

熊张东,唐文浩,唐天乐,等.典型消毒剂及与紫外联合与再生水消毒副产物生物毒性效应的关系[J].江苏农业科学,2015,43(4):363-365.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.128

典型消毒剂及与紫外联合与再生水消毒副产物生物毒性效应的关系

熊张东,唐文浩,唐天乐,白娟娟,余芬芳

(海南大学环境与植物保护学院,海南海口 570100)

摘要:用次氯酸钠、二氧化氯、氯胺、臭氧等 4 种典型消毒剂及与紫外联合消毒处理沉淀池出水,以模式生物斑马鱼的胚胎为研究模型,对斑马鱼胚胎进行暴露试验,以心率、成活率、孵化率、畸形率来表征生物毒性和生态毒理效应,研究分析各典型消毒剂及与紫外联合消毒对胚胎发育的影响。结果表明,各种消毒剂消毒后的水样均对斑马鱼胚胎有减缓心跳和致畸作用,无明显的致死性;紫外联合方式优于单一消毒;二氧化氯消毒致畸性最弱,次氯酸钠和氯胺消毒对胚胎有一定影响,臭氧消毒生态安全性存在很大问题。

关键词:消毒剂;紫外联合消毒;胚胎发育;毒理效应;再生水

中图分类号: X131.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0363-03

次氯酸钠、二氧化氯、氯胺是典型的含氯消毒剂,臭氧有着强氧化性和二次污染小的特性,均为目前最常用的典型消毒剂^[1],在再生水的回用处理中应用广泛,这 4 种消毒剂在杀灭细菌的同时,会与污水中前提有机物发生取代反应,形成不同种类的 DBPs,其中,次氯酸钠消毒副产物主要有三氯甲烷 (THMs) 和卤代乙酸 (HAAs);二氧化氯与前驱物发生氧化还原反应,生成 ClO_2^- 和 ClO_3^- 等致癌产物;氯胺主要依靠一氯胺和二氯胺的氧化性消毒,其副产物与次氯酸钠类似,由于不是游离氯,使得副产物含量降低;臭氧消毒副产物较少,当水样中含有 Br^- 时会产生溴酸盐。紫外消毒法主要利用紫外线破坏细胞 DNA 达到灭菌的效果,操作简便、消毒副产物少,正逐步代替氯消毒工艺^[2]。

斑马鱼为热带淡水鱼,成长周期短,实验室条件饲养方便、易于操作,体型较小,身体上斑马纹线条间隔,胚胎透明度较大,易于观察内部结构的分化过程,并且作为鱼类生物链的高级群体,其生态毒理效应能直观反映水环境的情况,是非常典型胚胎发育研究的模式生物,作为胚胎发育生物学和遗传学的试验动物,被广泛运用于早期胚胎发育基因表达控制研究,后被用于化学混合物的急、慢性毒性检测及重金属生物累积效应研究等^[3]。目前,城市污水成分复杂,有害物质种类多、浓度低,消毒剂消毒的同时会伴随消毒副产物的产生,已知的副产物种类就有几百种,采用化学分析方法成本高,对已知的副产物分析不全面,未知成分也无法定量分析,不能真实有效地反映其环境危害性,而采用生物方法则具有明显优势,可从毒理学的响应反映其生态安全性。本试验以斑马鱼胚胎作为模式生物,采用污水厂进行实际水样模拟,研究 4 种典型

消毒剂及联合紫外消毒与再生水消毒副产物生态毒理效应的关系,通过分析比较来评价所采用技术方法的生态安全性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 水样预处理 采集海南省海口市美兰区白沙门某污水处理厂的沉淀池出水及紫外消毒后的出水,混凝处理取上清液,用 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜抽滤,得到含有复合溶解性有机物的水样,低温保存备用。水样均在使用前取得,保存时间不超过 1 周,以防止溶解性有机物因外界条件变化不稳定造成误差。

1.1.2 消毒剂 次氯酸钠 $0.3\ \text{mg/L}$,原试剂活性氯 $\geq 5.5\%$,使用前标定;氯胺 $1\ \text{mg/L}$,原试剂活性氯 $\geq 24.0\%$,试剂为氯胺 T,分子式为 $\text{C}_7\text{H}_7\text{ClNNaO}_2\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$;二氧化氯 $2.4\ \text{mg/L}$,原试剂含量 99% ,分析纯;臭氧发生器制备臭氧 $20\ \text{mg/L}$, $5\ \text{g/h}$ 消毒时间 $30\ \text{s}$;紫外剂量为白沙门某污水处理厂标准处理剂量, $\geq 300\ \text{J/m}^2$ 。试验过程均采用超纯水以排除其他杂质干扰,含氯消毒剂棕色试剂瓶贮存,低温保存。参照文献^[4-8]配制不同浓度梯度的消毒剂,对消毒后水样微生物和余氯量进行测定,均以加入水样后有效氯计;联合紫外消毒试验各消毒剂的量不变,臭氧消毒浓度按照仪器的制备规格确定消毒时间。

1.1.3 斑马鱼胚胎的培养 在实验室条件下,从幼鱼阶段开始饲养斑马鱼,鱼缸采用惰性塑料及钢化玻璃材质。为保证鱼体本身不受外界条件污染,饲养用水为曝气水(自来水经过曝气光照去除氯),温度恒定为 $26\ ^\circ\text{C}$ 左右,pH 值保持为 8 左右,以饲料和幼虫为食物喂养 2~3 个月;严格按照光照比 14:10 诱导产卵;收集鱼卵,用超纯水清洗去除杂物。由于长期试验用鱼卵质量会有所下降,成活率降低,需要经过 12 h 的自身发育来进行筛选,正常胚胎呈透明状,观察剔除胚胎出现明显白斑、卵核出现凝结等本身发育不良的胚胎。

1.1.4 试剂和仪器 次氯酸钠、二氧化氯、氯胺、臭氧发生器;棕色试剂瓶、移液管若干、移液枪(一次性枪头)、 8×6 的

收稿日期:2014-12-18

基金项目:国家“863 计划”(编号:2013AA102802);国家科技支撑计划(编号:2012BAC18B04)。

作者简介:熊张东,男,安徽安庆人,硕士,从事环境工程水处理研究。

E-mail: xzd8256863@126.com。

孔板;荧光电子显微镜、恒温培养箱等。

1.2 试验过程

试验水样共 9 组,沉淀池出水及紫外消毒出水的预处理水样分别加 4 种消毒剂进行消毒,以曝气水作为空白对照。用移液枪吸取选取的鱼卵至孔板内,每孔 1 粒,共 48 粒;尽量吸尽培养鱼卵的用水,以减小试验误差;每个孔板加 1 种消毒剂消毒水样,放置恒温培养箱中 27 ℃ 培养,每隔 24 h 依次取出鱼卵于荧光电子显微镜下观察 1 次所有鱼卵的发育成活情况,记录试验数据和现象。每次观察完毕,更换孔板水样以保持鱼卵暴露状态的持续性。

1.3 统计分析

1.3.1 特征观察 根据斑马鱼胚胎发育的时间进行观察(表 1)。细胞分化初期,无心跳特征,未到达孵化时间,畸形特征还不能观察;48 h 记录未孵化胚胎心跳,72 h 记录孵化后心跳,48 h 已经孵化和 72 h 未孵化的不计入观察。

表 1 各个时间段鱼卵的观察要求

染毒时间 (h)	鱼卵特征			
	心跳	孵化率	致畸率	成活率
24	—	√	—	√
48	▲	√	√	√
72	▲	√	√	√

注:—,不能观察;√,可观察;▲,部分观察。

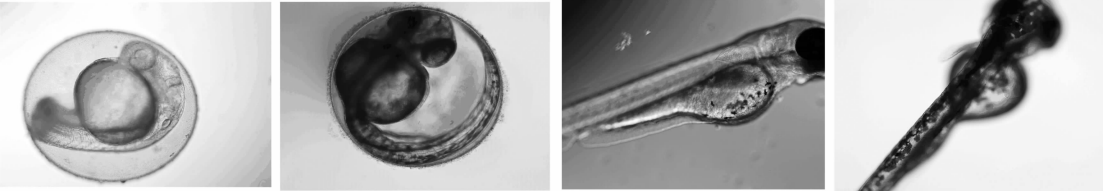


图 1 斑马鱼正常发育的各个时间段胚胎形态特征

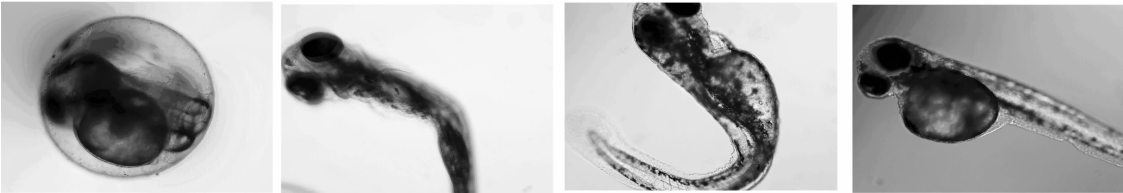


图 2 斑马鱼发育受阻或者畸形的胚胎(脊柱弯曲、卷尾、心胞囊肿)

的影响较大,在完全孵化后则不及 THMs 和卤代乙酸 HAAs 对鱼体心跳的影响;臭氧消毒副产物对孵化出的斑马鱼心跳影响更大,当臭氧消毒方式与水样接触时,可能会产生更多量的 THMs 和卤代乙酸 HAAs,目前对臭氧消毒产生副产物的研究还不充分^[10]。

2.3 消毒剂及与紫外联合对斑马鱼孵化率的影响

由图 4、图 5 可见,各种消毒方式均对胚胎的发育有延缓作用,但无发育停止现象;不同单一消毒剂影响斑马鱼胚胎发育的时间不同,臭氧消毒水样染毒 48 h 的斑马鱼胚胎孵化率相对最高,为 29.17%,以氯胺组水样染毒 72 h 的斑马鱼胚胎孵化率相对最高,但基本无影响,可达到正常发育水平;紫外联合各消毒剂,48、72 h 基本趋势不变,紫外联合含氯消毒剂进行消毒,对斑马鱼胚胎孵化率的影响减小,与不同消毒剂副产物的生成机制相吻合。这是因为影响紫外消毒的是水质透明度,剂量变化让灭菌效果出现峰值,紫外联合氯消毒不仅能

1.3.2 数据统计 心率比值 = 染毒胚胎心跳次数/空白正常胚胎心跳次数;孵化率 = 孵化胚胎数量/当前孔板总孔数 × 100%;成活率 = 成活数量/当前孔板总孔数 × 100%;致畸率 = 致畸数量/当前孔板总孔数 × 100%。采用系统取样法选取试验数据。

2 结果与分析

2.1 毒理学特征表现

试验鱼卵成活率为 100%,未出现死亡。消毒剂处理过的水样会使斑马鱼胚胎发育延缓,同等时间下细胞分化速度降低,无卵凝结出现,未完全孵化及孵化后的胚胎都出现心胞囊肿,造成部分鱼卵发育畸形,孵化完全的斑马鱼出现脊柱弯曲、卷尾(图 1、图 2)。根据 OECD 制定的《关于斑马鱼胚胎检测单一化学毒性详细指南》,本试验斑马鱼胚胎均为 II 类非致死形态学指标,无卵凝结、心跳停止等致死性类型^[9]。

2.2 消毒剂及与紫外联合对斑马鱼心率比值的影响

心率比值越大,试验斑马鱼的胚胎心跳越接近正常水平。由图 3 可见,紫外联合 4 种消毒剂消毒相比单一消毒,心率比值都有所增加;二氧化氯消毒副产物对胚胎心跳的影响相对最小,臭氧消毒副产物对斑马鱼胚胎的心跳降低最为明显。由此可推断:二氧化氯相比其他 2 种含氯消毒剂,以 ClO₂⁻ 和 ClO₃⁻ 为主要致癌物质的副产物对斑马鱼胚胎发育过程心跳

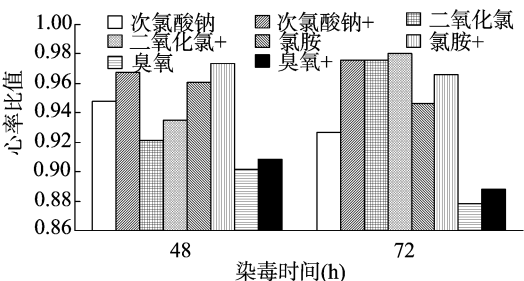


图 3 不同时间各消毒剂及与紫外联合消毒和心率比值的关系

提高再生水灭菌效果,更能在部分种类上减少 THMs 等副产物的量^[11]。二氧化氯消毒产物对斑马鱼胚胎发育的延缓最明显,氯胺和次氯酸钠影响较小。

2.4 消毒剂及与紫外联合对斑马鱼畸形率的影响

由图 6、图 7 可见,不同消毒水样对斑马鱼胚胎均有致畸

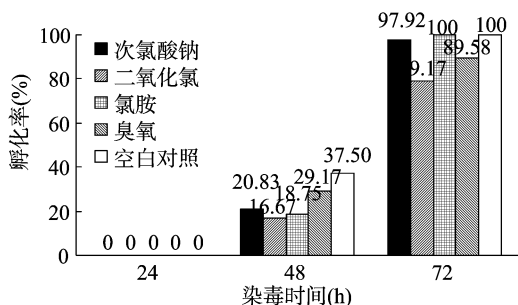


图4 不同时间典型消毒剂对斑马鱼孵化率的影响

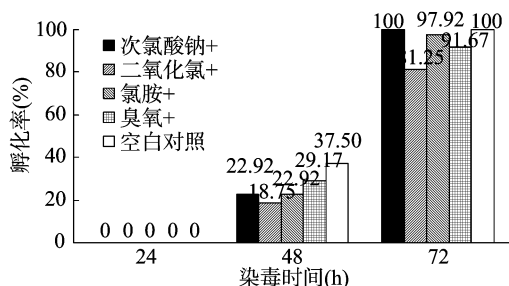


图5 不同时间紫外联合消毒剂对斑马鱼孵化率的影响

性影响,单一消毒和紫外联合消毒均以臭氧组水样致畸性最为明显,二氧化氯的影响最小,次氯酸钠和氯胺次之;消毒剂二氧化氯有效氯 2.4 mg/L 达到消毒效果的同时,得到的副产物致畸性相对最小,生态安全性最高;4 种消毒剂联合紫外消毒,次氯酸钠和氯胺的致畸性明显降低,这与紫外联合消毒控制再生水消毒副产物的机制相符;臭氧消毒致畸性在单一消毒和紫外联合消毒均有很强的致畸性,这可能是由于臭氧氧化水样中的有机物,生成少量消毒副产物,同时,污水水样本身可能含有 Br^- ,臭氧条件下溴化物转化为次溴酸盐,继而生成溴酸盐和溴代有机物,而溴酸盐可以导致染色体变异和 DNA 损伤,且具有一定的遗传毒性^[10,12]。

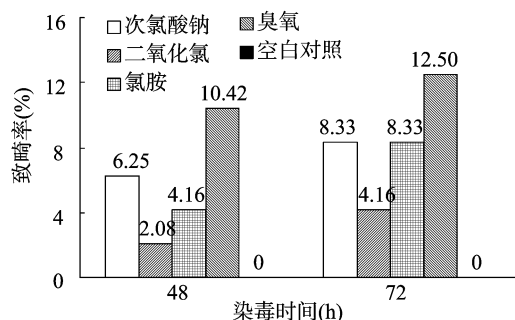


图6 不同时间典型消毒剂对斑马鱼致畸率的影响

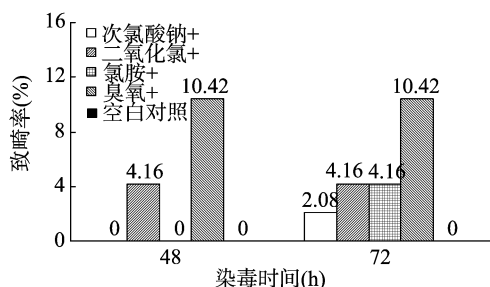


图7 不同时间紫外联合典型消毒剂对斑马鱼致畸率的影响

3 结论与讨论

次氯酸钠 0.3 mg/L、氯胺 1 mg/L、二氧化氯 2.4 mg/L、臭氧消毒时间 30 s 这 4 种典型的消毒剂及与紫外联合消毒,对再生水都有一定的生物毒性作用,表现在试验斑马鱼心率减缓、有较高的致畸性和发育受到抑制,无明显的致死现象,存在一定的生态安全风险。

紫外联合消毒效果明显优于单一消毒方式,水处理消毒环节可以考虑联合紫外消毒方式,优化出水水质,降低对环境安全的影响。二氧化氯消毒水样染毒胚胎的孵化率相对较高,致畸率较低,并且胚胎染毒对形态发育完全的斑马鱼心率影响最小;有研究表明,二氧化氯联合液氯消毒相比单一消毒更能降低副产物的产生^[13]。因此,从生态毒理效应方面评价,二氧化氯是较为有前景的消毒剂,可联合紫外或者液氯消毒剂应用于消毒工艺。臭氧消毒目前大多数认定副产物较少,但有研究表明,其仍然会产生 THMs 和卤代乙酸 HAAs,会有致癌物质溴酸盐产生,在实际应用中还存在一定生态安全风险,需要做进一步研究。

针对污水处理厂的出水,目前普遍使用各种消毒剂后 BOD、COD、重金属离子及特定物质等重要指标都能够达标,但由于一些微量、痕量污染物的指标体系不完善,具体检测方法也无法全面系统、逐一实施,仍存在生态安全风险。生物学检测可以从毒理学角度考量污水的生态安全性,科学模拟污水排放后对环境的影响,进行进一步研究,可以为污水的消毒工艺提供更加科学有力的理论基础。

参考文献:

- [1] 张朋锋,李晓燕,宋波,等. 关于再生水消毒技术的探讨[J]. 价值工程,2011,30(3):320.
- [2] 严冬. 污水处理中紫外消毒效果的研究[J]. 环境科学与管理,2010,35(11):110-112.
- [3] 李洁斐,李卫华,金泰虞,等. 斑马鱼及其在环境毒理学中的应用[J]. 环境与职业医学,2005,22(5):460-463.
- [4] 梁光,惠灵灵,金尚勇,等. ClO_2 和 Cl_2 对城市污水再生水消毒效果的比较[J]. 节水灌溉,2008(10):41-43.
- [5] 唐标文. 城市污水再生利用消毒技术比较[J]. 水电能源科学,2011,29(1):104-105,178.
- [6] 金尚勇. 城市污水再生水氯消毒副产物比较研究[J]. 供水技术,2010,4(4):20-22.
- [7] 张敬平,沈元,龙凤兴,等. 次氯酸钠和二氧化氯消毒液对城市污水消毒效果的研究[J]. 医学动物防制,2005,21(10):5-8.
- [8] 王祥勇,陈洪斌,阮久丽. 污水和再生水臭氧消毒的研究和应用[J]. 水处理技术,2010,36(4):19-23.
- [9] 周炳,赵美蓉,黄海凤. 4 种农药对斑马鱼胚胎的毒理研究[J]. 浙江工业大学学报,2008,36(2):136-140.
- [10] 徐凤丹. 饮用水臭氧消毒典型副产物的遗传毒性和致癌性[C]. 全国给水深度处理研究会 2012 年年会论文集. 北京:中国土木工程学会,2012:116-122.
- [11] 庞宇辰,席劲瑛,胡洪营,等. 再生水紫外线-氯联合消毒工艺特性研究[J]. 中国环境科学,2014,34(6):1429-1434.
- [12] 王伟,蒋颂辉,朱惠刚,等. 溴酸盐的遗传毒性[J]. 环境与健康杂志,2003,20(3):137-138.
- [13] 叶必雄,王五一,杨林生,等. 二氧化氯与氯联合消毒对饮用水中消毒副产物的影响[J]. 环境化学,2011,30(7):1236-1240.