在运行到 24 h 时测定各体系中相关酶活性、ATP、ROS、LDH 及 EPS 含量。

1.3 分析方法

1.3.1 苯酚降解率的测定

使用 METASH UV-5800 紫外-可见分光光度计(中国,上海)在苯酚特征峰吸收峰 269 nm 下进行测定。

1.3.2 脱氢酶(DHA)活性的测定

采用 TTC-脱氢酶活性法进行测定^[4]。

1.3.3 苯酚羟化酶(PHO)和邻苯二酚 2,3-双加氧酶(C23O)活性的检测

C23O 和 PHO 活性测定参照文献^[5]。

1.3.4 ATP 含量的检测

采用 ATP 含量检测试剂盒,并按照说明书进行 ATP 含量的检测。

1.3.5 ROS 和 LDH 的检测

采用 ROS 检测试剂盒检测细胞内 ROS 的产生。采用 LDH 检测试剂盒按照说明书检测体系内 LDH 的释放。

1.3.6 EPS 相关测定

蛋白质浓度和多糖浓度分别采用考马斯亮蓝法和蒽酮-浓硫酸法^[6]。

1.3.7 3D-EEM 表征

荧光光谱仪的扫描条件如下:激发波长(Ex)范围为 240~480 nm,发射波长(Em)范围 250~580 nm,夹缝均为 10 nm,扫描速度为 2 400 nm/min。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中苯酚降解效率的影响

各活性污泥体系中苯酚的降解情况如图 1 所示,C3 体系的苯酚降解效率在 8 h 内达到了 100.0%,均高于 C1 体系(96.2%)、C2 体系(98.2%)、C4 体系(95.4%)、C5 体系(92.6%)和 C6 体系(88.9%)。从图 1 中可以看出,在反应运行 8 h 内,C1、C2 和 C3 的苯酚降解效率随 84 消毒剂浓度的增大而增大,C4、C5 和 C6 中的苯酚降解效率随 84 消毒剂浓度的增大而降低。该结果表明低浓度的 84 消毒剂(小于 2 mg/L)对 SBR 体系中苯酚的降解有促进的作用,而高浓度的 84 消毒剂(大于 2 mg/L)则会抑制活性污泥体系中苯酚的降解。有研究表明强氧化剂能够将苯酚氧化为易被微生物降解的物质,促进微生物对苯酚的降解^[7]。

因此,当 84 消毒剂浓度小于 2 mg/L 时,会促进苯酚废水的降解,可能归因于 84 消毒剂将苯酚

氧化为易被微生物降解的物质,进而促进苯酚降解效率的提高。当 84 消毒剂浓度大于 2 mg/L 时,可能由于其生物毒性大于其促进效果,进而抑制苯酚废水的降解。

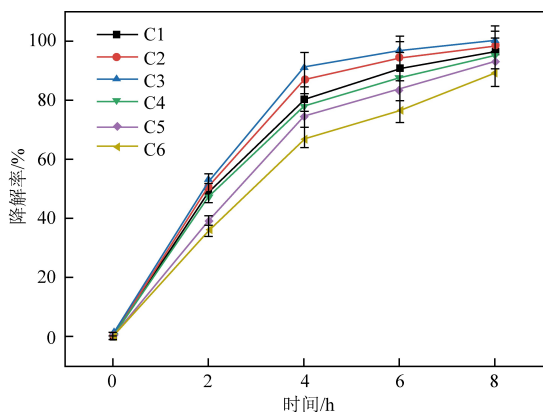
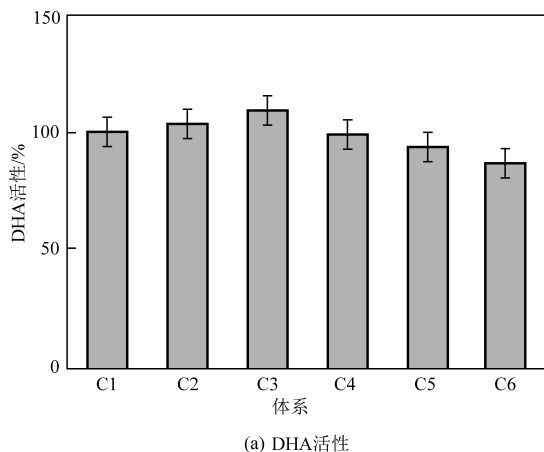


图 1 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中苯酚降解率的影响

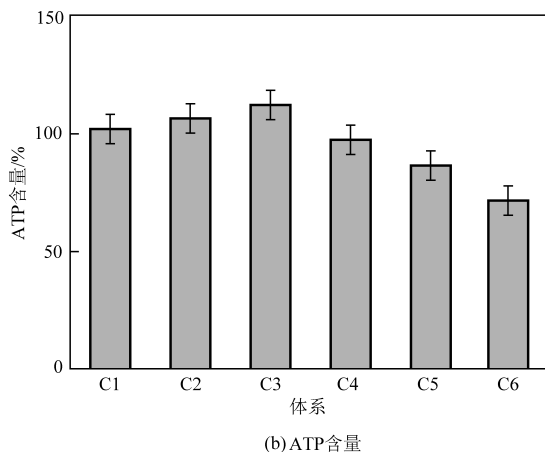
Fig.1 The effects of different concentrations of 84 disinfectant on the degradation rate of phenol in the SBR system

2.2 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中 DHA 活性和 ATP 含量的影响

TCA 循环和氧化磷酸化是生物化学的基本过程,通过这两个过程,微生物可以在有氧的条件下对有机化合物进行代谢分解,所以可以利用 DHA 活性和 ATP 含量来表达微生物的生物降解能力^[9-10]。如图 2(a)所示,以 C1 体系中 DHA 的活



(a) DHA 活性



(b) ATP 含量

图 2 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中 DHA 活性和 ATP 含量的影响

Fig.2 The effects of different concentrations of 84 disinfectant on DHA activity and ATP content in the SBR system

2.3 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中 PHO 和 C23O 活性的影响

微生物对苯酚的降解途径需要两个关键酶 PHO 和 C23O,因此本研究通过检测两者的活性来表达微生物对苯酚的降解能力^[8]。各体系 PHO 活性的变化情况如图 3(a)所示,以对照组(C1 体

性为 100.0%,C2 和 C3 体系中 DHA 活性随 84 消毒剂浓度的增大而增大,而 C4、C5 和 C6 体系中 DHA 活性随 84 消毒剂浓度的升高而降低,即 C3 体系最高(108.0%),其次是 C2 体系(103.4%)、C4 体系(99.0%)和 C5 体系(95.5%),C6 体系中 DHA 的活性最低(89.0%)。以上结果表明,当 84 消毒剂浓度小于 2 mg/L 时,84 消毒剂对活性污泥 DHA 活性具有促进作用,从而提升活性污泥体系中苯酚的降解效率;当 84 消毒剂浓度大于 2 mg/L 时,84 消毒剂对活性污泥体系中 DHA 的活性起抑制作用,导致活性污泥体系中苯酚的降解效率逐渐降低。

如图 2(b)所示,各体系中 ATP 含量的变化与 DHA 活性的变化趋势一致。以 C1 体系中的 ATP 含量为 100.0%,C2 和 C3 体系中 ATP 含量随 84 消毒剂浓度的升高而升高,而 C4、C5 和 C6 体系中 ATP 含量随 84 消毒剂浓度的升高而降低,即 C3 体系最高(109.2%),其次是 C2 体系(104.3%)、C4 体系(96.6%)、C5 体系(88.1%),C6 体系中 ATP 的含量最低(75.6%)。以上结果表明,当 84 消毒剂浓度小于 2 mg/L 时,84 消毒剂对活性污泥中 ATP 的产生具有促进作用,进而促进苯酚的降解;而当 84 消毒剂浓度大于 2 mg/L 时,84 消毒剂活性污泥体系中 ATP 含量逐渐降低,进而抑制苯酚的降解。

系)为 100%,C2 和 C3 体系中的 PHO 活性随 84 消毒剂浓度的升高而升高,从 100.0%提高至 111.4%,而 C4、C5 和 C6 体系中的 PHO 活性随 84 消毒剂浓度的升高而降低,从 111.4%降低至 74.4%。

从图 3(b)中可以看出,各体系中 C23O 活性

的变化与 PHO 活性的变化趋势一致。C2 和 C3 体系中的 C23O 活性随 84 消毒剂浓度的增大而增大,从 100.0%提高至 109.1%。而 C4、C5 和 C6 体系中的 C23O 活性随 84 消毒剂浓度的升高而降低,从 109.1%降低至 77.0%。以上结果说明,低浓

度的 84 消毒剂(小于 2 mg/L)对活性污泥 PHO 和 C23O 活性有促进作用,而对于高浓度的 84 消毒剂(大于 2 mg/L),其毒性作用会使活性污泥体系中 PHO 和 C23O 的活性降低,进而对体系中苯酚的降解效率起到抑制作用。

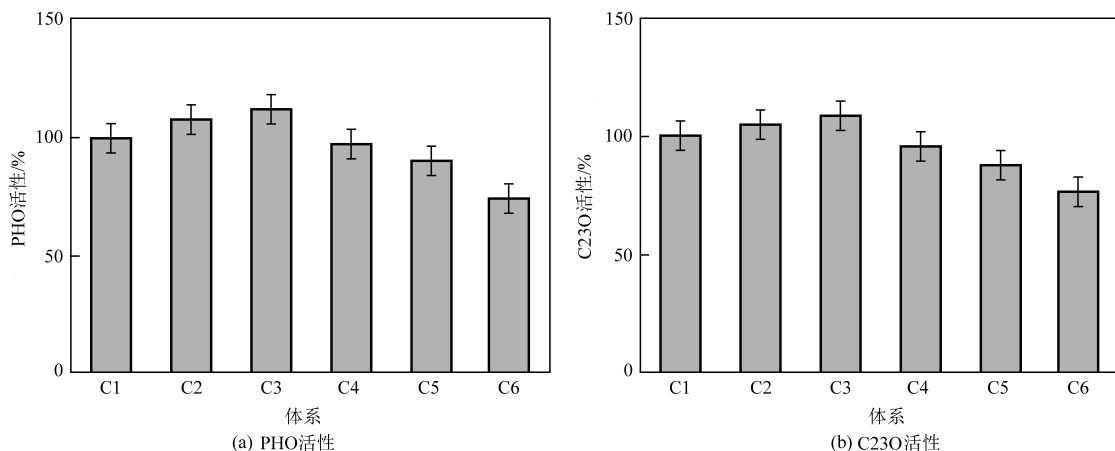


图3 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中 PHO 和 C23O 活性的影响

Fig.3 The effects of different concentrations of 84 disinfectant on the activities of PHO and C23O in the SBR system

2.4 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中 ROS 产生和 LDH 释放的影响

正常情况下,微生物细胞内 ROS 的含量较低,容易被中和。然而,当微生物受到外部刺激时,便会产生大量的 ROS,如果 ROS 在细胞中大量累积,会促使微生物细胞因发生氧化应激反应而使得细胞结构受到严重氧化损伤^[11-12]。ROS 还可能攻击细胞质膜上的不饱和磷脂,导致脂质过氧化而损伤细胞膜。除此之外,胞内 ROS 大量积累会损伤单链 DNA,进而影响微生物合成核酸、蛋白质等生理生化反应的正常运行^[13]。如图 4

(a)所示,以 C1 体系中的 ROS 含量为 100.0%,在 C1、C2 和 C3 体系中 ROS 含量无明显变化(均为 100.0%),说明 84 消毒剂浓度小于 2 mg/L 时未引起微生物细胞内的氧化应激反应,未对微生物细胞产生毒害;而 C4、C5 和 C6 体系中 ROS 含量随 84 消毒剂浓度的升高而升高(C4: 103.6%、C5: 119.6%、C6: 188.9%),尤其 C6 体系中 ROS 含量急剧升高至 188.9%,说明高浓度的 84 消毒剂(大于 2 mg/L)会引起微生物细胞内的氧化应激反应,对活性污泥体系中微生物细胞产生毒害作用,进而影响活性污泥体系的生理功能及理化性质。

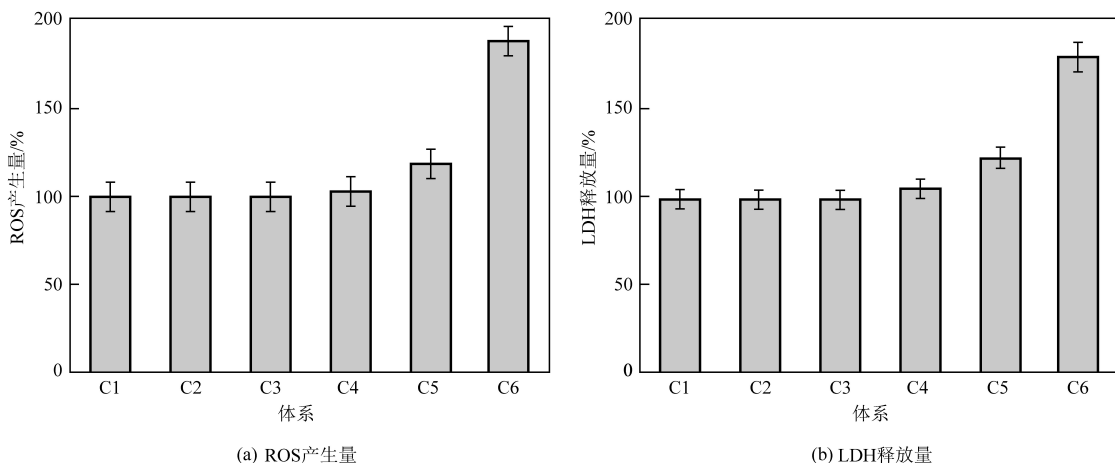


图4 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中 ROS 产生和 LDH 释放的影响

Fig.4 The effects of different concentrations of 84 disinfectant on ROS production and LDH release in the SBR system

LDH 是一种胞内酶,既可以用 LDH 来反映微生物细胞膜的完整情况,也可以用其表达微生物细胞的毒性情况^[14],因此,本研究分别检测各反应体系中 LDH 的释放量。如图 4(b) 所示,以 C1 体系中的 LDH 释放量为 100.0%,C1、C2 和 C3 体系 LDH 释放量无明显变化(均为 100.0%),说明 84 消毒剂浓度小于 2 mg/L 时未对微生物细胞膜造成破坏,对微生物细胞几乎没有毒性;C4、C5、C6 体系中 LDH 释放量随 84 消毒剂浓度的升高而升高(C4:106.0%、C5:124.0%、C6:181.0%),尤其 C6 体系中 LDH 释放量急剧升高,达到 181.0%,说明高浓度的 84 消毒剂(大于 2 mg/L)会破坏微生物细胞膜,导致 LDH 的释放,进而对活性污泥体系的生理功能及理化性质产生影响。

2.5 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中 EPS 含量的影响

EPS 是一种有机高分子聚合物,其主要成分为蛋白质(PN)和多糖(PS)。当外界有毒有害物质刺激微生物细胞时,微生物分泌的 EPS 会包裹在细胞外起保护作用^[15]。因此,本研究分别检测

不同浓度 84 消毒剂投加后 EPS 的含量。各体系的 EPS 中 PN 和 PS 含量如图 5 所示,C3 体系中的 PN 和 PS 含量最低(PN: 99.9 mg/L, PS: 187.9 mg/L),其次是 C2 体系(PN: 112.4 mg/L, PS:196.6 mg/L)、C3 体系(PN: 113.9 mg/L, PS: 199.1 mg/L)、C4 体系(PN:114.3 mg/L,PS:203.5 mg/L)、C5 体系(PN:127.8 mg/L,PS:209.8 mg/L)和 C6 体系(PN:160.6 mg/L,PS:274.8 mg/L)。综上所述,当 84 消毒剂浓度小于 2 mg/L 时,EPS 中 PN 和 PS 含量随 84 消毒剂浓度的升高而降低,有研究表明 EPS 中 PN 和 PS 的合成与 ATP 有关^[16]。因此,推测 EPS 含量下降的原因可能是低浓度 84 消毒剂(小于 2 mg/L)增加了活性污泥的代谢活性,促使蛋白质和多糖被活性污泥利用,进而降低 EPS 含量^[17];而当 84 消毒剂浓度大于 2 mg/L 时,EPS 中 PN 和 PS 含量随着 84 消毒剂浓度的升高而增多,说明高浓度的 84 消毒液(大于2 mg/L)会对活性污泥中的微生物细胞产生毒害作用,从而刺激微生物释放更多的 EPS 来保护自身细胞,以减轻 84 消毒剂的毒害作用。

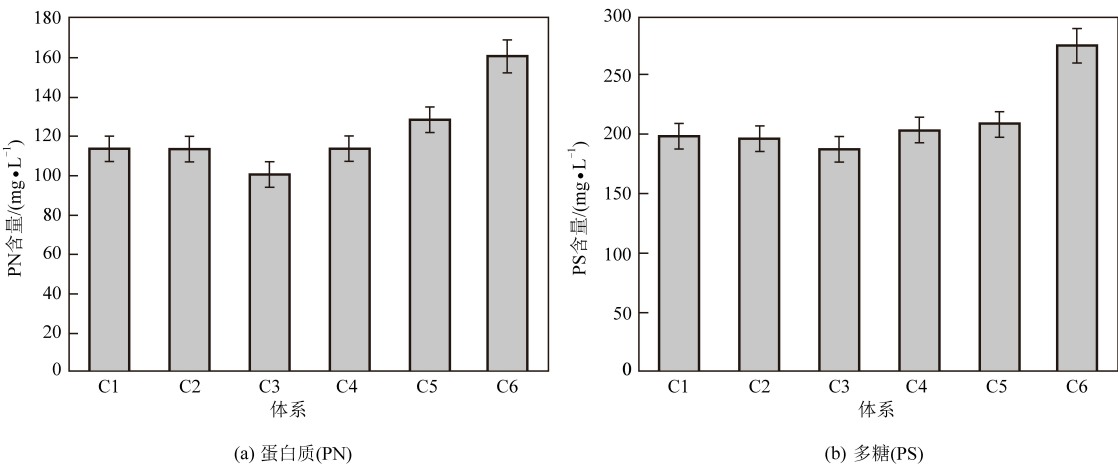


图 5 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中 EPS 中蛋白质和多糖含量的影响
Fig.5 The effects of different concentrations of 84 disinfectant on the contents of PN and PS in EPS in the SBR system

2.6 不同浓度的 84 消毒剂对 SBR 体系中 EPS 结构的影响

本研究利用 3D-EEM 光谱法进一步分析了不同浓度的 84 消毒剂对 EPS 中有机成分的影响。如图 6 所示,各 SBR 体系中 EPS 均有两个显著特征荧光峰 A(Ex/Em=295/350 nm)和 B(Ex/Em=350/450 nm),荧光峰 A 代表溶解性微生物代谢蛋白质,荧光峰 B 代表腐殖酸类物质。在低浓度 84 消毒剂(小于 2 mg/L)条件下,荧光峰 A 和 B

的荧光强度与 84 消毒剂浓度成反比例关系;相反,在高浓度 84 消毒剂(大于 2 mg/L)条件下,荧光峰 A 和 B 的荧光强度与 84 消毒剂浓度成正比例关系。结果表明,低浓度 84 消毒剂(小于 2 mg/L)会使类蛋白质和腐殖酸类物质的含量降低,然而高浓度 84 消毒剂(大于 2 mg/L)则起到相反的效果。该结果与上述 2.5 中所述的 EPS 中 PN 和 PS 含量分析结果一致。

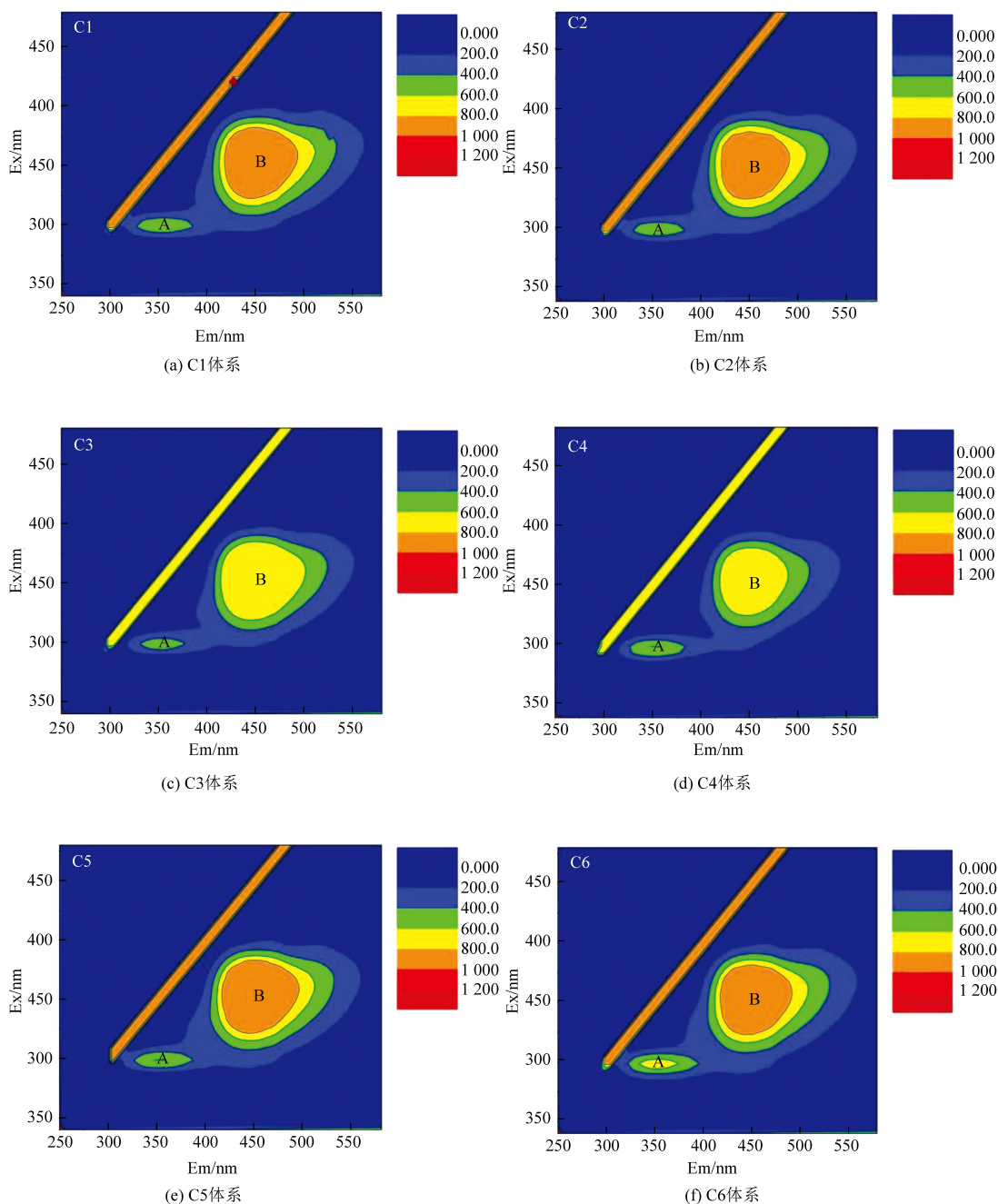


图 6 各反应体系中 EPS 的三维荧光光谱图

Fig.6 Three-dimensional fluorescence spectra of EPS in each reaction system

3 结 论

(1) 苯酚降解效率表明:当 84 消毒剂的浓度小于 2 mg/L 时,84 消毒剂可促进 SBR 体系中的苯酚降解,其主要归因于低浓度的 84 消毒剂会促进 DHA、苯酚降解酶活性及 ATP 的产生;当 84 消毒剂的浓度大于 2 mg/L 时,则抑制了苯酚的降解。综上,说明 84 消毒剂的最佳浓度阈值为 2 mg/L。

(2) ROS 和 LDH 含量检测表明:当 84 消毒剂

的浓度小于 2 mg/L 时未对微生物细胞产生毒害作用,而高浓度的 84 消毒剂(大于 2 mg/L)会对微生物细胞产生毒害作用,导致细胞膜破裂,大量的 LDH 释放到活性污泥体系中,进而影响 SBR 体系的生理功能及理化性质。

(3) EPS 的含量分析表明:当 84 消毒剂的浓度小于 2 mg/L 时,EPS 中 PN 和 PS 含量随 84 消毒液浓度升高而降低;当 84 消毒剂的浓度大于 2 mg/L 时,EPS 中 PN 和 PS 含量逐渐升高。3D-EEM 分析表明:84 消毒剂的浓度小于 2 mg/L 时,

体系中类蛋白质和腐殖酸类物质的含量降低,而高浓度的 84 消毒剂(大于 2 mg/L)则起到相反的作用。上述结果进一步说明 2 mg/L 为 84 消毒剂的最佳浓度阈值。

参考文献

- [1] 苏润雨, 聂伯尧, 杨百亮. 3 种消毒剂对金黄色葡萄球菌杀菌作用的研究 [J]. 天津农学院学报, 2016, 23 (3): 51-54.
- [2] 李渭印, 刘葵. 次氯酸钠对 SBR 反应器中活性污泥运行系统影响的研究 [J]. 广东化工, 2015, 42 (13): 64-65.
- [3] 陈琳风, 王怡, 王若卿. 高浓度消毒剂对活性污泥系统中微生物的影响 [J]. 中国给水排水, 2020, 36 (9): 7-11.
- [4] 原国家环境保护局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法: 第 4 版 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 211-213.
- [5] 季翔宇, 徐进, 刘佳鑫. 电强化磁固定化菌株 *Cupriavidus* sp. JS 耦合体系治理含苯酚废水 [J]. 环境污染与防治, 2018, 40 (3): 247-251.
- [6] Han X M, Wang Z W, Zhu C W, et al. Effect of ultrasonic power density on extracting loosely bound and tightly bound extracellular polymeric substances [J]. Desalination, 2013, 329: 35-40.
- [7] 李超. 氧化法处理模拟含酚废水的实验研究 [J]. 应用化工, 2009, 38 (11): 71-74.
- [8] Shi S N, Liu J X, Xu J, et al. Effects of biochar on the phenol treatment performance and microbial communities shift in sequencing batch reactors [J]. Water Research, 2019, 161: 1-10.
- [9] Chen T Y, Kuo S H, Chen S T, et al. Differential proteomics to explore the inhibitory effects of acidic, slightly acidic electrolysed water and sodium hypochlorite solution on *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Food Chemistry, 2016, 194: 529-537.
- [10] Lim J, Lee S, Kim S D, et al. Biochemical indication of microbial mass changes using ATP and DNA measurement in biological treatment of thiocyanate [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 80: 525-530.
- [11] Hou J, Miao L Z, Wang C, et al. Effect of CuO nanoparticles on the production and composition of extracellular polymeric substances and physicochemical stability of activated sludge flocs [J]. Bioresource Technology, 2015, 176: 65-70.
- [12] Dimkpa C O, Calder A, Britt D W, et al. Responses of a soil bacterium, *Pseudomonas chlororaphis* O6 to commercial metal oxide nanoparticles compared with responses to metal ions [J]. Environmental Pollution, 2011, 159: 1749-1756.
- [13] Han X, Wang Z, Wang X, et al. Microbial responses to membrane cleaning using sodium hypochlorite in membrane bioreactors: Cell integrity, key enzymes and intracellular reactive oxygen species [J]. Water Research, 2016, 88: 293-300.
- [14] Zheng X, Wu R, Chen Y. Effects of ZnO nanoparticles on wastewater biological nitrogen and phosphorus removal [J]. Environmental Science Technology, 2011, 45 (7): 2826-2832.
- [15] Wenming Xie, Bingjie Ni, T Seviour. Characterization of autotrophic and heterotrophic soluble microbial product (Smp) fractions from activated sludge [J]. Water Research, 2012, 46 (19): 6210-6217.
- [16] Jiang B, Liu Y. Energy uncoupling inhibits aerobic granulation [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 85: 589-595.
- [17] Shi S N, Xu J, Zeng Q Z, et al. Impacts of applied voltage on EMBR treating phenol wastewater: Performance and membrane antifouling mechanism [J]. Bioresource Technology, 2019, 282: 56-62.