

# 电镀废水典型重金属对脱氢酶活性与微生物的影响

刘洪波<sup>1</sup>, 宋筱<sup>1</sup>, 黄东伟<sup>1</sup>, 关永年<sup>2</sup>

(1. 上海理工大学 环境与建筑学院, 上海 200093; 2. 苏州工业园区清源华衍水务有限公司, 江苏 苏州 215021)

**摘要:** 分析了电镀废水典型重金属(铜、铬、镍)浓度、形态、暴露时间对污泥脱氢酶活性的影响。结果表明,  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$  对活性污泥的半致死浓度  $\text{CE}_{50}$  分别为 0.58、1.41、8.53 和 6.67 mg/L。以污泥脱氢酶活性表征的重金属毒性由大到小依次为:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cr}^{3+}$ 。当进水重金属浓度为 50 mg/L 时, 其对脱氢酶活性的抑制率达到 80% 以上, 且对脱氢酶活性的抑制率由大到小依次为:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Cr}^{3+} > \text{Ni}^{2+}$ 。当 pH 值为 8 时, 重金属对脱氢酶活性的抑制作用最弱, 偏酸或偏碱条件下则对脱氢酶活性抑制作用较强。采用高通量测序法探究重金属对活性污泥微生物群落结构的影响发现, 变形菌门、绿菌门、厚壁菌门是电镀废水活性污泥中的优势菌种, 且  $\text{Cu}^{2+}$  有助于提高活性污泥中变形菌门和绿菌门的比例,  $\text{Cr}^{6+}$  有助于富集绿菌门和厚壁菌门,  $\text{Ni}^{2+}$  有助于富集变形菌门和厚壁菌门。

**关键词:** 电镀废水; 重金属; 活性污泥; 脱氢酶活性; 群落结构

**中图分类号:** TU992 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2018)15-0090-05

## Effect of Typical Heavy Metals on Dehydrogenase Activity and Microorganism in Electroplating Wastewater

LIU Hong-bo<sup>1</sup>, SONG Xiao<sup>1</sup>, HUANG Dong-wei<sup>1</sup>, GUAN Yong-nian<sup>2</sup>

(1. School of Environment and Architecture, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. Suzhou Industrial Park Qingyuan Hong Kong & China Water Co. Ltd., Suzhou 215021, China)

**Abstract:** The effects of concentration, species and exposure time of three typical heavy metals (copper, chromium and nickel) in electroplating wastewater on dehydrogenase activity of activated sludge system were analyzed. It was found that half lethal concentration  $\text{CE}_{50}$  of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  on activated sludge was 0.58 mg/L, 1.41 mg/L, 8.53 mg/L and 6.67 mg/L, respectively. Heavy metal toxicity characterized by sludge dehydrogenase activity was in the order of  $\text{Cu}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cr}^{3+}$ . When the influent concentration of heavy metal was 50 mg/L, the inhibition rate of dehydrogenase activity was more than 80%, and the inhibition rate of dehydrogenase activity was in the order of  $\text{Cu}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Cr}^{3+} > \text{Ni}^{2+}$ . The inhibition of dehydrogenase activity was the weakest by heavy metals when the pH value was 8, and the inhibition of dehydrogenase activity was stronger under the condition of partial acid or alkali. The effects of heavy metals on microbial community structure of activated sludge were investigated by high-throughput sequencing. The results showed that dominant bacteria in the activated sludge of

electroplating wastewater were *Proteobacteria*, *Chlorobi* and *Firmicutes*.  $\text{Cu}^{2+}$  contributed to increase the proportion of *Proteobacteria* and *Chlorobi* in activated sludge.  $\text{Cr}^{6+}$  promoted the enrichment of *Chlorobi* and *Firmicutes*, and *Proteobacteria* and *Firmicutes* were enriched by  $\text{Ni}^{2+}$ .

**Key words:** electroplating wastewater; heavy metal; activated sludge; dehydrogenase activity; community structure

电镀废水大都含有铜、铬、镍等重金属组分,因而具有很高的环境稳定性和生物不可降解性<sup>[1,2]</sup>,若在预处理过程中不能得到有效去除,则会给城市污水生物处理带来很大困难。虽然微量重金属是微生物生长的必需元素,但当重金属浓度超过一定限值时,就会抑制微生物的生长,甚至导致死亡。有研究证实,当外界环境重金属浓度过高时,微生物能快速并且无选择地吸附重金属,再缓慢渗入到细胞内部,特别是当重金属与有机物形成金属盐或络合物时,渗透过程会变得极其快速<sup>[3,4]</sup>。重金属进入细胞内部后,将严重干扰生物体内酶的正常生物学功能,使其失去作用,严重时直接引起个体死亡,造成微生物种群功能的衰退,从而影响污水处理效果<sup>[5-9]</sup>。重金属对微生物造成毒害作用的机理十分复杂,其中浓度是破坏活性污泥系统的主要因素之一。Keiko 等的研究表明,当镉和汞离子浓度分别超过 0.16 和 0.04 mmol/gMLSS 时,污泥脱氢酶活性降低 50%。陈纯等发现,  $\text{Cu}^{2+} \geq 40 \text{ mg/L}$  时,活性污泥系统对 COD 的去除率小于 10%。

笔者分析了 3 种电镀废水典型重金属(铜、铬、镍)的浓度、形态、暴露时间对活性污泥系统中脱氢酶活性的影响。利用毒性抑制速度( $\Gamma$ )参数计算了  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$  对活性污泥的半致死浓度( $\text{CE}_{50}$ ),并采用高通量测序法探究了重金属对活性污泥微生物群落结构的影响,旨在为研究电镀废水重金属预处理与后续生化工艺的衔接提供参考。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 活性污泥和污水水质

试验污泥取自上海市某污水处理厂的曝气池,通过人工配制的培养液进行驯化,控制污泥 MLSS 在 4 000 mg/L 左右。

试验污水为人工配制的模拟废水,具体成分:  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  (200 mg/L)、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (8.78 mg/L)、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  (38.2 mg/L)、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (4 mg/L)、 $\text{NaHCO}_3$  (50 mg/L)、 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$  (0.05 mg/L)、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (4

mg/L)、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (5 mg/L)、 $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0.076 mg/L)、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0.08 mg/L)、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.04 mg/L)。COD : N : P = 100 : 5 : 1。

#### 1.1.2 试验试剂与仪器

试验试剂:2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)、浓硫酸、三羟甲基氨基甲烷、无水硫酸钠、葡萄糖等,均为分析纯。

主要仪器:AAS 火焰原子分光光度计、自动压力蒸汽灭菌器、全能型微波化学工作平台、HACH 消解仪、pH 计等。

#### 1.1.3 试验方法

向 11 个曝气反应器中分别加入 200 mL 驯化后的活性污泥,再加入 300 mL 不同浓度的重金属溶液( $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ ),使进水重金属离子的浓度分别达到 0、1、5、10、25、50、100、150、200、250、350 mg/L,曝气一定时间。采用重量法测定 MLSS,采用三苯基甲酯(TF)定量分析法测定脱氢酶活性,采用分光光度法测量光密度,并计算 2,3,5-氯化三苯基四氮唑-脱氢酶活性<sup>[10]</sup>。

驯化活性污泥:将从污水处理厂获取的新鲜污泥放入有效容积为 10 L 的反应器中,反应器内设有曝气装置,空气经空压机压缩后通过反应器底部的曝气头扩散至整个反应器。每天运行 4 个周期,每个周期的时间为 6 h(曝气 4 h、静置换水 2 h),换水时添加模拟废水。保持反应器的温度为  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ ,系统运行时间由时间控制器设置。调节 pH 值为 7.5~8、DO 为 5~7 mg/L、水力停留时间(HRT)为 6 h、污泥龄(SRT)为 10 d,系统运行稳定后开始后续试验。

## 2 结果与讨论

### 2.1 重金属浓度对污泥脱氢酶活性的影响

#### 2.1.1 铜离子浓度

图 1 为  $\text{Cu}^{2+}$  浓度对污泥脱氢酶活性的影响。可以看出,随着  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的增加,活性污泥系统的脱氢酶活性急剧下降,TTC 抑制率急剧上升。当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度达到 25 mg/L 时,微生物细胞内的 TF 含

量接近于零, TTC 抑制率高达 90%, 此时活性污泥脱氢酶基本处于失活状态。在此状态下,  $\text{Cu}^{2+}$  与微生物体内酶分子上的一SH 基团发生可逆结合, 导致脱氢酶活性下降, 抑制微生物的生命活动。

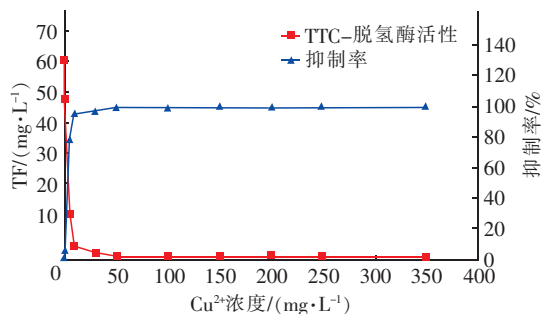


图1  $\text{Cu}^{2+}$  浓度对污泥脱氢酶活性的影响

Fig. 1 Effect of  $\text{Cu}^{2+}$  concentrations on dehydrogenase activity of activated sludge

绘制  $I$  参数与重金属浓度之间的回归曲线, 经计算  $I$  参数的线性回归方程为  $Y=1.710X$ 。令  $Y=1$ , 则  $X=0.58$ , 表明引起活性污泥系统脱氢酶活性半失活状态时, 所需的  $\text{Cu}^{2+}$  为  $0.58 \text{ mg/L}$ , 即  $\text{EC}_{50}$  为  $0.58 \text{ mg/L}$ 。

### 2.1.2 铬离子浓度

图2为  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Cr}^{3+}$  浓度对污泥脱氢酶活性的影响。

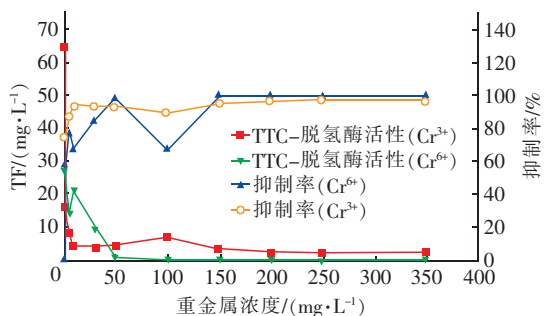


图2  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Cr}^{3+}$  浓度对污泥脱氢酶活性的影响

Fig. 2 Effect of  $\text{Cr}^{6+}$  and  $\text{Cr}^{3+}$  concentrations on dehydrogenase activity of activated sludge

由图2可知, 随着铬离子浓度的增加, 微生物细胞的 TF 含量呈下降趋势, 脱氢酶活性抑制率总体增大, 表明  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Cr}^{3+}$  均对活性污泥的脱氢酶活性产生了很强的抑制作用。当  $\text{Cr}^{6+}$  和  $\text{Cr}^{3+}$  浓度在  $0 \sim 5 \text{ mg/L}$  时, TF 含量随重金属浓度的增加而分别下降至  $14.45$  和  $8.16 \text{ mg/L}$ , 对污泥脱氢酶活性的抑制率达到  $77.74\%$  和  $87.46\%$ 。

从线性回归方程上看,  $\text{Cr}^{6+}$  对应的  $I$  参数为  $Y$

$=0.7093X$ , 相应的  $\text{EC}_{50}$  为  $1.41 \text{ mg/L}$ 。  $\text{Cr}^{3+}$  对应的  $I$  参数为  $Y=0.1172X$ ,  $\text{EC}_{50}$  为  $8.53 \text{ mg/L}$ 。可见,  $\text{Cr}^{6+}$  对污泥微生物的毒害作用大于  $\text{Cr}^{3+}$ 。TTC 电子传递系统活性与  $\text{Cr}^{3+}$  之间的回归方程线性关系非常好, 回归系数达到  $0.9525$ , 说明利用 TTC 电子系统来表征活性污泥微生物脱氢酶活性受  $\text{Cr}^{3+}$  毒性抑制时的灵敏性能很好。

### 2.1.3 镍离子浓度

图3为  $\text{Ni}^{2+}$  浓度对污泥脱氢酶活性的影响。

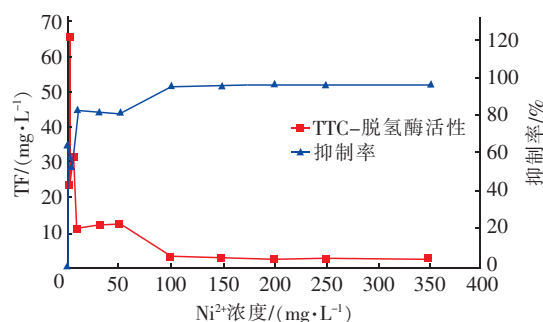


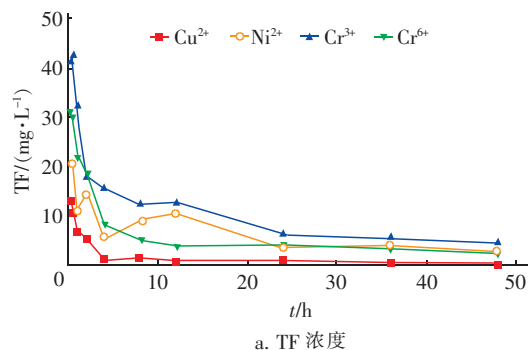
图3  $\text{Ni}^{2+}$  浓度对污泥脱氢酶活性的影响

Fig. 3 Effect of  $\text{Ni}^{2+}$  concentrations on dehydrogenase activity of activated sludge

由图3可知, 当  $\text{Ni}^{2+} > 50 \text{ mg/L}$  时, 对活性污泥的抑制率达到  $80\%$  以上, 说明  $\text{Ni}^{2+}$  对活性污泥微生物具有较强的生物毒性。当  $\text{Ni}^{2+}$  的投加量为  $1 \sim 50 \text{ mg/L}$  时,  $\text{Ni}^{2+}$  对活性污泥脱氢酶活性的抑制率在  $50\% \sim 80\%$  之间。从线性回归方程上看,  $\text{Ni}^{2+}$  浓度对应的  $I$  参数回归方程为  $Y=0.15X$ ,  $\text{EC}_{50}$  为  $6.67 \text{ mg/L}$ , 即引起活性污泥脱氢酶活性半抑制状态所需的  $\text{Ni}^{2+}$  浓度为  $6.67 \text{ mg/L}$ 。TTC 电子传递系统活性与  $\text{Ni}^{2+}$  浓度之间的回归系数达到  $0.9685$ 。

### 2.2 暴露时间对污泥脱氢酶活性的影响

在  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$  和  $\text{Cr}^{6+}$  的浓度均为  $5 \text{ mg/L}$ , 反应温度为  $35^\circ\text{C}$ , pH 值为 8 条件下, 暴露时间对污泥脱氢酶活性的影响如图4所示。



a. TF 浓度

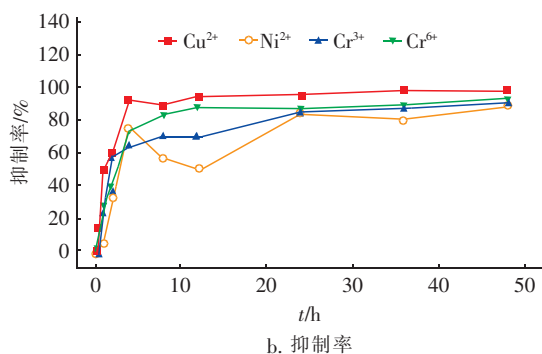


图4 暴露时间对污泥脱氢酶活性的影响

Fig. 4 Effect of exposure time on dehydrogenase activity of activated sludge

由图4可知,随着暴露时间的增加,活性污泥微生物细胞内的TF含量下降,TTC抑制率急剧上升,说明培养时间越长,活性污泥的脱氢酶活性越低。当活性污泥在金属溶液中暴露2 h时,Cu<sup>2+</sup>溶液中TF含量从13.14 mg/L下降到了5.36 mg/L,此时脱氢酶活性的抑制率达到59.2%。Cr<sup>6+</sup>溶液中TF含量从31.05 mg/L下降到18.32 mg/L,脱氢酶活性的抑制率达到40.05%,且Cr<sup>3+</sup>溶液中的脱氢酶活性抑制率达到了57.4%。Ni<sup>2+</sup>溶液中脱氢酶活性的抑制率达到了31.7%。当暴露时间延长至5 h时,Cu<sup>2+</sup>对污泥活性的抑制率上升到92%,Cr<sup>6+</sup>和Ni<sup>2+</sup>对其抑制率均达到70%以上,同时Cr<sup>3+</sup>对污泥活性的抑制率上升到62.9%。

### 2.3 pH值对污泥脱氢酶活性的影响

在温度为35℃,Cu<sup>2+</sup>、Cr<sup>3+</sup>、Ni<sup>2+</sup>浓度分别为100、350和150 mg/L条件下,pH值对污泥脱氢酶活性的影响如图5所示。

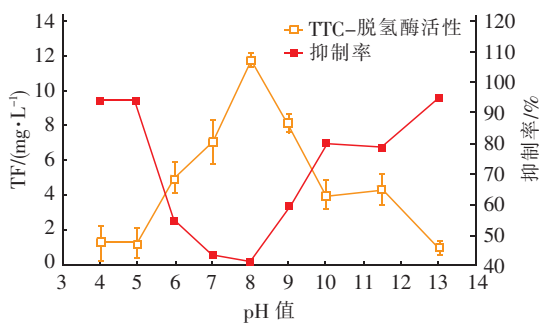


图5 pH值对活性污泥脱氢酶活性的影响

Fig. 5 Effect of pH values on dehydrogenase activity of activated sludge

由图5可知,当进水pH值较低时,重金属以离

子态存在,对活性污泥的抑制作用较强,TF含量仅为1.2 mg/L,抑制率高达94%。随着溶液pH值增大,重金属对活性污泥的抑制作用逐渐减小。直至pH值达到8左右时,絮状氢氧化物迅速形成,产生大量沉淀,此时对活性污泥的抑制率最低,为41%。但继续增大pH值,则导致污泥脱氢酶活性抑制率又持续上升。

### 2.4 重金属种类对微生物群落结构的影响

在不同重金属冲击下,活性污泥高通量测序结果表明,Cu<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>、Ni<sup>2+</sup>溶液的3组微生物样品中共读取到151 222条基因序列,相应样品的序列数量分别为46 604、52 335和52 283条,序列的平均长度分别为444.7、441.5和439 bp。对测得的数据进行OTU分类,共得到2 435条细菌,其中Cu<sup>2+</sup>、Cr<sup>6+</sup>、Ni<sup>2+</sup>溶液的OTU分别为793、884和758。3组样品的序列数分布在280~540之间,主要集中在420~460之间,覆盖率均在99.7%左右,说明此次样品的测序结果合理。

为了得到不同样本的微生物群落结构,并分析不同重金属冲击下菌群的变化情况,利用统计学分析方法,对多个样本的群落结构进行对比分析,结果如图6所示。

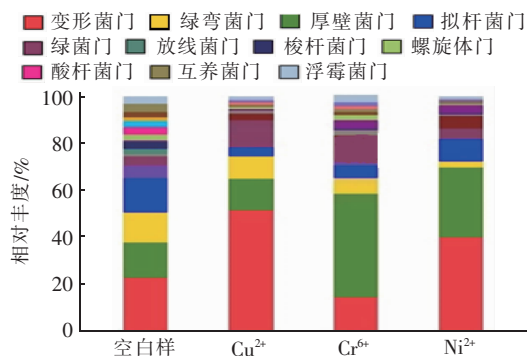


图6 重金属种类对群落结构的影响

Fig. 6 Effect of heavy metal species on microbial community structure

由图6可知,空白样中优势菌种包括变形菌门、厚壁菌门、绿弯菌门、拟杆菌门和绿菌门等,其中变形菌门、绿菌门的相对丰度分别为24%、4%。而Cu<sup>2+</sup>溶液中变形菌门和绿菌门的相对丰度分别为53%和14%,表现出较强的吸附或富集Cu<sup>2+</sup>的能力,而拟杆菌门的丰度下降明显,说明Cu<sup>2+</sup>对拟杆菌有抑制作用。在添加了Cr<sup>6+</sup>的溶液中,厚壁菌门和绿菌门的相对丰度分别从空白样的18%和4%增



加到42%和13%,两者表现出较强的吸附或富集 $\text{Cr}^{6+}$ 的能力,而变形菌门的丰度显著下降,说明 $\text{Cr}^{6+}$ 对变形菌造成了一定程度的毒害作用。在添加了 $\text{Ni}^{2+}$ 的活性污泥溶液中,主要菌种为变形菌门和厚壁菌门,相对丰度分别为40%和31%,表明变形菌门和厚壁菌门对 $\text{Ni}^{2+}$ 有较好的吸附能力。

### 3 结论

以活性污泥脱氢酶活性表征的重金属抑制毒性的顺序为: $\text{Cu}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cr}^{3+}$ 。当pH值为8时,混合重金属溶液对污泥活性的抑制率最低。变形菌门、绿菌门、厚壁菌门是电镀废水活性污泥中的优势种群,并且 $\text{Cu}^{2+}$ 有助于富集变形菌门和绿菌门, $\text{Cr}^{6+}$ 有助于富集厚壁菌门和绿菌门, $\text{Ni}^{2+}$ 有助于富集变形菌门和厚壁菌门。

### 参考文献:

- [1] Boamah P O, Huang Y, Hua M, *et al.* Sorption of heavy metal ions onto carboxylate chitosan derivatives—A mini-review[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2015, 116: 113 – 120.
- [2] Wei D, Zhang K, Wang S Y, *et al.* Characterization of dissolved organic matter released from activated sludge and aerobic granular sludge biosorption processes for heavy metal treatment via a fluorescence approach[J]. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2017, 124: 326 – 333.
- [3] Samal K, Das C, Mohanty K. Development of hybrid membrane process for Pb bearing wastewater treatment[J]. *J Water Process Eng*, 2016, 10: 30 – 38.
- [4] Kumar R, Bhatia D, Singh R, *et al.* Metal tolerance and sequestration of  $\text{Ni}(\text{II})$ ,  $\text{Zn}(\text{II})$  and  $\text{Cr}(\text{VI})$  ions from simulated and electroplating wastewater in batch process: Kinetics and equilibrium study[J]. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2012, 66(1): 82 – 90.
- [5] 向彬, 王彬, 徐卫红, 等. 重金属 Cd, Zn, Cu, Pb 对土壤微生物和酶活性的影响[J]. *氨基酸和生物资源*, 2012, 34(3): 4 – 8.  
Xiang Bin, Wang Bin, Xu Weihong, *et al.* Effects of Cd, Zn, Cu and Pb on soil microbial biomass and enzyme activities[J]. *Amino Acids & Biotic Resources*, 2012, 34(3): 4 – 8 (in Chinese).
- [6] 李淑英, 马玉琪, 苏亚丽, 等. 重金属胁迫培养对微生物生长的影响[J]. *贵州农业科学*, 2012, 40(2): 90 – 94.
- Li Shuying, Ma Yuqi, Su Yali, *et al.* Effect of heavy metal stress on microbial growth[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2012, 40(2): 90 – 94 (in Chinese).
- [7] 鲁晓凯, 许智华, 李亚如, 等. 负载纳米氧化铁活性炭去除水中重金属铜实验研究[J]. *能源研究与信息*, 2014, 30(2): 68 – 72.  
Lu Xiaokai, Xu Zhihua, Li Yaru, *et al.* Experimental study on removal of  $\text{Cu}(\text{II})$  by nanosized iron oxide loaded activated carbon[J]. *Energy Research and Information*, 2014, 30(2): 68 – 72 (in Chinese).
- [8] 郑旭涛, 张楠楠, 南皎, 等. 硅酸盐水泥对 Cr 离子的固化机理及其对铁矾渣的固化应用[J]. *有色金属材料与工程*, 2016, 37(2): 34 – 39.  
Zheng Xutao, Zhang Nannan, Nan Jiao, *et al.* Research on mechanism of curing Cr-ion by portland cement and its application to jarosite slag[J]. *Nonferrous Materials and Engineering*, 2016, 37(2): 34 – 39 (in Chinese).
- [9] 李亚如, 许智华, 张道方. 铁改性活性炭对水中铜的吸附和再生实验研究[J]. *能源研究与信息*, 2014, 30(4): 187 – 191.  
Li Yaru, Xu Zhihua, Zhang Daofang. Study on the adsorption of cadmium from water by iron-modified activated carbon and its regeneration[J]. *Energy Research and Information*, 2014, 30(4): 187 – 191 (in Chinese).
- [10] Wang W, Li X C, Wang P F, *et al.* Long-term effects of  $\text{Ni}(\text{II})$  on the performance and activity of activated sludge processes[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2013, 92: 144 – 149.



作者简介:刘洪波(1979 – ), 男, 湖北仙桃人, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为水污染控制理论与技术。

E-mail: liuhb@usst.edu.cn

收稿日期:2018-01-10