

Zn(II)、硫化物和苯酚对短程硝化污泥活性的抑制

刘滔¹, 池勇志^{1*}, 付海娟¹, 宋建阳², 张昱³, 田秉晖³, 费学宁¹

1. 天津城建大学环境与市政工程学院天津市水质科学与技术重点实验室, 天津 300384
2. 南阳理工学院土木工程学院, 南阳 473004
3. 中国科学院生态环境研究中心环境水质学国家重点实验室, 北京 100085

摘要 重金属锌(Zn^{2+})、硫化物和苯酚是工业废水中常见的、困扰许多工业废水生物处理系统运行效果的污染物。采用批次实验分别研究了 Zn^{2+} 、硫化物和苯酚对短程硝化污泥的单一毒性以及抑制解除后的活性恢复情况。根据单因素实验结果选取实验水平, 结合中心组合设计原理, 采用2因素3水平的响应面分析法, 考察了 Zn^{2+} 和苯酚以及硫化物和苯酚对短程硝化污泥活性的联合毒性抑制。 Zn^{2+} 、硫化物和苯酚的半抑制浓度 IC_{50} 分别为38.29、139.13和3.46 $mg \cdot L^{-1}$ 。高浓度抑制剂实验组抑制解除后8 h, 三者的短程硝化污泥活性恢复程度分别为7.46%、46.09%、22.69%。实验所得 Zn^{2+} 和苯酚以及硫化物和苯酚对短程硝化污泥活性的联合毒性抑制的二元二次响应面模型的多元相关系数 R^2 分别为0.997 2和0.990 8, 实验值与模型预测值吻合较好, 可为短程硝化-厌氧氨氧化工艺处理实际废水提供理论指导。

关键词 短程硝化; 抑制; 锌离子; 硫化物; 苯酚; 联合毒性

中图分类号 X703.1 文献标识码 A 文章编号 1673-9108(2017)10-5341-10 DOI 10.12030/j.cjee.201701135

Inhibition of partial nitrification activity by Zn(II), sulfide and phenol in activated sludge

LIU Tao¹, CHI Yongzhi^{1*}, FU Haijuan¹, SONG Jianyang², ZHANG Yu³, TIAN Binghui³, FEI Xuening¹

1. Tianjin Key Laboratory of Water Quality Science and Technology, School of Environmental and Municipal Engineering, Tianjin Chengjian University, Tianjin 300384, China
2. School of Civil Engineering, Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China
3. State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

Abstract Zinc (Zn^{2+}), sulfide and phenol, frequently detected in industrial wastewater, affect efficiencies of many biological industrial wastewater treatment systems. This study investigated the inhibition effects and recovery performance of Zn^{2+} , sulfide and phenol on partial nitrification sludge by batch experiments. To investigate the combined suppression of Zn^{2+} and phenol, as well as sulfides and phenol on partial nitrification sludge, the two factors and three levels of response surface methodology was used based on the center combination design. The results showed that the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of Zn^{2+} , sulfide and phenol on partial nitrification sludge were 38.29, 139.13 and 3.46 $mg \cdot L^{-1}$, respectively. The recovery percentage of the activity of partial nitrification sludge after removing the three inhibitors within 8 hours were 7.46%, 46.09% and 22.69%, respectively. The multiple correlation coefficient of the two binary quadratic response surface regression equations were 0.997 2 (Zn^{2+} and phenol) and 0.990 8 (sulfides and phenol), respectively. The experimental results are in good agreement with the predicted values of the model. It is shown that the model can provide theoretical guidance for the application of partial nitrification-anammox to treat wastewater.

Key words partial nitrification; inhibition; Zn^{2+} ; sulfide; phenol; combined suppression

基金项目: 天津市科技计划项目(16YFXTSF00390)

收稿日期: 2017-01-22; 录用日期: 2017-02-16

第一作者: 刘滔(1991—)男, 硕士研究生, 研究方向: 污水处理。E-mail: liutao500@126.com

* 通信作者, E-mail: yzchi@tcu.edu.cn

短程硝化-厌氧氨氧化工艺具有无须投加有机碳源、耗氧量低、低能耗高效率等特点,近年来受到了广泛的关注^[1]。作为短程硝化-厌氧氨氧化工艺的前置工艺,短程硝化能够为后续的厌氧氨氧化提供电子受体^[2],因此短程硝化反应器的稳定高效运行是短程硝化-厌氧氨氧化工艺运行的前提。在短程硝化反应器中,通过控制反应条件使亚硝酸盐氧化菌(nitrite-oxidizing bacteria, NOB)被淘汰或者抑制,部分氨氮被氨氧化菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)氧化成亚硝态氮后无法进一步被氧化成硝态氮,在反应器中形成了亚硝态氮累积^[3],使短程硝化反应器排水中氨氮与亚硝态氮比值稳定在 1:1.32 左右以满足后续厌氧氨氧化反应的需求。

短程硝化-厌氧氨氧化工艺主要应用于高氨氮、低 C/N 比的工业废水处理,比如养猪场废水、制药废水、焦化废水、厌氧处理废水等。这些废水中常含有苯酚(如制药废水、焦化废水等)、重金属 Zn^{2+} (如养猪场废水、垃圾渗滤液等)、硫化物(如厌氧处理废水、焦化废水等),有些种类的废水同时含有多种有毒组分,如焦化废水、养猪场废水等^[4-6]。然而,短程硝化反应存在 AOB 生长缓慢、对 pH 和溶解氧等环境因素较为敏感、宜受废水中有毒物质的抑制。因此研究不同抑制剂对短程硝化工艺的单独及联合毒性效应,建立相应的关系模型,对应用短程硝化-厌氧氨氧化工艺处理实际废水有一定的预测和指导作用。目前国内外学者已经进行了一些关于抗生素^[7]、重金属^[8]、硫化物^[9]、苯酚^[10]等抑制物对短程硝化的抑制研究,这些研究大部分集中在单种抑制物对短程硝化的抑制作用,也有一些学者做了多种重金属对硝化反应的混合毒性抑制研究^[11],而关于重金属、硫化物、苯酚不同抑制物混合联合毒性抑制鲜有报道。此外,当一个稳定的短程硝化系统受到短期抑制冲击后,其短程硝化活性在短期内的恢复情况也是一个值得关注的问题。

为此,本研究首先采用批次实验研究了 Zn^{2+} 、硫化物和苯酚对短程硝化污泥的单一毒性抑制以及抑制解除后短程硝化活性的恢复情况。在单一毒性抑制实验基础上,采用响应面分析方法研究了 Zn^{2+} 和苯酚 2 因素以及硫化物和苯酚 2 因素对短程硝化污泥的联合毒性抑制作用,建立了单一因素抑制模型和 2 因素联合毒性抑制模型,研究结果对短程硝化技术在实际应用中的毒性抑制现象有一定的预测和指导作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验污泥

实验用短程硝化污泥取自实验室已经稳定运行了 334 d 的序批式短程硝化反应器。反应器运行周期为 8 h,1 周期内连续曝气 430 min,进水后反应器中的氨氮浓度约为 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,在曝气阶段反应器内溶解氧浓度为 $0.1 \sim 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,亚硝酸盐累积率稳定在 85%~95%,氨氮去除率保持在 55%~65%。

1.1.2 实验废水

实验用污水为人工配制模拟废水,模拟废水氨氮浓度为 $750 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (以氮计,下同),废水组成^[12-13]如表 1 所示。实验时稀释 5 倍后使用。

表 1 模拟废水组成

Table 1 Composition of synthetic wastewater

成分	浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	成分	浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
NH_4HCO_3	4 232.14	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.25
NaHCO_3	4 500.00	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.30
KH_2PO_4	65.81	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.95
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	9.16	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.10
H_3BO_3	0.05	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.20
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	4.95	抑制剂	根据实验另行添加

1.1.3 抑制剂配制

Zn²⁺、硫化物和苯酚 3 种抑制剂母液分别使用 ZnSO₄ · 7H₂O、Na₂S · 9H₂O 和苯酚配制,实验时根据需要再进行相应配比稀释。所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 活性抑制实验

实验在 250 mL 的锥形瓶中进行,设置曝气管,使用玻璃转子气体流量计调节曝气量,底部用磁力搅拌器进行搅拌。实验时锥形瓶中污泥的总悬浮固体(total suspended solid, TSS) 和挥发性悬浮固体(volatile suspended solids, VSS) 分别为 1.79 g · L⁻¹、1.32 g · L⁻¹。实验时先向锥形瓶中投加 50 mL(如表 1 所示) 模拟废水,之后按实验要求加入一定量的抑制剂,最后向锥形瓶中加纯水至 250 mL。实验初始氨氮浓度为 150 mg · L⁻¹,实验水温 18 ~ 25 °C, pH 值 7.5 ~ 8.5,溶解氧 6 ~ 8 mg · L⁻¹。根据上述实验条件进行预实验,预实验不添加抑制剂,结果表明,在不受抑制的情况下氨氮会在 3.5 h 之内消耗完,故设置抑制实验反应时间为 4 h。

1.2.2 活性恢复实验

活性恢复实验在抑制实验结束后进行,抑制实验结束后去除锥形瓶中的上清液,并用不含氨氮的基质将实验污泥反复冲洗 3 次,再加入不含抑制剂的基质,在与抑制实验相同的工况下运行 8 h。

1.3 分析测试方法

氨氮、亚硝态氮、硝态氮、TSS 和 VSS 均采用国家标准方法^[14]测定,氨氮、亚硝态氮和硝态氮测试在水样通过 0.45 μm 滤膜过滤后进行,其中氨氮采用纳氏试剂分光光度法测定,亚硝态氮与硝态氮采用离子色谱法测定;温度使用水银温度计测定。pH 值和溶解氧采用 PONSEL ODEON® 数字化手持便携分析仪测定。

比氨氧化活性与抑制率的计算分别见式(1)和式(2):

$$\rho = (C_s - C_0) / (t \cdot C_{VSS}) \quad (1)$$

式中: ρ 为短程硝化污泥的比氨氧化活性, mg · (g · h)⁻¹; C_s 为反应结束时氨氮浓度, mg · L⁻¹; C_0 为反应开始时氨氮浓度, mg · L⁻¹; t 为反应时间, h; C_{VSS} 为污泥中挥发性悬浮固体浓度, g · L⁻¹。

$$IR = ((\rho_0 - \rho_c) / \rho_0) \times 100\% \quad (2)$$

式中: IR 为短程硝化污泥活性抑制率, %; ρ_0 为不加抑制剂时的比氨氧化活性, mg · (g · h)⁻¹; ρ_c 为抑制剂浓度为 c (单位为 mg · L⁻¹) 时短程硝化污泥的比氨氧化活性, mg · (g · h)⁻¹。

1.4 动力学方程模拟

简化的 Luong 模型通常被用来描述抑制物对 AOB 比氨氧化活性抑制过程^[7],公式如式(3)所示。

$$r = r_{max} \cdot (1 - (x/k_i)^n) \quad (3)$$

式中: r 为抑制剂浓度为 x 时短程硝化污泥的比氨氧化活性, mg · (g · h)⁻¹; r_{max} 为最大比氨氧化活性, mg · (g · h)⁻¹; x 为抑制剂浓度, mg · L⁻¹; k_i 为 Luong 抑制常数, mg · L⁻¹; n 为 Luong 动力学常数。

修正的非竞争性抑制模型^[15]经常被用来描述抑制物与活性污泥抑制率之间的关系,公式如式(4)所示。

$$y = (1 - 1/(1 + (x/a)^b)) \times 100\% \quad (4)$$

式中: y 为抑制剂浓度为 x 时短程硝化污泥比氨氧化活性受抑制的程度, %; x 为抑制剂浓度, mg · L⁻¹; a 为半抑制浓度 IC₅₀, mg · L⁻¹; b 为拟合常数。

2 结果与讨论

2.1 Zn²⁺、硫化物、苯酚单因素冲击对短程硝化活性的影响及活性恢复

2.1.1 Zn²⁺、硫化物、苯酚单因素毒性实验设计

通过预实验确定短程硝化污泥比氨氧化活性对 Zn²⁺、硫化物和苯酚抑制的响应浓度范围,根据预实

验结果设计单因素毒性实验中抑制剂浓度如表 2 所示。

表 2 单因素实验中各抑制剂浓度
Table 2 Concentrations of various inhibitors in individual factor experiments $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

抑制物	实验序号					
	1	2	3	4	5	6
Zn^{2+}	0	20	40	60	80	100
硫化物	0	70	140	200	270	350
苯酚	0	2	4	6	8	12

2.1.2 Zn^{2+} 、硫化物、苯酚单因素冲击对短程硝化活性影响及活性恢复

重金属通常通过破坏生物分子的官能团,取代其活性点位上的其他重金属离子,使生物分子的活性结构发生变化,从而降低微生物活性,重金属对微生物毒性抑制的程度一般取决于其浓度的大小^[16]。 Zn^{2+} 对短程硝化活性影响如图 1 所示。随着加入 Zn^{2+} 浓度的提高,短程硝化活性受抑制程度也越来越严重, Zn^{2+} 浓度到 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,比氨氧化活性由空白时的 $29.08 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 降低到了 $3.38 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$,抑制率达到了 88.36% (如图 2 所示)。活性抑制实验结束后进行了活性恢复实验,结果表明 Zn^{2+} 浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的抑制实验组在 8 h 的恢复实验中短程硝化污泥的活性仅恢复了 7.46%,说明在受到 Zn^{2+} 冲击后,短程硝化污泥只能在短时间内恢复极少量活性。活性恢复较慢的原因可能是 Zn^{2+} 与生物体内活性分子的结合比较稳定。

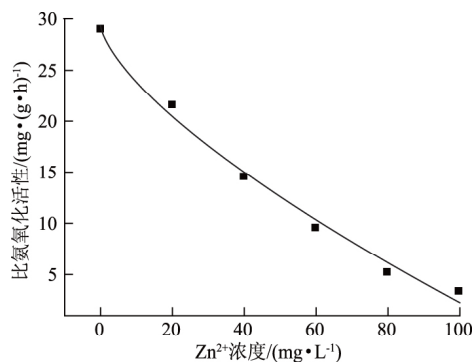


图 1 Zn^{2+} 浓度对短程硝化污泥比氨氧化活性的影响

Fig. 1 Effect of Zn^{2+} concentration on specific ammonia oxidation activity of partial nitrification sludge

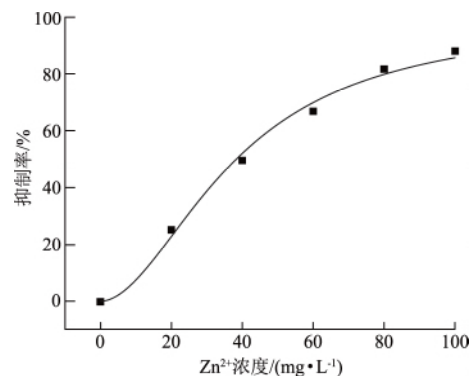


图 2 Zn^{2+} 浓度对短程硝化污泥比氨氧化活性抑制率的影响

Fig. 2 Effect of Zn^{2+} concentration on the inhibition of specific ammonia oxidation activity for partial nitrification sludge

硫化物对短程硝化污泥比氨氧化活性影响如图 3 所示。由图 3 可知,硫化物的初始浓度 0、70、140、200、270 和 $350 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的情况下,短程硝化污泥的比氨氧化活性分别为 28.80、21.56、13.31、11.23、8.42 和 $5.33 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 。这表明,污水中硫化物浓度越高,短程硝化污泥受抑制越严重。如图 4 所示,若以硫化物浓度为 $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照实验结果作为基准,则随着硫化物浓度提高,短程硝化污泥的比氨氧化活性抑制率从 0% 逐级上升至 25.14%、53.77%、61.01%、70.75% 和 81.50%。硫化物对 AOB 的抑制主要是由硫原子与 AOB 的氨单加氧酶中的金属元素形成螯合物,从而影响 AOB 活性,硫化物浓度越高,对氨单加氧酶的破坏越严重,短程硝化污泥比氨氧化活性受抑制程度越高^[17]。抑制实验结束后进行了活性恢复实验,高浓度抑制实验组在 8 h 的恢复实验中短程硝化污泥的活性恢复了 46.09%,这表明在受到硫化物冲击后,短程硝化污泥能在短时间内恢复约 50% 活性。

苯酚对短程硝化污泥比氨氧化活性的影响如图 5 所示。当苯酚初始浓度由 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加至

$12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 短程硝化污泥的比氨氧化活性也从 $29.08 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 降至 $1.99 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 若以苯酚浓度为 $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的对照实验结果作为基准, 则随着苯酚浓度提高, 短程硝化污泥比氨氧化活性抑制率 (如图 6 所示) 从 0% 逐级上升至 93.16%。显然, 苯酚的存在显著地抑制了短程硝化污泥活性。相对于锌和硫化物, 苯酚对短程硝化污泥的抑制要更严重一些, 这可能是因为锌和硫化物主要作用于 AOB 的氨单加氧酶, 而苯酚对 AOB 的抑制作用通常发生在更易到达的细胞膜上, 附着到磷脂双分子层上的苯酚会破坏 AOB 细胞膜的完整性使跨膜 pH 梯度发生变化, 引起细胞泄漏而导致酶蛋白主动运输发生障碍, 从而降低了 AOB 活性^[18]。抑制实验结束后进行了活性恢复实验, 高浓度抑制实验组在 8 h 的恢复实验中短程硝化污泥的活性仅恢复了 22.69%, 说明在受到苯酚冲击后, 短程硝化污泥在短时间内能恢复少量活性。

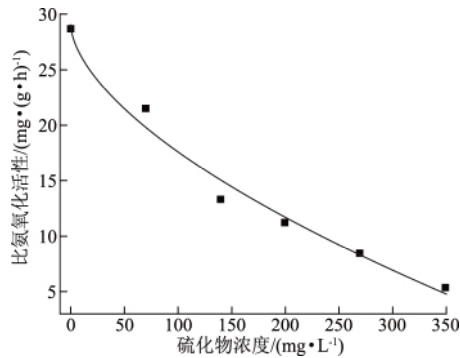


图 3 硫化物浓度对短程硝化污泥比氨氧化活性的影响

Fig. 3 Effect of sulfide concentration on specific ammonia oxidation activity of partial nitrification sludge

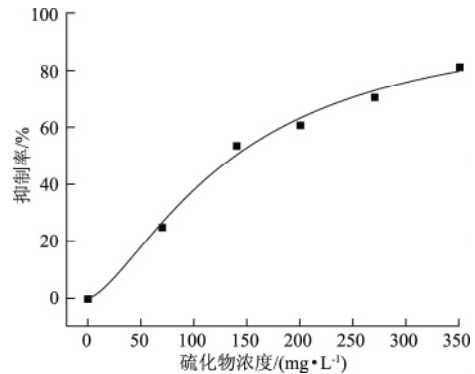


图 4 硫化物浓度对短程硝化污泥比氨氧化活性抑制率的影响

Fig. 4 Effect of sulfide concentration on inhibition of specific ammonia oxidation activity for partial nitrification sludge

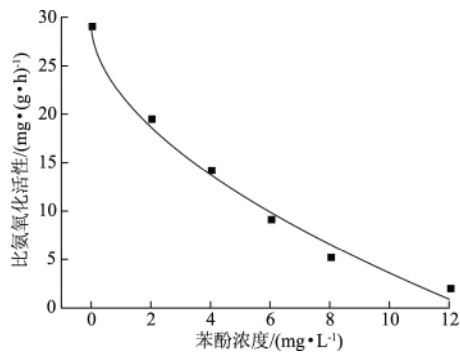


图 5 苯酚浓度对短程硝化污泥比氨氧化活性的影响

Fig. 5 Effect of phenol concentration on specific ammonia oxidation activity of partial nitrification sludge

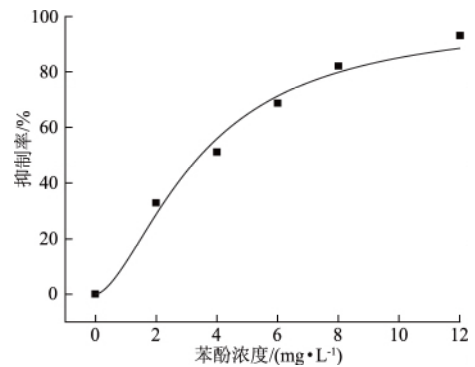


图 6 苯酚浓度对短程硝化污泥比氨氧化活性抑制率的影响

Fig. 6 Effect of phenol concentration on inhibition of specific ammonia oxidation activity for partial nitrification sludge

2.1.3 抑制动力学模型分析

利用 Origin 9.0 数据处理软件, 采用简化的 Luong 模型对图 1、图 3、图 5 中的数据点进行非线性拟合, 分别得到 Zn^{2+} 、硫化物、苯酚抑制比氨氧化活性的 Luong 动力学方程, 如表 3 所示。

从表 3 可知, 在 Zn^{2+} 、硫化物和苯酚单因素抑制作用下短程硝化污泥的最大比氨氧化活性的模型预测值分别为 29.35 、 29.03 和 $29.28 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, 与实验值 (分别为 29.08 、 28.80 和 $29.08 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$) 相近, 且拟合曲线与实验数据的相关系数 R^2 分别为 0.9854 、 0.9713 和 0.9847 , 说明 3 个模型可较

好地描述 3 种抑制剂单因素抑制对短程硝化污泥比氨氧化活性的影响。

利用 Origin 9.0 数据处理软件,采用修正的非竞争性抑制模型对 Zn^{2+} 、硫化物和苯酚浓度与短程硝化污泥比氨氧化活性抑制率之间的关系进行非线性拟合,所得相应修正的非竞争性抑制模型见表 4。

表 3 Luong 动力学模型拟合结果

Table 3 Fitting results of Luong kinetic model

抑制剂类型	拟合方程	$r_{max}/(mg \cdot (g \cdot h)^{-1})$	$k_i/(mg \cdot L^{-1})$	n	R^2
Zn^{2+}	$r = 29.35 \times (1 - (x/112.30)^{0.69})$	29.35	112.30	0.69	0.985 4
硫化物	$r = 29.03 \times (1 - (x/472.29)^{0.60})$	29.03	472.29	0.60	0.971 3
苯酚	$r = 29.28 \times (1 - (x/12.71)^{0.55})$	29.28	12.71	0.55	0.984 7

表 4 修正的非竞争性抑制模型拟合结果

Table 4 Fitting results of modified non-competitive inhibition model

抑制剂类型	拟合方程	$a/(mg \cdot L^{-1})$	b	R^2
Zn^{2+}	$y = 100 \times (1 - 1/(1 + (x/38.29)^{1.86}))$	38.29	1.86	0.993 5
硫化物	$y = 100 \times (1 - 1/(1 + (x/139.13)^{1.49}))$	139.13	1.49	0.993 0
苯酚	$y = 100 \times (1 - 1/(1 + (x/3.46)^{1.64}))$	3.46	1.64	0.984 6

由表 4 可得 Zn^{2+} 对短程硝化污泥比氨氧化活性的半抑制浓度 IC_{50} 为 $38.29 mg \cdot L^{-1}$ 。CECEN 等^[19] 研究得到 Zn^{2+} 对全程硝化污泥的半抑制浓度 IC_{50} 为 $22.75 mg \cdot L^{-1}$, 低于本实验结果, 这可能与实验中的 Zn^{2+} 的存在形式、受试污泥种类、浓度以及生物活性测量方法不同有关。本实验使用的污泥为运行稳定的短程硝化污泥, 污泥系统中 NOB 被抑制或者被淘汰, 并且采用氨氮降解速率计算短程硝化污泥活性。CECEN 等^[19] 的研究对象是全程硝化污泥, 污泥系统中 AOB 和 NOB 均为优势菌, 实验采用测量微生物呼吸作用排出的二氧化碳量来计算硝化细菌(AOB 和 NOB) 活性, 然而 NOB 活性也会受到 Zn^{2+} 的严重抑制, 使得实验的 IC_{50} 偏低。

由表 4 可知, 硫化物对短程硝化污泥比氨氧化活性的半抑制浓度 IC_{50} 为 $139.13 mg \cdot L^{-1}$ 。蒋艳玲等^[20] 将全程硝化污泥在含 $6.20 mg \cdot L^{-1}$ 硫化物的基质下暴露 3 d, 硝化菌的最大比增长速率下降了 50%, 与本研究结果相差较大, 这可能与实验污泥种类、浓度以及实验时间长短不同有关。蒋艳玲等^[20] 的研究中实验污泥 VSS 仅为 $0.15 g \cdot L^{-1}$, 实验时间达到了 3 d, 低污泥浓度和较长的暴露时间可能使硫化物对硝化污泥活性的抑制更加明显。

由表 4 可知, 苯酚对短程硝化污泥比氨氧化活性的半抑制浓度 IC_{50} 为 $3.46 mg \cdot L^{-1}$ 。在李娟英等^[21] 的研究中, 苯酚对全程硝化污泥中 AOB 活性的半抑制浓度为 $2.61 mg \cdot L^{-1}$, 与本实验结果相近。

2.2 苯酚、 Zn^{2+} 因素对短程硝化污泥比氨氧化活性抑制的响应面模型

2.2.1 响应面分析因素水平的选取

为了更好地考察 2 种抑制物共同存在时对短程硝化污泥比氨氧化活性抑制率的影响, 根据响应面分析法的中心组合实验设计原理, 综合 2.1 节中单因素实验结果, 在 Zn^{2+} 与苯酚 2 个单因素实验的基础上采用 2 因素 3 水平的响应面分析方法, 实验因素与水平设计见表 5。

表 5 苯酚、 Zn^{2+} 响应面分析因素及水平

Table 5 Factors and levels of response surface experiment of phenol and Zn^{2+} $mg \cdot L^{-1}$

因素	代码	水平		
		-1	0	1
苯酚浓度	A	3	6.50	10
Zn^{2+} 浓度	B	15	37.5	60

2.2.2 响应面分析方案及结果

以苯酚浓度(A)、 Zn^{2+} 浓度(B) 为自变量, 以短程硝化污泥比氨氧化活性抑制为响应值(Y) 进行响应面分析实验。实验方案及结果见表 6。

2.2.3 苯酚、Zn²⁺ 因素响应面模型的建立与分析

采用 Design Expert 软件对表 6 实验结果进行二次响应面回归分析,以短程硝化污泥比氨氧化活性抑制率(Y)为因数,以苯酚浓度(X_1)、Zn²⁺浓度(X_2)为自变量(X_1 、 X_2 均为实验水平实际值)建立二次响应曲面模型,如式(5)所示。

$$Y = -5.96 + 12.40X_1 + 1.32X_2 - 0.11X_1X_2 - 0.32X_1^2 - 0.003X_2^2 \quad (5)$$

各因素的方差分析见表 7。模型 $P < 0.0001$,说明二次回归方程极显著;失拟项 P 为 $0.224 > 0.05$,差异不显著,表明回归方程的线性关系是可靠的。模型多元相关系数 $R^2 = 0.9972$,说明该模型拟合效果较好,能较好地预测响应值。

对表 6 的数据进行降维分析,观察苯酚浓度与 Zn²⁺ 浓度 2 个因素对短程硝化污泥比氨氧化活性抑制率的影响,经 Design-Expert 分析,所得的响应面及其等高线图见图 7。等高线的形状为椭圆形,表示因素的交互作用显著,而圆形则表示交互作用不显著^[22]。由图 7(a) 中等高线图可以看出 Zn²⁺ 浓度与苯酚浓度之间的交互作用不明显。由图 7(b) 可知,当 Zn²⁺ 浓度不变时,抑制率随着苯酚浓度的升高而升高;当苯酚浓度不变时,抑制率随着 Zn²⁺ 的升高而升高。而通过对比可知,抑制率随苯酚增高而增高的增幅比随 Zn²⁺ 增高而增高的增幅大,所以可以认为在苯酚和 Zn²⁺ 的交互作用中,苯酚浓度对短程硝化污泥比氨氧化活性抑制的毒性影响要大于 Zn²⁺ 浓度,是主效应因子,这也与单因素实验结果相吻合。

表 6 苯酚、Zn²⁺ 响应面分析方案及实验结果
Table 6 Design and result of response surface analysis of phenol and Zn²⁺

实验号	A	B	抑制率/%
1	0	0	80.56
2	1	1	90.01
3	1	-1	89.63
4	0	0	79.64
5	0	0	80.33
6	-1.414	0	51.83
7	0	0	78.41
8	-1	1	76.57
9	-1	-1	42.15
10	0	1.414	88.09
11	1.414	0	91.17
12	0	-1.414	64.28
13	0	0	79.89

注:批次实验中增加了 2 组不添加任何抑制剂的空白实验作为对照实验,用来计算响应面实验的抑制率。

表 7 苯酚、Zn²⁺ 回归方程方差分析

Table 7 Variance analysis of regression equation of phenol and Zn²⁺

方差来源	平方和	自由度	均方和	比值 F	显著水平 P
模型	2 690.34	5	538.07	494.63	<0.0001
A	1 697.79	1	1 697.79	1 560.72	<0.0001
B	586.19	1	586.19	538.87	<0.0001
AB	289.56	1	289.56	266.19	<0.0001
A ²	108.40	1	108.40	99.65	<0.0001
B ²	17.91	1	17.91	16.47	0.0048
残差	7.61	7	1.09		
失拟项	4.79	3	1.60	2.26	0.224
存误差	2.83	4	0.71		
合计	2 697.96	12			

注: $R^2 = 0.9972$ 。

为了考察模型的实用性和准确性,将苯酚浓度为 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、Zn²⁺ 浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下的实验数据与相应的模型预测值进行比较,抑制率分别为 84.19% 和 82.42%。实验值和模型的预测值比较接近,表明该模型具有一定的指导意义。根据回归方程可以得到 2 种抑制剂在实验浓度范围内对短程硝化污泥活性抑制率的最大值为 90.39%,极值时苯酚与 Zn²⁺ 浓度分别为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $37.86 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

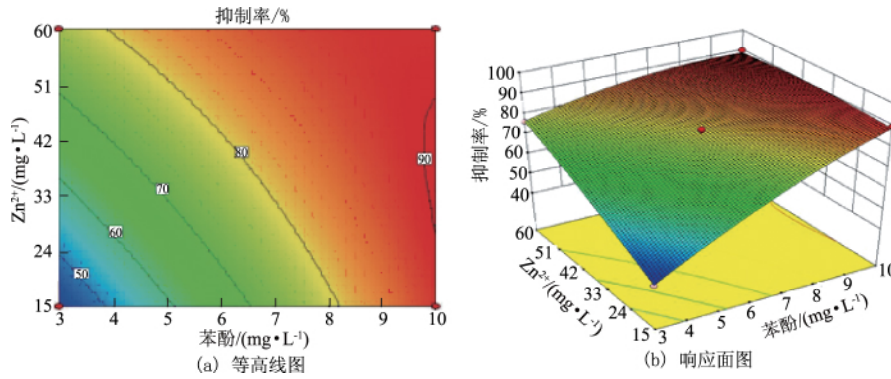


图 7 苯酚和 Zn²⁺ 联合毒性对短程硝化污泥活性抑制率影响的等高线图和响应面图

Fig. 7 Contour lines and response surface plot of inhibition of specific ammonia oxidation activity for partial nitrification sludge by the combined toxicities of phenol and Zn²⁺

2.3 硫化物、苯酚 2 因素对短程硝化污泥比氨氧化活性抑制的响应面模型

2.3.1 响应面分析因素水平的选取

同 2.2 节,根据响应面分析法的中心组合实验设计原理,综合 2.1 节中单因素实验结果,在硫化物与苯酚 2 个单因素实验的基础上采用 2 因素 3 水平的响应面分析方法,实验因素与水平设计见表 8。

2.3.2 响应面分析方案及结果

以苯酚浓度(A)、硫化物浓度(C)为自变量,以短程硝化污泥比氨氧化活性抑制率为响应值(Y),进行响应面分析实验。实验方案及结果见表 9。

2.3.3 硫化物、苯酚 2 因素响应面模型的建立与分析

采用 Design Expert 软件对表 9 的实验结果进行二次响应面回归分析,以短程硝化比氨氧化活性抑制率(Y)为因数,以苯酚浓度(X₁)、硫化物浓度(X₃)为自变量(X₁、X₃均为实验水平实际值)建立二次响应曲面模型,如式(6)所示。

$$Y = -11.58 + 10.48X_1 + 0.63X_3 - 0.026X_1X_3 - 0.32X_1^2 - 0.001X_3^2 \quad (6)$$

各因素的方差分析见表 10。模型 P < 0.000 1,说明二次回归方程极显著;失拟项 P 为 0.139 4 > 0.05,差异不显著,表明回归方程的线性关系是可靠的。模型多元相关系数 R² = 0.990 8,说明该模型拟合效果较好,能较好的预测响应值。

对表 9 的数据进行降维分析,观察苯酚浓度与硫化物浓度 2 个因素对短程硝化污泥比氨氧化活性抑制率的影响,经 Design-Expert 分析,所得的响应面及其等高线图见图 8。图 8(a)中等高线形状为椭圆形,说明硫化物浓度与苯酚浓度之间的交互作用显

表 8 硫化物、苯酚响应面分析因素及水平
Table 8 Factors and levels of response surface experiment of sulfide and phenol
mg · L⁻¹

因素	代码	水平		
		-1	0	1
苯酚浓度	A	3	6.5	10
硫化物浓度	C	70	185	300

表 9 硫化物、苯酚响应面分析方案及实验结果
Table 9 Design and result of response surface analysis of sulfide and phenol

实验号	A	C	抑制率/%
1	0	0	94.27
2	1	-1	81.23
3	-1	-1	47.97
4	0	0	92.36
5	1.414	0	90.62
6	0	0	93.10
7	-1.414	0	79.49
8	-1	1	90.10
9	0	-1.414	54.42
10	0	0	90.62
11	0	1.414	78.11
12	1	1	80.71
13	0	0	92.51

注:批次实验中增加了 2 组不添加任何抑制剂的空白实验作为对照实验,用来计算响应面实验的抑制率。

著。由图 8(b) 可知,当硫化物浓度不变时,抑制率随着苯酚浓度的升高而升高;当苯酚浓度不变时,抑制率随着硫化物浓度的升高而升高。而通过对比可知,抑制率随苯酚浓度增高而增高的增幅比随硫化物浓度增高而增高的增幅小,所以可以认为在苯酚和硫化物的交互作用中,硫化物浓度对短程硝化污泥比氨氧化活性的抑制作用要大于苯酚浓度,是主效应因子。

表 10 硫化物、苯酚回归方程方差分析

Table 10 Variance analysis of regression equation of sulfide and phenol

方差来源	平方和	自由度	均方和	比值 F	显著水平 P
模型	2 623.44	5	524.69	150.4	<0.000 1
A	196.22	1	196.22	56.25	0.000 1
C	704.95	1	704.95	202.08	<0.000 1
AC	454.75	1	454.75	130.36	<0.000 1
A^2	107.07	1	107.07	30.69	0.000 9
C^2	1 233.69	1	1 233.69	353.64	<0.000 1
残差	24.42	7	3.49		
失拟项	17.40	3	5.80	3.30	0.139 4
存误差	7.02	4	1.76		
合计	2 647.86	12			

注: $R^2 = 0.990 8$ 。

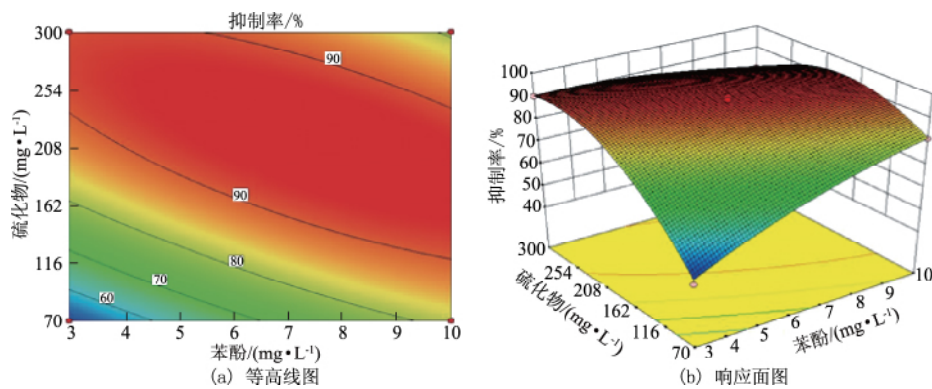


图 8 硫化物和苯酚联合毒性对短程硝化污泥活性抑制率影响的等高线图和响应面图

Fig. 8 Contour lines and response surface plot of inhibition of specific ammonia oxidation activity for partial nitrification sludge by combined toxicities of sulfide and phenol

为了考察模型的实用性和准确性,将苯酚浓度为 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,硫化物浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下的实验数据与相应的模型预测值进行比较,去除率分别为 91.69% 和 94.58% 。实验值和模型的预测值比较接近,表明该模型具有一定的指导意义。根据回归方程可以得到 2 种抑制剂在实验浓度范围内对短程硝化污泥活性抑制率的最大值为 94.32% ,极值时硫化物与苯酚浓度分别为 $208 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $7.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3 结论

1) Zn^{2+} 、硫化物和苯酚对短程硝化污泥活性都有明显的抑制作用,其 4 h 半抑制浓度 IC_{50} 分别为 38.29 、 139.13 和 $3.46 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2) 在一定浓度 Zn^{2+} ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、硫化物 ($350 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和苯酚 ($12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 下短期暴露 4 h 后,短程硝化污泥 8 h 活性恢复程度分别为 7.46% 、 46.09% 、 22.69% 。与硫化物和苯酚相比, Zn^{2+} 由于与生

物体内活性分子的结合比较稳定而导致短程硝化污泥恢复较慢。

3) 苯酚与 Zn^{2+} 因素响应面模型显示苯酚与 Zn^{2+} 浓度分别为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $37.86 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时短程硝化污泥活性抑制率最高 (90.39%) ; 硫化物与苯酚 2 因素响应面模型显示硫化物与苯酚浓度分别为 $208 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $7.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时短程硝化污泥活性抑制率最高 (94.32%) 。上述 2 个模型的多元相关系数 R^2 分别为 0.997 2 与 0.990 8。

参考文献

- [1] JETTEN M S M ,WAGNER M ,FUERST J ,et al. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation('anammox') process[J]. Current Opinion in Biotechnology 2001 ,12(3) : 283-288
- [2] 王亚宜,黎力,马骁,等. 厌氧氨氧化菌的生物特性及 CANON 厌氧氨氧化工艺[J]. 环境科学学报,2014 ,34(6) : 1362-1374
- [3] RONGSAYAMANONT C ,LIMPIYAKORN T ,KHAN E. Effects of inoculum type and bulk dissolved oxygen concentration on achieving partial nitrification by entrapped-cell-based reactors [J]. Bioresource Technology 2014 ,164: 254-263
- [4] 邓征宇,杨春平,曾光明,等. Fenton-水解酸化-接触氧化工艺处理含苯酚制药废水[J]. 工业水处理 2010 ,30(7) : 68-71
- [5] 任源,韦朝海,吴超飞,等. 焦化废水水质组成及其环境学与生物学特性分析[J]. 环境科学学报 2007 ,27(7) : 1094-1100
- [6] 高太忠,余国山,杨柳,等. 垃圾渗滤液中溶解性有机物对土壤中重金属迁移的影响[J]. 环境工程学报 2011 ,5(5) : 1176-1180
- [7] GUO Q ,SHI Z J ,XU J L ,et al. Inhibition of the partial nitrification by roxithromycin and Cu(II) [J]. Bioresource Technology , 2016 ,214: 253-258
- [8] 李亚峰,张驰,王健. 重金属离子对亚硝化的影响研究[J]. 水处理技术 2016 ,42(2) : 96-99
- [9] WU S ,BHATTACHARJEE A S ,WEISSBRODT D G ,et al. Effect of short term external perturbations on bacterial ecology and activities in a partial nitrification and anammox reactor[J]. Bioresource Technology 2016 ,219: 527-535
- [10] 路聪聪,葛士建,王淑莹,等. 苯酚对氨氧化菌硝化和污泥性能冲击影响[J]. 化工学报 2012 ,63(8) : 2576-2583
- [11] 魏翔,任洪强,袁粒,等. 混合重金属对硝化颗粒污泥毒性作用的析因实验研究[J]. 环境工程学报 2007 ,1(5) : 101-104
- [12] ZHAO J ,ZUO J ,WANG X ,et al. GeoChip-based analysis of microbial community of a combined nitrification-anammox reactor treating anaerobic digestion supernatant [J]. Water Research 2014 ,67: 345-354
- [13] GRAAF A V D A ,BRUIJN D P ,ROBERTSON L A ,et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor[J]. Microbiology ,1996 ,142(8) : 2187-2196
- [14] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社 2002
- [15] JIN R C ,YANG G F ,ZHANG Q Q ,et al. The effect of sulfide inhibition on the ANAMMOX process [J]. Water Research , 2013 ,47(3) : 1459-1469
- [16] CHENG M H ,MINEAR R A. Heavy metals uptake by activated sludge [J]. Journal of Water Pollution Control Federation , 1975 ,47(2) : 362-376
- [17] SEARS K ,ALLEMAN J E ,BARNARD J L ,et al. Impacts of reduced sulfur components on active and resting ammonia oxidizers [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 2004 ,31(8) : 369-378
- [18] DENYER S P ,STEWART G S A B. Mechanism of action of disinfectants [J]. International Biodeterioration & Biodegradation , 1998 ,41(3) : 261-268
- [19] CECEN F ,SEMERCİ N ,GEYİK A G. Inhibitory effects of Cu ,Zn ,Ni and Co on nitrification and relevance of speciation [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology 2010 ,85(4) : 520-528
- [20] 蒋玲燕,周振,王英俊,等. 硫化物对污水处理厂硝化菌活性的抑制作用[J]. 环境工程学报 2012 ,6(11) : 4065-4068
- [21] 李娟英,赵庆祥,江敏. 苯酚及其衍生物对氨氮生物硝化的抑制研究[J]. 环境工程学报 2008 ,2(1) : 27-30
- [22] MURALIDHAR R V ,CHIRUMAMILA R R ,MARCHANT R ,et al. A response surface approach for the comparison of lipase production by *Candida cylindracea* using two different carbon sources [J]. Biochemical Engineering Journal 2001 ,9(1) : 17-23