

doi:10.11918/j.issn.0367-6234.2015.08.019

藻细胞内外有机物氯消毒后典型消毒副产物的生成潜能

鲁金凤^{1,2}, 于兴玥¹, 王 琮¹, 王 冬¹, 张振峰¹, 王启山¹

(1.南开大学 环境科学与工程学院,300071 天津;2.环境污染过程与基准教育部重点实验室,300071 天津)

摘 要:为探究藻细胞内外有机物氯化后典型消毒副产物的生成潜能,选取小球藻为研究对象,采用加氯消毒法研究了在不同生长时期及不同氯投加量下典型含碳类消毒副产物 (THMs) 和含氮类卤代消毒副产物 (TCNM) 的生成规律,并对二者的生成势进行了对比.结果表明:细胞外有机物 (EOM) 和细胞内有机物 (IOM) 提取液的总有机碳 (TOC) 和有机氮 (DON) 较高,而芳香结构和饱和双键的有机质质量浓度很低;从对数生长期到衰亡期,EOM 经氯化后 TCNM 的生成量逐渐增加,IOM 的 TCNM 生成量则呈现先增加后降低的趋势;THMs 的生成规律与 TCNM 相似,但其生成量明显高于 TCNM.增加氯投量,EOM 的 TCNM 生成量逐渐升高,IOM 的 TCNM 生成量则先升高后下降;在氯投量为 30 mg/L 时,IOM 的 TCNM 生成量最高;稳定生长期小球藻细胞的 EOM 和 IOM 在氯投量由 20 mg/L 升高到 30 mg/L 时,THMs 的生成量稳定增加,当氯投量超过30 mg/L时,THMs 的生成势显著升高,且三氯甲烷为 THMs 的主导物种.

关键词: 小球藻;胞外有机物;胞内有机物;三氯硝基甲烷;三卤甲烷

中图分类号: X703.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0367-6234(2015)08-0096-05

The formation potential of halogenated DBPs of intracellular and extracellular organic components of chlorella during chlorination

LU Jinfeng^{1,2}, YU Xingyue¹, WANG Qiong¹, WANG Dong¹, ZHANG Zhenfeng¹, WANG Qishan¹

(1. College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, 300071 Tianjin, China;

2. Key Laboratory of Pollution Processes and Environmental Criteria, Ministry of Education, 300071 Tianjin, China)

Abstract: This work was to investigate the formation potential of trihalomethane (THM) and trichloronitromethane (TCNM) for algae extracellular organic matter (EOM) and intracellular organic matter (IOM) in different algae growth stages and chlorine dosages, and the effects on the production of THMs and TCNM during chlorination were further studied. Results showed that EOM and IOM had high concentrations of TOC and DON, while low organic component of aromatic structure and unsaturated double bonds. The yields of TCNM from chlorinated EOM increased from high biomass logarithmic phase to declinephase. However, TCNM of IOM followed an increasing and then decreasing pattern with the extent of growth days. The pattern of THMsFP was similar to TCNMFP, but the concentrations of THMs were much higher than TCNM. TCNM increased with chlorine dosages during EOM chlorinated, for IOM, however, the concentration of TCNM firstly increased and then decreased. The maximum TCNM yield of IOM appeared on chlorine dosage of 30 mg/L. TCM was the dominant fraction of THMs. In stationary phase, THMs produced from EOM and IOM gradually increased with chlorine dosage from 20 to 30 mg/L, but increased significantly at more than 30 mg/L.

Keywords: Chlorella; extracellular organic matter; intracellular organic matter; trichloronitromethane; trihalomethane

近年来,由于氮、磷等营养源的排放,我国湖泊、水库等封闭性水体均不同程度地面临着富营养化问

题.小球藻作为一种全球性分布的绿藻,在我国大部分富营养化水体中普遍存在.藻类及藻类有机物的存在会降低传统混凝沉淀工艺的效率^[1-3],使出水总有机碳 (TOC)^[4] 和消毒副产物生成势升高^[5-6].研究发现,小球藻细胞内含有乙酰胞壁酸、乙酰氨基葡萄糖等氨基糖以及各种氨基酸和蛋白质.当小球藻过量生长时,会分泌大量含有有机氮 (DON) 成分的代谢产物^[7],DON 易与消毒过程中的消毒剂反应

收稿日期: 2014-09-05.
基金项目: 国家自然科学基金(51008162);天津市应用基础及前沿技术研究计划(14JCYBJC03500).
作者简介: 鲁金凤(1980—),女,副教授;
王启山(1947—),男,教授,博士生导师.
通信作者: 鲁金凤, lujinfeng@nankai.edu.cn.

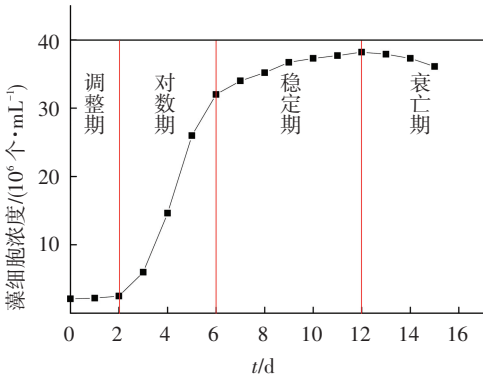
生成含氮消毒副产物 (N-DBPs)^[8-10],其动物细胞遗传毒性甚至超过了卤代呋喃酮,对 DNA 的破坏效应远远超过溴酸盐^[10],具有更强的致突变性。

水体中的富里酸和腐殖酸等天然有机物作为消毒副产物(如 THMs 和 HAAs)的前体物,已经得到广泛关注^[11];而对藻细胞胞内外有机物,仅局限于对 THMs 和 HAAs 等含碳类消毒副产物生成势的研究,对于含氮类消毒副产物生成势的研究很少,对不同生长时期藻细胞胞外有机物(EOM)和胞内有机物(IOM)在不同加氯量条件下典型 C-DBPs、N-DBPs 生成规律及二者生成情况的对比鲜见报道。本文选取常见绿藻藻种——小球藻,以小球藻的 EOM 和 IOM 为研究对象,明确二者在不同生长时期的有机物特性,考察不同生长阶段和不同氯投加量下 EOM 和 IOM 的三氯硝基甲烷(TCNM)和 THMs 的生成潜能,进一步探究藻类 EOM 和 IOM 在氯消毒过程中典型卤代含碳、含氮类消毒副产物的生成规律,以期对实际生产应用提供理论指导。

1 实 验

1.1 藻细胞的培养

实验用小球藻(FACHB-1227)购自中国科学院水生生物研究所,培养所用的培养基为 BG-11 培养基,在光照培养箱中恒温(25±1)℃培养,光照条件为 2 000 lx。藻细胞的观测和计数采用直接计数法(血球计数板计数),以计算藻细胞的浓度,并绘制藻细胞的生长曲线,如图 1 所示。其中接种的藻细胞浓度为 2.1×10⁶个/mL,采用序批式培养的方式进行藻细胞的培养,观测时间为 15 d。藻细胞的生长曲线表现了完整的微生物生长阶段:调整期(0~2 d)、对数期(2~6 d)、稳定期(6~12 d)和衰亡期(>12 d)。



培养方式:分批培养,温度 25℃,光照/黑暗周期 12 h/12 h

图 1 小球藻的生长曲线

1.2 实验材料

将某一生长时期的藻液离心后取上清液,经过 0.22 μm 滤膜过滤,所得的滤出液即为 EOM(胞外

液)。离心后所得的藻细胞用去离子水冲洗,研钵研磨一定时间后,再经过 0.22 μm 滤膜过滤,所得的滤出液即为 IOM(胞内液),在 4℃下储备两种滤出液待用。

1.3 氯化实验

将提取的 EOM 和 IOM 用去离子水稀释至同一 TOC 质量浓度,分别取 200 mL 水样于锥形瓶中,加入磷酸盐缓冲溶液调节水样 pH 为 7±0.2,之后投加一定量的次氯酸钠溶液进行氯化,恒温 25℃避光反应 72 h。反应后加入氯化铵终止氯化,预处理后待测。

1.4 分析方法

三卤甲烷(THMs)和三卤硝基甲烷(TCNM)的测定参照 USEPA Method 551.1 标准方法,采用气相色谱 GC/ECD(6890N, HP-5 column 30 m×0.25 mm×0.25 μm, Agilent)定量测定。色谱条件参照 USEPA Method 551.1。

小球藻 EOM 和 IOM 的 TOC 和 TN 由岛津公司的 Shimadzu TOC-V CPH 总有机碳/氮仪测定。利用 HACH 公司 DR/4000U 型紫外/可见分光光度计测定无机氮(TIN)和 UV₂₅₄。测出氨氮、亚硝酸盐氮和硝酸盐氮等无机氮质量浓度后,再用 TN 减去 TIN 得到 TON 的质量浓度。紫外吸光度值 A_{SUV}/(L·(mg·m)⁻¹)=UV₂₅₄×100/ρ(TOC)。

2 结果与讨论

2.1 小球藻不同生长阶段的有机物特性

藻类有机物包括 EOM 和 IOM。EOM 主要指藻体细胞在生长代谢过程中通过细胞膜分泌出的大分子物质^[12],包括蛋白质、多糖类、氨基酸及毒性物质等^[13]。藻细胞死亡或常规水处理工艺导致细胞裂解而释放的有机物为胞内有机物^[14],主要以蛋白质、脂质和碳水化合物为主。

表 1 列出了小球藻在不同生长阶段的有机物特性,其中 EOM 的 TOC 随生长天数的增加而升高,而 IOM 的 TOC 和 DON 则随生长周期的变化呈现先升高再降低的趋势。小球藻细胞不同生长时期的 EOM 和 IOM 的 DON 均较高,大部分生长期的 DON 均超过了 TOC,而 IOM 的 DON 更是远高于其 TOC 的质量浓度,表明藻类有机物特别是 IOM 的组成中含有大量的溶解性有机氮,进一步验证了其成为含氮消毒副产物前驱物的可能性。UV₂₅₄ 可以代表水中含有芳香烃、双键或羟基的共轭体系有机物^[15]。由表 1 可知,EOM 和 IOM 在波长 254 nm 处吸光值很小,表明其含有芳香结构或不饱和双键的有机物质量浓度很低。A_{SUV} 值与水中含芳香结构的有机物具有很好的

相关性^[7],在整个生长期内,EOM 的 A_{SUV} 值变化较大,表明其含有的芳香结构有机质的质量浓度从对数期到衰亡期剧烈降低,而 IOM 的变化幅度较小,从稳定期到衰亡期 IOM 的芳香结构有机质有所增加,这可能与衰亡期 IOM 释放,有新的芳香结构进入水中有关.

表 1 小球藻不同生长时期的有机物特性

生长 周期	$\rho(\text{TOC})/$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)		$\rho(\text{DON})/$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)		$\text{UV}_{254}/$ cm^{-1}		A_{SUV}	
	EOM	IOM	EOM	IOM	EOM	IOM	EOM	IOM
对数期	0.83	1.76	14.26	22.00	0.091	0.080	10.96	4.54
稳定期	6.15	7.86	15.92	25.77	0.185	0.088	3.01	1.12
衰亡期	16.40	2.46	15.98	12.34	0.093	0.084	0.58	3.41

2.2 TCNM 的生成潜能

2.2.1 不同生长阶段 EOM 和 IOM 的 TCNM 生成潜能

不同的生长时期,藻细胞在生长代谢过程中通过细胞膜分泌出的有机物和胞内形成的有机物存在很大的差异^[16].例如,藻类的 IOM,其成分随着藻细胞生长期的变化而改变:在对数生长期,IOM 的蛋白质质量分数较高,为 25.2%~41.1%,而脂质和碳水化合物质量分数较少,分别为 8.8%~14.9%和 7.1%~10.3%;在稳定生长期,碳水化合物的质量分数增加,为 14.8%~30.6%,而蛋白质的质量分数开始降低,只有 21%左右^[17].EOM 和 IOM 在不同生长时期组成成分和所占比例上的差异,势必会影响其氯化消毒副产物的生成潜能.分别选取对数生长期、稳定生长期和衰亡期的小球藻细胞,考察了不同生长阶段 EOM 和 IOM 的卤代含氮消毒副产物 TCNM 的生成特性,结果见图 2.

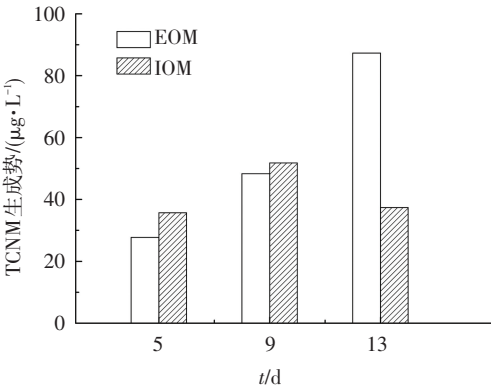


图 2 不同生长阶段藻细胞 EOM 和 IOM 的 TCNM 生成潜能

根据应用血球计数板法对藻细胞直接计数的结果,该小球藻从第 2 天开始进入对数生长期,第 6 天进入稳定生长期,从第 12 天开始进入衰亡期.选用第 5、9、13 天的小球藻液分别代表对数期、稳定期和衰亡期,并提取 EOM 和 IOM 进行氯化消毒实验,投

加的有效氯质量浓度为 30 mg/L.

随着藻细胞生长天数的增加,其 EOM 提取液经氯化后 TCNM 的生成量逐渐增加.这与其 DON 的变化规律一致(见表 1).而 IOM 提取液经氯化后 TCNM 的生成量呈现先增加而后降低的趋势,在稳定生长期(第 9 天)达到最大值.不同生长时期 IOM 的 TCNM 生成规律也与各生长期 DON 的变化规律有很好的对应性(见表 1).这可能是藻类细胞中蛋白质和有机氮的质量浓度会随生长周期的延长而降低^[18],使得细胞内有机物在氯化后生成的典型含氮消毒副产物的生成势先升高然后下降^[18].在对数生长期和稳定生长期,IOM 的 TCNM 生成量相对较高,而衰亡期的 EOM 提取液氯化后 TCNM 的生成量总体远大于 IOM,这可能是由于大量藻细胞在进入衰亡期后裂解死亡,细胞内的含氮有机物释放到细胞外液中,导致 EOM 提取液中有有机氮的质量浓度增加,TCNM 的生成势也随之增高.

2.2.2 氯投量对 TCNM 生成潜能的影响

选取相同批次处于稳定生长期的 小球藻作研究对象,将其 EOM 和 IOM 提取液进行氯化,考察了不同氯投加量(10、20、30 和 50 mg/L)对 EOM 和 IOM 的 TCNM 生成潜能的影响,结果如图 3 所示.可以看出,随着氯投量的增加,EOM 提取液氯化后 TCNM 的生成量呈现逐渐升高的趋势,而 IOM 氯化后 TCNM 的生成量则呈现先升高后降低的趋势.在氯质量浓度为 30 mg/L 时 TCNM 的生成量达到最高.N-DBPs 的生成势取决于其生成和分解速率^[9].当氯质量浓度高于 30 mg/L 时,IOM 中某些含氮有机物生成 TCNM 的速率小于 TCNM 自身水解的速率,这可能是导致 IOM 氯化后 TCNM 生成势在氯投量大于 30 mg/L 时开始下降的主要原因.

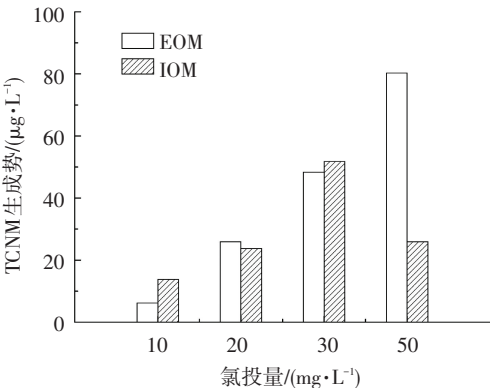


图 3 不同氯投量下藻细胞 EOM 和 IOM 的 TCNM 生成潜能

2.3 THMs 的生成潜能

2.3.1 不同生长周期对 THMs 生成潜能的影响

THMs 是最典型的 C-DBPs 代表,包括 4 种物种,即三氯甲烷(TCM)、二氯一溴甲烷(DCBM)、二

溴一氯甲烷 (DBCM) 和三溴甲烷 (TBM). 小球藻细胞 EOM 和 IOM 提取液氯化后生成典型含碳类消毒副产物 THMs 的情况如图 4 所示. EOM 氯化后 THMs 的生成总量随藻细胞生长天数的增加而升高, 而 IOM 氯化后 THMs 的生成量呈现先升高后降低的趋势, 在稳定生长期 (第 9 天) 达到最大值. 这与 EOM 和 IOM 提取液氯化后生成 TCNM 的趋势一致, 也与其对应的 TOC 的变化一致 (见表 1). 由此表明, 该小球藻的典型含碳类消毒副产物 THMs 和卤代含氮类消毒副产物 TCNM 均与其 TOC 和 DON 的数值有很好的相关性. 在对数生长期和稳定生长期, IOM 的 THMs 生成量相对较高, 而在衰亡期阶段, EOM 的 THMs 生成量高于 IOM. 具体而言, EOM 和 IOM 氯化消毒后, TCM 的生成量明显高于其余 3 种溴代消毒副产物.

与 N-DBPs 相比, 可以得出 THMs 的生成势明显高于 TCNM, 这与方晶云等的结论不同, 文献[6]采用铜绿微囊藻进行实验, 发现 N-DBPs 的生成量高于 THMs, 推测是氯和有机氮官能团的反应速率远大于其与有机碳官能团的反应速率, 因此, 有机氮的存在会减少 C-DBPs 的生成^[8]. 但美国 2000 ~ 2002 年和 2006 ~ 2007 年对 12 个自来水厂两次调查结果显示, 水厂出厂水中 TCNM 的检出质量浓度范围仅为 $0.2 \sim 0.5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[17,19], 远低于 THMs 的质量浓度水平. 根据本研究的结果, 认为在投氯量足够的情况下, 有机氮的存在与含碳消毒副产物生成量的多少没有直接相关性, 实验所用藻类提取出的 EOM 和 IOM 组成成分中所含的碳、氮消毒副产物氯化活性位的多少是导致其 C-DBPs 和 N-DBPs 生成量大小的主要原因.

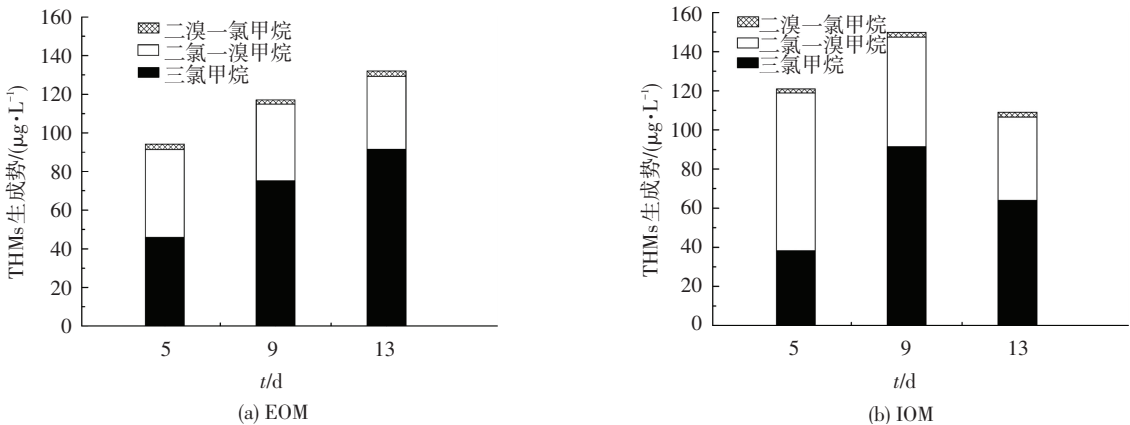


图 4 不同生长阶段藻细胞 EOM 和 IOM 的 THMs 生成潜能

2.3.2 氯投量对 THMs 生成潜能的影响

氯投量对 EOM 和 IOM 提取液 THMs 生成量的影响如图 5 所示. 总体而言, THMs 的生成势均随氯投量的增加而升高, 在氯投量为 $20 \sim 30 \text{ mg/L}$ 时, 生成 THMs 的质量浓度相对稳定, 而当加氯量超过 30 mg/L 时, THMs 的生成潜能大幅度提高. 即在前体物质量浓度足够的条件下, 提高氯投量会增加

C-DBPs 的生成势^[20]. EOM 提取液氯化后生成较多的 TCM, 约占 THMs 总量的 47.22%; 而 IOM 提取液氯化后除生成较多的 TCM 外, 还生成较多的 DBCM, 二者约占 THMs 生成总量的 97.36%. 这表明 IOM 中含有部分含溴的物质, 可能是藻类细胞在生长过程中吸收培养基中的溴离子同化转变成自身有机物, 在氯化过程中生成溴代消毒副产物.

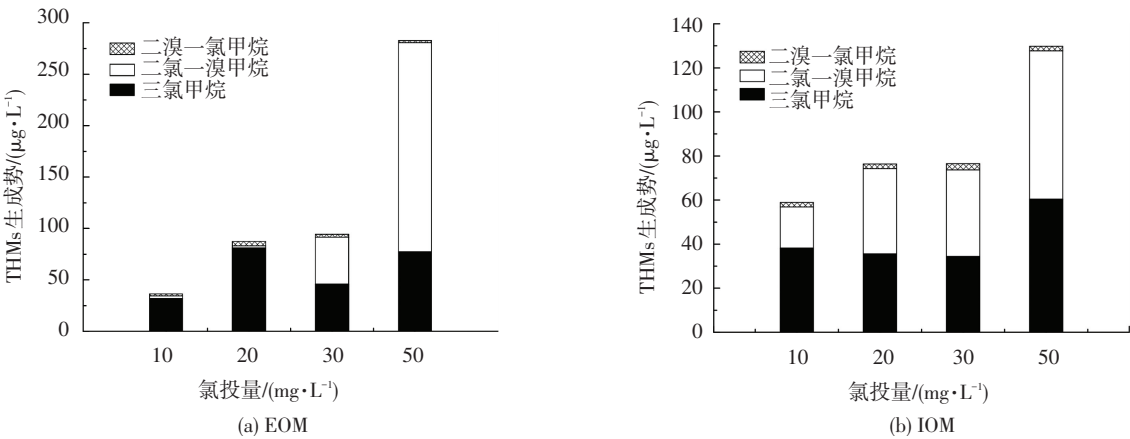


图 5 不同氯投量下藻细胞 EOM 和 IOM 的 THMs 生成潜能

3 结 论

1) 小球藻细胞不同生长时期的 EOM 和 IOM 的 DON 均较高, 大部分生长期的 DON 均超过了 TOC, 而 IOM 的 DON 更是远高于其 TOC 的质量浓度, 进一步表明藻类有机物特别是 IOM 的组成中含有大量的溶解性有机氮。

2) 随着藻细胞生长天数的增加, EOM 的 TCNM 生成量逐渐增加, 而 IOM 的 TCNM 生成量呈先增加后降低的趋势, 在稳定生长期达到最大值。在对数期和稳定期, IOM 的 TCNM 生成量相对较高, 而在衰亡期 EOM 的 TCNM 生成量远大于 IOM。

3) 增大氯投量, EOM 的 TCNM 生成量快速升高, 而 IOM 的 TCNM 生成量则先升高后降低, 在氯投量为 30 mg/L 时, TCNM 的生成量达到最大值。

4) EOM 的 THMs 总生成量随藻细胞生长天数的增加而升高, 而 IOM 氯化后 THMs 的生成量则呈现先升高后降低的趋势, 其中三氯甲烷的生成量明显高于其余 3 种溴代消毒副产物。

5) EOM 和 IOM 的 THMs 和 TCNM 生成量均与其 TOC 和 DON 的数值有很好的相关性。与 N-DBPs 相比, THMs 的生成势明显高于 TCNM。

6) 随着氯投量的增加, EOM 和 IOM 的 THMs 生成势随之升高, EOM 氯化后生成较多的三氯甲烷, 而 IOM 氯化后除生成较多的三氯甲烷外, 同时生成较多的一溴二氯甲烷, 二者约占 THMs 总量的 97.36%。

参考文献

- [1] 王娜, 葛飞, 吴秀珍, 等. 藻类及其胞外分泌物对净水工艺的影响[J]. 水处理技术, 2010, 36(2): 19-23.
- [2] FANG J Y, MA J, YANG X, et al. Formation of carbonaceous and nitrogenous disinfection by-products from the chlorination of *Microcystis aeruginosa* [J]. Water Research, 2010, 44: 1934-1940.
- [3] 谢鹏超. 化学预氧化对藻类特性及氯化消毒副产物生成的影响[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2011.
- [4] LI L, GAO N Y, DENG Y, et al. Characterisation of intracellular & extracellular algae organic matters (AOM) of *Microcystis aeruginosa* and formation of AOM-associated disinfection byproducts and odor & taste compounds [J]. Water Research, 2012, 46: 1233-1240.
- [5] HENDERSON K, BAKERBA, SIMON A, et al. Characterisation of algogenic organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms [J]. Water Research, 2008, 42: 3435-3445.
- [6] 方晶云, 马军, 王立宁, 等. 臭氧预氧化对藻细胞及胞外分泌物消毒副产物生成势的影响[J]. 环境科学, 2006,

27(6): 1127-1132.

- [7] DOTSON A, WESTERHOFF P. Nitrogen enriched dissolved organic matter (DOM) isolates and their affinity to form emerging disinfection by-products[J]. Water Science and Technology, 2009, 60: 135-143.
- [8] 高乃云, 方诚, 楚文海. 常规净水工艺中三氯硝基甲烷质量浓度分布调查[J]. 同济大学学报(自然科学版), 2012, 40(6): 890-893.
- [9] YANG X, GUO W H, SHEN Q Q. Formation of disinfection byproducts from chlor(am)ination of algal organic matter[J]. J Hazard Mater, 2011, 197: 378-388.
- [10] KRASNER S W, WEINBERG H S, RICHARDSON S D, et al. Occurrence of a new generation of disinfection byproducts[J]. Environ Sci Technol, 2006, 40: 7175-7185.
- [11] 方晶云. 蓝藻细胞及藻类有机物在氯化消毒中副产物的形成机理与控制[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2009.
- [12] KIEFER E, SIGG L, SCHOSSELER P. Chemical and spectroscopic characterization of algae surfaces [J]. Environ Sci Technol, 1997, 31: 759-764.
- [13] WINGENDER J, NEU T R, FLEMMING H C. Microbial extracellular polymeric substances, characterization, structure and function [M]. Berlin: Springer-Verlag Heidelberg, 1999: 254-258.
- [14] 高乃云, 朱明秋, 周石庆, 等. 藻源型有机物氯化消毒副产物的生成特性[J]. 华南理工大学学报, 2014, 42(5): 48-53.
- [15] 危有达. O_3 及 O_3/H_2O_2 氧化处理含蓝藻水过程中 AOC 的形成规律及机理分析[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2013.
- [16] HER N, AMY G L, PARK H R, et al. Characterizing algogenic organic matter (AOM) and evaluating associated NF membrane fouling[J]. Water Res, 2004, 38: 1427-1438.
- [17] HOAGLAND K D, ROSOWSKI J R, GRETZ M R, et al. Diatom extracellular polymeric substances: function, fine structure, chemistry, and physiology [J]. J Phycol, 1993, 29: 537-566.
- [18] BROWN M R, GARLAND C D, JEFFREY S W, et al. The gross and amino-acid compositions of batch and semi-continuous cultures of *Isochrysis* Sp (Clone Tiso), *Pavlova-Lutheri* and *Nannochloropsis-Oculata* [J]. J Appl Phycol, 1993, 5: 285-296.
- [19] NGUYEN M L, WESTERHOFF P, BAKER L, et al. Characteristics and reactivity of algae-produced dissolved organic carbon [J]. J Environ Eng, 2005, 131(11): 1574-1582.
- [20] 田川, 郭婷婷, 刘锐平, 等. 铜绿微囊藻胞内物消毒副产物生成: 氯化 and 溴化比较[J]. 环境科学, 2013, 34(11): 4282-4289.

(编辑 刘 彤)