

生物测试方法在城市污水毒性评价中的应用

黄满红,李咏梅,顾国维

(同济大学 污染控制与资源化国家重点实验室,上海 200092)

摘要: 分别用发光菌急性毒性测试法、大型蚤急性毒性测试法及微生物氧吸收累计量测试法三种毒性测试方法测试了上海市三个不同工艺的城市污水厂进出水的综合毒性。试验结果表明,发光菌急性毒性测试法是测定城市污水综合毒性的较准确的方法,可以用于测定城市污水的综合毒性;三个污水厂的进水分别经传统活性污泥法、缺氧/好氧工艺、连续一体化活性污泥处理工艺处理后,其毒性均有较大程度的降低;出水中含有的难降解有机物可能是导致出水毒性的原因之一。

关键词: 城市污水;综合毒性;微生物氧吸收累计量;发光菌;大型蚤

中图分类号: X 703

文献标识码: A

文章编号: 0253 - 374X(2005)11 - 1489 - 05

Application of Several Bioassays on Evaluating Toxicity of Municipal Wastewater

HUANG Man-hong, LI Yong-mei, GU Guo-wei

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: The comprehensive toxicity of influents and effluents in three municipal wastewater treatment plants with different treatment processes in Shanghai were measured by three bioassays (photoluminescent bacteria test, *Daphnia magna* acute toxicity test and microorganism respirometry technique). The results showed that the bioassay based on photoluminescent bacteria is a more suitable method in testing the toxicity of municipal wastewater than the other two methods. The results also demonstrated that the toxicity of raw municipal wastewater could be reduced by traditional activated sludge process, anoxic/aerobic process and uni-tank process respectively. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis showed that the refractory organic substance might be one of the factors causing the toxicity of effluents.

Key words: municipal wastewater; comprehensive toxicity; microorganism respirometry technique; photoluminescent bacteria; *Daphnia magna*

城市污水一般是由工业废水和生活污水组成的混合污水,因此不可避免地存在有毒物质,但是由于技术和经济的原因,目前主要以处理后的化学需氧

量(COD)、生化需氧量(BOD)、悬浮固体(SS)等常规指标的达标为目的,很少对城市污水处理过程中的有毒有害物质进行监测,也没有相应的国家标准

收稿日期: 2004 - 06 - 11

基金项目: 国家“十五”高技术研究发展规划资助项目(2002AA649170)

作者简介: 黄满红(1978 -),女,湖南娄底人,博士生. E-mail: huangmanhong@hotmail.com

对出厂水质的毒性进行控制。

在当前城市污水回用日益增多的情况下,人们认识到污水回用的首要条件是无害化。为了回用安全,减少其对环境可能产生的潜在危害,实现城市污水的无害化和资源化,必须对城市污水的毒性进行评价,从毒性方面建立污水处理并达标排放的评估模式。

以上海市曲阳污水厂、长桥污水厂、石洞口污水厂的进出水为研究对象,采用发光细菌急性毒性测试法、大型蚤急性毒性测试法以及微生物氧吸收累计量测试法三种毒性测试方法对它们进行毒性测定,以期通过比较分析,确定合适的废水毒性测定方法,为污水达标排放提供更为合理的评价依据。

1 试验方法

1.1 试验用水和试验条件

实验用水分别取自上海市曲阳污水厂(传统活性污泥法)、长桥污水厂(缺氧/好氧工艺,A/O工艺)、石洞口污水厂(连续一体化活性污泥处理工艺,uni-tank工艺)的进出水。所有毒性测试都在恒温室内进行,温度维持在 25 左右。

1.2 毒性测试方法

1.2.1 发光细菌急性毒性测试法^[1]

试验用发光细菌为明亮发光杆菌,购自中国科学院南京土壤研究所。采用 DXY-2 型生物毒性测试仪(中国科学院南京土壤研究所研制)测试发光细菌发光度。

1.2.2 大型蚤急性毒性测试法^[2]

大型水蚤类对许多毒物均很敏感,由于其取材容易,试验方法简便,世代周期短,实验室易培养,因此常被选定为毒性测试生物^[3]。本试验试验水温为 22~25,光暗比为 16:8。大型蚤急性毒性测试法使用小于 1 d 龄的幼蚤(10 个/个容器)。每个试验容器内放 100 ml 试验溶液,每天更换一次试验溶液。设 3 个平行样,分别记录大型蚤 24,48,72 h 死亡数。采用 HgCl₂ 为参比毒液。试验对照组用去氯的自来水为试验液。

1.2.3 微生物氧吸收累计量测试法

氧呼吸速率是评价污泥活性的主要指标,处理系统在遭受毒物冲击而导致污泥中毒时,污泥的氧呼吸速率会突然下降^[4]。基于此原理主要有两种毒性测试法,一种是按照氧最大呼吸速率的改变来判断污泥是否中毒;一种是比较污水中微生物氧吸收

累计量与内源呼吸微生物氧吸收累计量的相对大小来判断污泥是否中毒。微生物氧吸收累计量测试法采用后者。试验装置放置于 25 恒温室内,其构造如图 1 所示。活性污泥取自曲阳污水厂,反应器内的污泥质量浓度为 1~2 g L⁻¹,曝气 1~2 h 使微生物处于饥饿状态后,停止曝气静置沉淀,虹吸除去上清液。如此反复 2~3 次后,分别加入各污水厂的出水,去氯自来水作为内源呼吸线的测定参照物,待稳定后读数并记录溶氧值,每隔 30 min 测定一次,试验时间为 3 h。

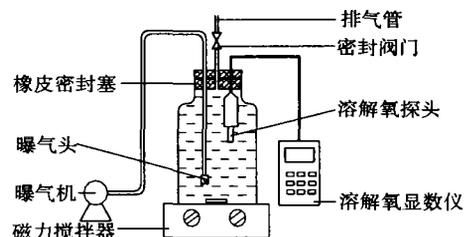


图 1 微生物氧吸收累计量测试法的反应器示意图

Fig. 1 Schematic diagram of microorganism respirometry technique

2 试验结果与讨论

2.1 发光细菌急性毒性测试法评价废水毒性

2.1.1 各污水厂进出水毒性的比较

分别于 2002 年 12 月和 2003 年 2 月,取得上海市曲阳污水厂、长桥污水厂、石洞口污水厂的进出水进行了发光菌急性毒性实验,进出水皆用滤纸过滤后测定,毒性测定结果和铬化学需氧量(COD_{Cr})、5 d 生化需氧量(BOD₅)值见表 1。

由表 1 可知,各污水厂的进水经处理后,其毒性均可得到较大程度削减,2003 年 2 月石洞口污水厂和曲阳污水厂出水的毒性甚至小于对照组的毒性,从而使发光菌抑光率出现负值,这时可以认为出水无毒。从表 1 中还可以看到,尽管出水水质指标 COD_{Cr}、BOD₅ 都达标的情况下出水并不都是无毒的,但发光菌抑光率都小于 30%,与进水毒性相比,出水毒性已经大大降低了。

2.1.2 发光菌抑制率与污水中有机物的关系

一般认为污水中包含在 COD 中的小分子有机物有可能导致发光菌的发光抑制。本研究于 2003 年 4 月对曲阳污水厂(约含 90%的生活污水)一周内出水进行常规指标 COD_{Cr}和 BOD₅的测定,根据公式 COD_{nb}(不可生物降解的化学需氧量) = COD_{Cr} -

BOD₅/0.58^[5]计算出水的 COD_{nb}值,并对该批水样进行发光菌急性毒性测试.试验测得的 COD_{nb}和发光菌抑制率相关关系如图 2 所示.由图 2 可知,发光菌抑光率随 ln(COD_{nb}/ (mg · L⁻¹)) 增大而增大,说明该厂出水中难降解物质对发光菌也可能存在发光

抑制作用.为了进一步了解污水厂出水对发光菌的发光抑制作用和其中有机物的关系,同期对曲阳污水厂出水进行了色质联机分析,对其中主要有机物进行分类并计量各种有机物质的质量分数,结果见表 2.

表 1 各污水厂进出水发光菌急性毒性测定结果

Tab. 1 Acute toxicity of influents and effluents in the three municipal wastewater treatment plants to photoluminescent bacteria

水样	COD _{cr} / (mg L ⁻¹)		BOD ₅ / (mg L ⁻¹)		发光菌抑光率/ %		相当的 HgCl ₂ 质量浓度/ (mg L ⁻¹)	
	12 月	2 月	12 月	2 月	12 月	2 月	12 月	2 月
石进	181	254	70	60	41.51	85.53	0.097 7	0.196 0
石出	54	50	13	15	28.63	- 20.58	0.065 9	
长进	345	355	145	110	78.86	92.09	0.190 0	0.210 3
长出	53	34	14	3	14.75	14.61	0.031 0	0.040 6
曲进	206	227	160	150	45.08	21.95	0.106 0	0.056 7
曲出	47	31	21	7	29.75	- 41.91	0.069 0	

注:所有图表中石进、石出、长进、长出、曲进、曲出分别表示石洞口污水厂进水、石洞口污水厂出水、长桥污水厂进水、长桥污水厂出水、曲阳污水厂进水、曲阳污水厂出水水样.

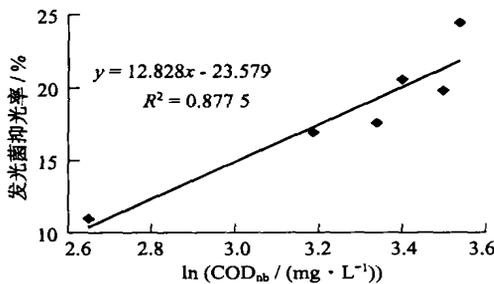


图 2 发光菌抑光率和 COD_{nb}的关系

Fig. 2 Relationship between inhibition of bioluminescence and non-biodegradable organics (COD_{nb})

从表 2 可知,曲阳污水厂出水中苯类质量分数较多,约占 40 %左右,烷烃占 27 %左右,双(2-甲基丙基)酯-1-2-苯二羧酸占 15 %左右,酮类和苯酚的衍生物等约占 15 %左右,表明出水中有机物以难降解有机物为主,这从另一方面也说明该厂污水出水中含有的难降解有机物可能是导致出水毒性的原因之一.

2.2 大型蚤急性毒性测试法评价废水毒性

分别于 2002 年 12 月和 2003 年 2 月,取上海市曲阳污水厂、长桥污水厂、石洞口污水厂的进出水进行了大型蚤急性毒性实验,进出水皆用滤纸过滤.实验结果见表 3.

试验结果表明,石洞口污水厂进水、曲阳污水厂进水、长桥污水厂进水对大型蚤都表现一定的 24,

48,72 h 急性毒性.污水厂出水对大型蚤都表现较低的 24,48,72 h 急性毒性,出水水样毒性顺序基本上为:石洞口污水厂出水 > 长桥污水厂出水 > 曲阳污水厂出水.

表 2 曲阳污水厂出水有机物含量情况

Tab. 2 Constituent of the organic substances in the effluent of Quyang waste water treatment plant

物质名称	w/ %	物质名称	w/ %
甲苯	19.27	4,6-二甲基-十一烷	2.15
乙苯	6.07	1,5-二恶旋[5.5]十一烷	0.72
对二甲苯	8.92	2,6,10-三甲基-十五烷	2.00
邻二甲苯	6.57	2,6,10,14-四甲基-十六烷	2.15
十四烷	0.14	双(2-甲基丙基)酯-1-2-苯二羧酸	14.99
十五烷	2.00	环己酮	4.85
十六烷	4.85	1-醋酸基-6-甲基-3-哌啶酮	0.36
十七烷	0.14	1,3,5-三甲基-2,4,6-三氧-1,3,5-三嗪	0.29
十八烷	4.28	N-甲基-4-(硫代甲酰)-2-(2,2-二甲基亚丙基)氨基丁胺	3.00
十九烷	6.42	(1,1-二甲基乙基)-2-羟基苯酚	6.28
2,2,6-三甲基-十八烷	3.22	N-乙基-O-甲苯磺胺盐	1.43

2.3 两种急性毒性实验结果的比较

已有研究^[2]表明在评价工业废水或者单一化合物毒性时,发光菌和大型蚤急性毒性测定结果有相关性.在本研究中,根据 HgCl₂对大型蚤的 48 h

表 3 大型蚤 24,48,72 h 急性实验结果

Tab.3 Acute toxicity(24,48,72 h) of wastewater samples to *Daphnia magna*

水样	24 h		48 h		72 h	
	12 月水样 大型蚤致死率	2 月水样 大型蚤致死率	12 月水样 大型蚤致死率	2 月水样 大型蚤致死率	12 月水样 大型蚤致死率	2 月水样 大型蚤致死率
石进	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
石出	20.0	16.7	20.0	16.7	20.0	16.7
长进	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
长出	0	0	0	20.0	0	20.0
曲进	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
曲出	0	10.0	0	10.0	10.0	10.0
对照组	0	3.3	0	3.3	0	3.3

毒性实验结果,用目测概率法^[6]求得 $HgCl_2$ 为参比毒液的半致死质量浓度 $(HgCl_2)_{LC_{50}}$,结果如图 3 所示.由图 3 可求得 $HgCl_2$ 的大型蚤 $(HgCl_2)_{48 hLC_{50}}$ (48 h 半致死率) = $13.85 \mu g \cdot L^{-1}$ (25), $y = 3.2973x + 1.2361$ (其中 y 为大型蚤死亡的概率单位, x 为 $HgCl_2$ 的质量浓度对数), $r = 0.9425 > r(0.01, 5) = 0.874$, $(HgCl_2)_{LC_{50}}$ 的 99% 的可信限为 $12.92 \sim 14.78 \mu g \cdot L^{-1}$.同时对用 $HgCl_2$ 表示的对大型蚤的 48 h 急性毒性实验结果和发光菌急性毒性实验中用 $HgCl_2$ 表示的毒性结果进行对比,结果如图 4 所示(为了比较两个毒性方法测定的灵敏性,用发光菌实验和大型蚤实验的半致死质量浓度相比,得到比值系数 7.219,图中大型蚤的 $HgCl_2$ 质量浓度已经乘以该系数).

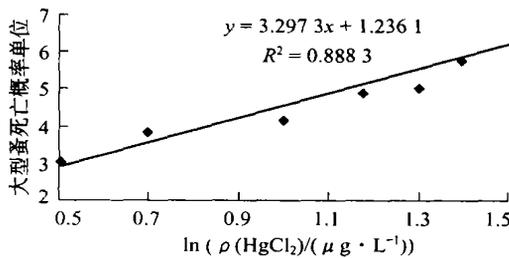


图 3 大型蚤死亡概率单位与 $HgCl_2$ 浓度对数的相关关系图

Fig.3 Relationship of daphnids immobility probability unit

结果表明虽然相当的 $HgCl_2$ 质量浓度对发光菌的半数效应质量浓度 $(HgCl_2)_{EC_{50}}$ 在 $(0.10 \pm 0.02) mg \cdot L^{-1}$ (99%),而对大型蚤的 $(HgCl_2)_{48 hLC_{50}} = (13.85 \pm 0.93) \mu g \cdot L^{-1}$ (99%),但是从图 4 可知,发光菌和大型蚤急性毒性测试结果相关性不高,可能是城市污水中污染物质种类繁多,而且各物质浓度较低,城市污水综合毒性较小,从而使测试结果的相

关性欠佳;城市污水综合毒性对发光菌的抑制作用比对大型蚤的致死作用更明显,表明发光菌急性毒性测试法比大型蚤急性毒性测试法更适合用来测定城市污水的综合毒性.

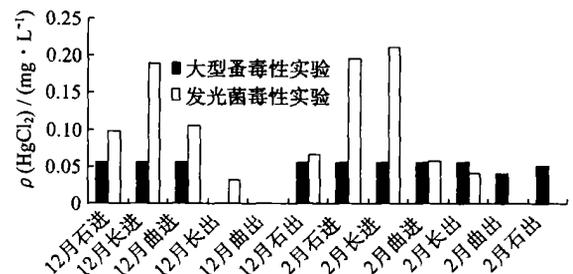


图 4 用 $HgCl_2$ 表示的两种急性毒性测定结果的比较
Fig.4 Comparison of the two acute toxicity evaluation methods by equivalent toxicity of mercury

2.4 微生物氧吸收累计量测试法评价废水毒性

分别于 2002 年 12 月和 2003 年 2 月,取上海市曲阳污水厂、长桥污水厂、石洞口污水厂的出水以及月浦自来水厂的原水进行微生物氧吸收累计测试法实验.从实验所得呼吸速率累计曲线中求得平均速率.各污水厂出水的呼吸平均速率与内源呼吸速率的比值 $K_{出水}/K_{内源}$ 与 COD_{nb} 见表 4, $K_{出水}/K_{内源}$ 与 COD/COD_{nb} 的相关关系如图 5 所示.

由图 5 所知, $K_{出水}/K_{内源}(y)$ 与 $COD/COD_{nb}(x)$ 呈 $y = 1.4235e^{0.3695x}$ ($x > 0$) 的关系,说明微生物氧吸收累计量累计曲线中的平均速率与内源呼吸速率的比值 $K_{出水}/K_{内源} > 1.4235$ 时,其与污水的降解性成很好的相关关系.按理论分析 $K_{出水}/K_{内源} < 1$ 的情况没有发生,原因可能有两个,一个是毒物浓度不够大到抑制呼吸作用,另一个可能是实验污泥取自城市污水厂,其中的微生物对城市污水中的有毒物质已有一定的适应能力.此时也无法建立 $K_{出水}/K_{内源}(x)$ 与 $COD/COD_{nb}(y)$ 的关系.

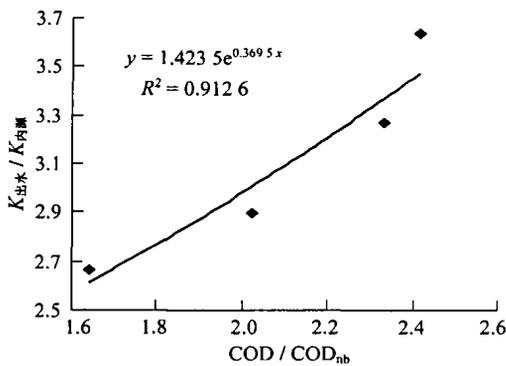


图 5 $K_{出水}/K_{内源}$ 与 COD/COD_{nb} 关系图

Fig. 5 Relationship of $K_{effluent}/K_{endogenous}$ and COD/COD_{nb} of the wastewater samples

表 4 发光菌抑制率、呼吸平均速率/内源呼吸速率的比值及 COD_{nb}

Tab. 4 Inhibition of bioluminescence, $K_{effluent}/K_{endogenous}$ and COD_{nb} of the wastewater samples

水样	12月			2月		
	发光菌抑光率/ %	$COD_{nb}/(mg L^{-1})$	$K_{出水}/K_{内源}$	发光菌抑光率/ %	$COD_{nb}/(mg L^{-1})$	$K_{出水}/K_{内源}$
石出	28.63	31.59	3.268 6	- 20.58	24.14	2.239
长出	14.75	28.86	3.637 5	14.61	28.80	4.086
曲出	- 33.35	10.89	2.898 9	- 41.91	18.90	2.667

表 5 两种急性毒性测试方法实验结果排名

Tab. 5 Acute toxicity sequence of the wastewater samples

方法	12月						2月					
	石进	石出	长进	长出	曲进	曲出	石进	石出	长进	长出	曲进	曲出
大型蚤 24 h 试验	1	1	1	5	1	5	1	4	1	3	2	5
大型蚤 48 h 试验	1	1	1	5	1	5	1	4	1	1	1	5
大型蚤 72 h 试验	1	1	1	5	1	5	1	4	1	1	1	5
发光菌	3	4	1	5	2	6	2	5	1	4	3	6

(2) 发光细菌法相对可靠,可以用来评价城市污水的综合毒性。

(3) 用微生物氧吸收累计量测试法无法建立城市污水中 $K_{出水}/K_{内源}$ 与 COD/COD_{nb} 的关系,需要进一步研究改善其测试条件及分析方法。

(4) 出水水质指标 COD_{cr} 、 BOD_5 都达标的情况下出水并不都是无毒,污水出水中的难降解有机物可能是导致出水毒性的原因之一,在污水厂出水回用时应该加以重视。

参考文献:

[1] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 第 4 版. 北京:中国环境科学出版社,2002.
Chinese Environment Protection Agency. Standard methods for the examination of water and wastewater[M]. 4th ed Beijing: En-

2.5 废水水样毒性排名

对发光菌实验和大型蚤实验测得的水样毒性进行排名,按照毒性由大到小的顺序,依次记为 1 到 6. 结果见表 5.

由表 5 可知,所有污水厂进出水大型蚤 24,48,72 h 急性实验和发光菌实验测得的污水厂出水毒性排名一致,表明以上实验方法可靠性较好,其中发光菌法更为准确。

3 结论

(1) 各个污水厂的进水分别经传统活性污泥法,A/O,uni-tank 处理后,其毒性都有较大程度的削减。

vironment Science Press,2002.

[2] Albin Pintar, Michele Besson, Pierre Gallezot, et al. Toxicity to *Daphnia magna* and *vibrio fischeri* of kraft bleach plant effluents treated by catalytic wet - air oxidation[J]. Water Research, 2004, 38(2):289 - 300.
[3] Huggett D B, Brooks B W, Peferson B, et al. Toxicity of select beta adrenergic receptor-blocking pharmaceuticals (B-Blockers) on aquatic organisms[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2002, 43(2):229 - 235.
[4] Ko J, Woo H, Coop J B. Evaluation of several respirometry-based activated sludge toxicity control strategies [J]. Wat Sci Tech, 2002, 45(4 - 5):143 - 150.
[5] METCALF, EDDY, INC. Wastewater engineering, treatment, disposal, and reuse[M]. 3rd ed. New York:McGraw-Hill,1991.
[6] 国家环保局. 水生生物监测手册[M]. 南京:东南大学出版社,1993.
Chinese Environment Protection Agency. Aquatic organism monitoring manual[M]. Nanjing: Dongnan University Press,1993.

(编辑:王东静)