

# 高锰酸钾灭活铜绿微囊藻及胞内毒素释放机制

高乃云<sup>1</sup>, 沈嘉钰<sup>1</sup>, 黎雷<sup>1</sup>, 戎文磊<sup>2</sup>

(1. 同济大学 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092; 2. 无锡市自来水公司, 江苏 无锡 214031)

**摘要:** 采用高锰酸钾对微囊藻毒素 MC-LR 进行氧化试验, 结果表明 MC-LR 氧化降解符合二级动力学模型, 铜绿微囊藻细胞外代谢有机物(EOM)和细胞内代谢有机物(IOM)背景下, MC-LR 降解速率常数分别为  $368.3 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  和  $400.2 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . 同时, 采用高锰酸钾对铜绿微囊藻进行预氧化试验, 研究不同氧化剂投加量、氧化时间对铜绿微囊藻活性、藻毒素 MC-LR 的释放的影响. 结果表明, 高锰酸钾对藻活性、细胞内 MC-LR 的释放均符合二级动力学模型. 氧化过程中存在两个氧化剂暴露剂量临界点, 细胞灭活临界点及毒素释放临界点. 细胞灭活临界点之前氧化剂主要与 EOM 和藻细胞细胞壁上的分泌物反应, 藻活性缓慢降低, 细胞灭活临界点之后, 氧化剂直接与细胞壁反应, 导致藻细胞迅速丧失活性, 同时藻活性下降速率常数由  $0.49 \sim 2.35 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  突变至  $5.00 \sim 19.38 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . 毒素释放临界点之前藻细胞基本保持完整, MC-LR 释放不明显, 毒素释放临界点处藻细胞发生明显破裂和溶解, 细胞内 MC-LR 大量释放, 同时, MC-LR 释放速率常数在临界点前后由  $0.55 \sim 1.45 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  突变至  $0.96 \sim 14.45 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . 3 维荧光光谱(EEM)分析发现, 当高锰酸钾暴露剂量达到细胞灭活临界点时, EOM 中类腐殖质峰开始出现, 暴露剂量达到毒素释放临界点时, 类腐殖质峰显著增加, 与藻细胞活性及胞内 MC-LR 释放规律类似.

**关键词:** 高锰酸钾; 微囊藻毒素-LR; 释放; 氧化; 动力学

**中图分类号:** X524

**文献标志码:** A

## Inactivation of *Microcystis aeruginosa* by Permanganate and Release Kinetics of Intracellular Microcystin

GAO Naiyun<sup>1</sup>, SHEN Jiayun<sup>1</sup>, LI Lei<sup>1</sup>, RONG Wenlei<sup>2</sup>

(1. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Wuxi Water Supply General Company, Wuxi 214031, China)

**Abstract:** Oxidation of Microcystin-LR (MC-LR) in background of *Microcystis aeruginosa* intracellular organic matter (IOM) and extracellular organic matter (EOM) by potassium permanganate was studied. MC-LR degradation followed second-order kinetic with the rate constants of  $368.3$  and  $400.2 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  in EOM and IOM background respectively. Meanwhile, pre-oxidation of *Microcystis aeruginosa* by potassium permanganate was studied. The impacts of permanganate dosage and reaction time on quantum yield, release of intracellular MC-LR and other featured organic matter were investigated. The release of intracellular MC-LR and decrease of quantum yield both followed second-order kinetic with turning point at permanganate exposure respectively. Permanganate mainly reacted with EOM and the cell bounded organic matter before exposure value arriving quantum yield turning point. Thereafter, permanganate directly reacted with cell wall of algae causing the rapid reduce of quantum yield with the rate constant greatly increased from  $0.49 \sim 2.35 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  to  $5.00 \sim 19.38 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . Similarly, MC-LR was slightly released while permanganate exposure value below release turning point, where algae cells kept relatively integrated. Subsequently, algae damage occurred after the release turning point, inducing mass of intracellular MC-LR release with the rate constant greatly increased from  $0.55 \sim 1.45 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  to  $0.96 \sim 14.45 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . Humus-like peak was observed emerging at quantum yield turning point and becoming evident at release turning point, which is very similar to the pattern of quantum yield dropping and intracellular MC-LR releasing.

**Key words:** potassium permanganate; Microcystin-LR; releasing; oxidation; reaction kinetics

近年来,水体富营养化问题日益严重,由此引发的鱼类大量死亡,藻毒素、异嗅物质及其他藻类代谢

收稿日期: 2013-06-24

基金项目: 国家科技重大专项(2012ZX07403-001); 国家自然科学基金(51178321); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20120072110050); 中国博士后科学基金(2013M531215)

第一作者: 高乃云(1950—),女,教授,博士生导师,工学博士,主要研究方向为水处理理论与技术. E-mail: gaonaiyun@sina.com

有机物(AOM)释放等问题对人类的生产建设造成了严重的危害,也对饮用水安全构成了重大的威胁。铜绿微囊藻作为常见的淡水藻,是我国太湖等地表水源水湖泊的主要危害型藻类<sup>[1-4]</sup>。其产生的微囊藻毒素(Microcystins, MCs)是一种环状七肽结构的肝毒素,能够破坏肝脏,引发肿瘤生长<sup>[5]</sup>。世界卫生组织以及许多其他国家对于饮用水中 MC-LR 设定限值  $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[6]</sup>。

研究表明,常规水处理工艺对于藻细胞的去除有较好的效果,但对于 MCs 的去除能力有限。一旦藻细胞发生破裂,细胞内的 MCs 等有机物释放进入周围水体,常规工艺很难去除。而化学、高级氧化工艺,如氯化、高锰酸钾氧化、光催化氧化等对 MCs 均有较好的处理效果<sup>[7]</sup>。但氧化剂对于藻细胞具有穿透作用,在氧化细胞外 MCs 的同时,会进一步导致细胞内 MCs 的释放,从而加重后续水处理工艺的负荷。

国外已有文献研究使用氯作为氧化剂的铜绿微囊藻细胞外 MCs 氧化及细胞内 MCs 释放动力学模型<sup>[8]</sup>,也有对高锰酸钾氧化 MCs 的相关动力学研究<sup>[9]</sup>,但有关高锰酸钾对于铜绿微囊藻灭活、细胞内 MCs 释放及细胞内外 MCs 氧化降解的系统研究尚未见报道。

本文以铜绿微囊藻为研究对象,考察不同高锰酸钾投加量和氧化时间对藻的灭活效果、细胞内 MC-LR 等有机物释放的影响,并建立数学模型进行动力学拟合,同时采用 3 维荧光光谱(EEM)的荧光特性分析高锰酸钾处理铜绿微囊藻过程中藻细胞外代谢有机物(EOM)及细胞内代谢有机物(IOM)释放及转化规律,以期明确高锰酸钾预氧化工艺对高藻水预处理的可行性及关键控制因素。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种的培养及 AOM 的提取

铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)藻种,编号 FACHB-912,购自武汉水生生物研究所,采用培养基 BG<sub>11</sub> 进行培养。铜绿微囊藻在  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ , 光照度为 2400 lx, 光暗周期为 12 h 光照、12 h 黑暗的恒温培养箱中培养。取藻密度为  $6.4 \times 10^6$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  处于对数期的藻液进行氧化试验。EOM 和 IOM 的提取分别采用离心和冻融法<sup>[2]</sup>。

### 1.2 试验试剂

高锰酸钾、硫代硫酸钠(国药集团)为分析纯;甲

酸和乙腈(Sigma 公司)为色谱纯;试验配水采用 Milli-Q 型号超纯水制水机(Millipore 公司)制取。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 藻的 IOM 和 EOM 氧化试验

试验在  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  的室温中进行。高锰酸钾与 IOM, EOM 提取液的反应在 250 mL 的玻璃摇瓶中进行,在预定的反应时间点取样(取样容器中预加少量硫代硫酸钠溶液,用于终止反应)。测定剩余 MC-LR 含量。反应初始 pH 值用盐酸或氢氧化钠调至  $7.5 \pm 0.1$ 。

#### 1.3.2 高锰酸钾剩余浓度及藻活性试验

试验在  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  的室温中进行,反应初始 pH 值用二氧化碳调节至  $7.5 \pm 0.1$ 。高锰酸钾与藻悬浊液的反应在 250 mL 的玻璃摇瓶中进行,在预定的反应时间点取样,取样后一部分水样立即经过  $0.7 \mu\text{m}$  玻璃纤维滤膜于 1 cm 石英比色皿中测 510 nm 下紫外吸光度  $\text{UV}_{510}$  (背景  $\text{UV}_{510}$  由膜后水样加入过量硫代硫酸钠溶液测得),测定高锰酸钾剩余浓度。剩余水样则直接测量其细胞活性。

#### 1.3.3 藻的 IOM 释放试验

试验在  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  的室温中进行,反应初始 pH 值用二氧化碳调节至  $7.5 \pm 0.1$ 。高锰酸钾与藻悬浊液的反应在 250 mL 的玻璃摇瓶中进行,在预定的反应时间点取样(取样容器中预加少量硫代硫酸钠溶液,用于终止反应),取样后取一部分水样立即经过  $0.7 \mu\text{m}$  滤膜得含有 EOM 的溶液,未过膜的剩余水样则采用连续冻融法(重复 4 次)后经过  $0.7 \mu\text{m}$  滤膜得含有 EOM 和 IOM 的总代谢有机物(TOM)溶液。测定 EOM 及 TOM 溶液的 MC-LR 含量及 EEM 荧光特征图。IOM 中 MC-LR 浓度通过二者相减获得。

### 1.4 分析方法

MC-LR 含量采用高效液相色谱(型号 Waters e2695 Separation Module)-质谱(型号 Thermo Finnigan TSQ Quantum)联用仪进行分析,色谱柱为 C18 柱(型号 Thermo  $5 \mu\text{m}$  Hypersil Gold C18, 规格为  $100 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}$ ),采用体积比为 65 : 35 的流动相 A(质量分数为 0.1% 的甲酸溶液)与 B(乙腈)等度洗脱模式,流动相流速  $200 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温  $30^\circ\text{C}$ 。质谱电离源为电喷雾电离正源(ESI),电喷雾电压为 4 500 V,离子传输毛细管温度为  $300^\circ\text{C}$ 。

EEM 采用 Hitachi F-4500 型荧光光谱分析仪进行测定。带通激发波长  $E_x = 5 \text{ nm}$ , 发射波长  $E_m = 10 \text{ nm}$ ;扫描波长范围为:  $E_x = 220 \sim 500 \text{ nm}$ ,  $E_m =$

250~550 nm;使用 Origin 软件进行 EEM 数据处理。

藻的光合活性参数采用叶绿素荧光脉冲仪 PHYTO-PAM(Walz 公司)测定,藻密度的测量、高锰酸钾浓度的测量采用 UV-765 型紫外/可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)测定,溶解性有机碳(DOC)采用 TOC-V<sub>CPH</sub> 型总有机碳分析仪(Shimadzu 公司)测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 高锰酸钾氧化铜绿微囊藻 EOM 和 IOM 中 MC-LR 的动力学分析

高锰酸钾氧化时,铜绿微囊藻 EOM,IOM 提取液中 MC-LR 迅速降解,30 min 内 MC-LR 去除率>95%。采用高锰酸钾剩余浓度  $c(\text{KMnO}_4)$  对反应时间  $t$  的积分值来表示 EOM 和 IOM 在高锰酸钾下的暴露剂量  $E$ ,建立 MC-LR 的降解动力学方程

$$-\frac{dc_{\text{MC-LR}}}{dt} = k_d c_{\text{MC-LR}} c(\text{KMnO}_4) \quad (1)$$

$$\frac{c_{\text{MC-LR},E}}{c_{\text{MC-LR},0}} = e^{-k_d E} \quad (2)$$

式中: $E$  为高锰酸钾暴露剂量; $c_{\text{MC-LR}}$  为 MC-LR 浓度; $c(\text{KMnO}_4)$  为高锰酸钾剩余浓度; $c_{\text{MC-LR},E}$  为给定  $E$  值下的 MC-LR 浓度; $c_{\text{MC-LR},0}$  为  $E$  值为 0 时的 MC-LR 浓度; $k_d$  为 MC-LR 氧化降解速率常数。

由式(2)可以得出在各种试验条件下,反应的动力学常数  $k_d$  为

$$k_d = \frac{-\ln(c_{\text{MC-LR},E}/c_{\text{MC-LR},0})}{E} \quad (3)$$

反应动力学拟合结果见图 1 及表 1。 $c_{\text{MC-LR},E}/c_{\text{MC-LR},0}$  与  $E$  值指数关系较好,证明反应符合二级动力学。

EOM 和 IOM 背景下 MC-LR 的降解速率常数  $k_d$  分别为  $368.3 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  和  $400.2 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ,与 Rodriguez<sup>[9]</sup> 报导的  $T=20^\circ\text{C}$  时的高锰酸钾氧化纯 MC-LR 的  $k$  值  $357.2 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  接近。即当其他背景 EOM 或 IOM 存在时,高锰酸钾对 MC-LR 的氧化速率常数与其氧化纯 MC-LR 的速率常数基本一致。说明背景 AOM 对 MC-LR 的氧化降解无明显竞争作用,其主要原因是高锰酸钾对其他有机物的氧化降解速率常数<sup>[10-12]</sup> 通常远低于 MC-LR,即使在较高浓度下也无法形成明显的竞争氧化作用。

值得注意的是,高锰酸钾( $31.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )在

铜绿微囊藻的 EOM 及 IOM 提取液中同样消耗迅速,氧化剂半衰期在 EOM,IOM 中分别约为 7 min 及 3 min。同时,高锰酸钾的消耗呈明显的指数下降趋势,采用一级动力学进行拟合如图 2 所示。IOM 中的高锰酸钾降解速率约为 EOM 中的 2.5 倍,这是高锰酸钾与 IOM,EOM 反应速率不同造成的,即 IOM 较 EOM 更易与氧化剂发生反应。可知,当高锰酸钾穿透细胞发生 IOM 释放时将大量消耗氧化剂,即使使用预氧化工艺除藻时必须尽可能控制 IOM 的释放,节约氧化剂用量。

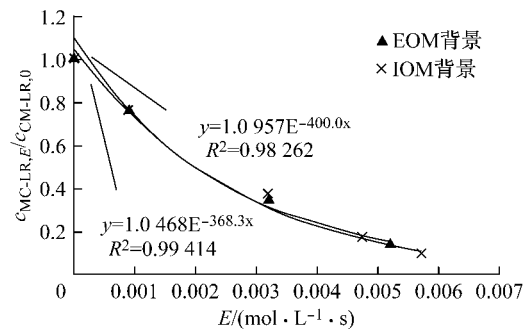


图1 EOM 和 IOM 背景下高锰酸钾暴露剂量  $E$  对 MC-LR 氧化的影响

Fig.1 Effect of potassium permanganate exposure on oxidation of MC-LR under EOM and IOM background

表1 高锰酸钾暴露剂量  $E$  对 MC-LR 氧化影响的动力学模型拟合参数

Tab.1 Fitting parameters of kinetics model on oxidation of MC-LR under different potassium permanganate exposures

AOM	$k_d / ((\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	$R^2$
EOM 背景	368.3	0.99
IOM 背景	400.2	0.98

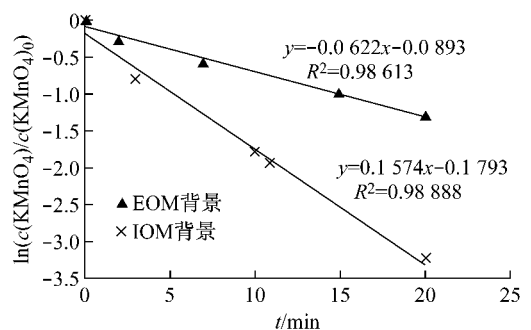


图2 高锰酸钾氧化 EOM 和 IOM 剩余浓度一级动力学拟合图

Fig.2 First-order kinetic plot for the oxidation of EOM and IOM with potassium permanganate

## 2.2 高锰酸钾氧化铜绿微囊藻液的动力学分析

选取藻密度为  $6.4 \times 10^6$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  的铜绿微囊藻液,投加不同浓度高锰酸钾( $12.6 \sim 379.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,即质量浓度  $2 \sim 60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),反应时间 280 min(取水口至沉淀池出水的水力停留时间,即氧化剂发挥其氧化作用的时间,约 4.5 h),高锰酸钾在藻液中剩余质量浓度随反应时间变化如图 3 所示.加入高锰酸钾后,其迅速与 EOM 反应,在  $0 \sim 2 \text{ min}$  内高锰酸钾质量浓度急剧下降,之后变化趋缓,然后又开始加快,即高锰酸钾的消耗呈现快—慢—快的趋势.另外,氧化剂的质量浓度急剧下降也可能是由于反应初期高锰酸钾迅速吸附 EOM 造成.当高锰酸钾质量浓度较高(为  $20, 40, 60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )时,上述现象明显,因为反应前期随着能被高锰酸钾氧化的 EOM 逐渐减少使得其降解速率趋缓.但随着接触时间增长( $60 \sim 120 \text{ min}$  之后),高锰酸钾降解速率再次加快,判断是因为藻细胞的细胞壁受到破坏,引发 IOM 的释放从而加快高锰酸钾的消耗.对于低质量浓度高锰酸钾( $2, 5, 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),其随反应时间的变化没有明显的快—慢—快的趋势,于  $120 \sim 210 \text{ min}$  左右消耗完,可以认为高锰酸钾主要被 EOM 消耗, IOM 未有明显释放,从而导致高锰酸钾剩余质量浓度呈单一的指数下降趋势.

图 3 还表明,280 min 内藻密度为  $6.4 \times 10^6$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  的藻细胞消耗高锰酸钾量于  $20 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  之间,即当水源地藻类数目达到 5 000 万个  $\cdot \text{L}^{-1}$  时,280 min 接触时间下,高锰酸钾消耗量为  $0.155 \sim 0.313 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  之间(不包括其他天然有机物可能需要消耗的高锰酸钾量).即高锰酸钾作为高

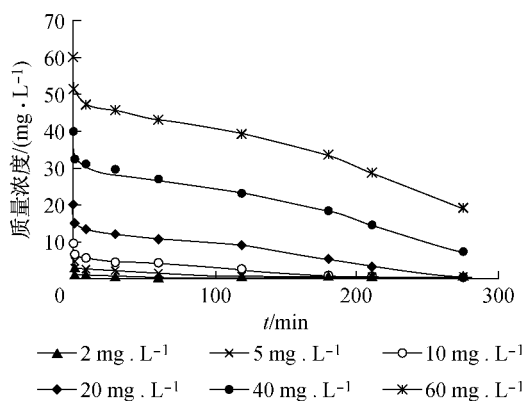


图3 氧化藻液过程中不同高锰酸钾投加量下高锰酸钾剩余质量浓度随反应时间的变化

Fig.3 Potassium permanganate decay during oxidation of *Microcystis aeruginosa* at different initial potassium permanganate concentrations

藻水预氧化剂时,其投加量可根据原水藻细胞浓度来确定,以控制高锰酸钾剩余浓度过高的风险.

### 2.2.1 高锰酸钾对铜绿微囊藻活性影响的动力学分析

藻细胞在高锰酸钾氧化后会受到不同程度破坏,其活性随反应时间的推移而降低.藻液的初始活性  $Y_0$  为 0.41.当高锰酸钾投加量为  $12.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,活性基本稳定在  $Y_0$ ,说明  $12.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的高锰酸钾基本不影响藻细胞活性,即藻体没有遭到破坏.  $31.6 \sim 379.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  高锰酸钾下,藻细胞活性在前  $30 \sim 160 \text{ min}$  降低较缓,随后迅速下降,直至藻体的生命特征基本丧失.高锰酸钾对藻活性的影响符合二级动力学,其方程可以表达为

$$-\frac{dY}{dt} = k_Y Y C(\text{KMnO}_4) \quad (4)$$

$$\frac{Y_E}{Y_0} = e^{-k_Y E} \quad (5)$$

$$k_Y = \frac{-\ln(Y_E/Y_0)}{E} \quad (6)$$

式中:  $Y$  为藻活性;  $Y_E$  为给定  $E$  值下的藻活性;  $Y_0$  为  $E$  值为 0 时的藻活性;  $k_Y$  为活性变化速率常数.反应的动力学拟合结果见图 4 及表 2.

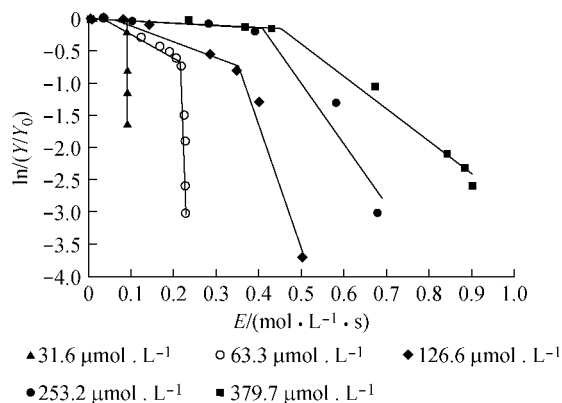


图4 不同高锰酸钾投加量下高锰酸钾暴露剂量  $E$  对藻活性的影响

Fig.4 Effect of potassium permanganate exposure on *Microcystis aeruginosa* quantum yield with different permanganate dosages

由图 4 可知,当高锰酸钾投加量为  $31.6 \sim 379.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时藻活性变化速率在  $E_Y$  处存在突变,可以认为  $E_Y$  是高锰酸钾暴露值的临界点,  $E < E_Y$  时,高锰酸钾氧化 EOM 并与藻细胞细胞壁上的分泌物反应,氧化剂尚未作用至细胞,藻活性缓慢降低;  $E \geq E_Y$  时,氧化剂直接与细胞壁反应,导致藻细胞迅速丧失活性.

表 2 高锰酸钾暴露剂量  $E$  对藻活性影响的动力学模型拟合参数Tab.2 Fitting parameters of kinetic model on *Microcystis aeruginosa* quantum yield under different potassium permanganate exposures

$c(\text{KMnO}_4)/$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$E < E_Y$			$E \geq E_Y$	
	$E_Y/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s})$	$k_Y/((\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	$R^2$	$k_Y/((\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	$R^2$
31.6	0.089	0.63	0.416	509.27	0.952
63.3	0.218	3.37	0.961	205.57	0.822
126.6	0.357	2.35	0.944	19.38	0.970
253.2	0.407	0.56	0.889	9.12	0.907
379.7	0.451	0.49	0.882	5.00	0.975

高锰酸钾在氧化过程中会产生不溶于水的还原产物二氧化锰,其对水中有机物的吸附作用可能会促进絮体的成长,形成以二氧化锰为核心的密实絮体,故高锰酸钾投加量越高,藻液的絮凝效果越强.试验中可以观察到投加氧化剂浓度越高,形成的絮体越明显,絮体的生长一定程度上阻碍了氧化剂对藻细胞的氧化效果,导致高浓度高锰酸钾的暴露值临界点  $E_Y$  后移(见表 2).

同时,当  $E \geq E_Y$  时,高锰酸钾浓度由  $31.6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  增至  $379.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,活性降低速率常数  $k_Y$  从  $509.27 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  降至  $5.00 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ .这也是由于高锰酸钾投加量越高絮凝效果越强,造成氧化剂无法有效作用于絮体内部藻细胞,从而引起  $k_Y$  随氧化剂浓度的增加而降低的现象.同时,高浓度高锰酸钾可能引发出水色度超标,需综合考虑氧化剂投加量、藻细胞灭活效果以及出水色度的问题.

### 2.2.2 高锰酸钾对胞内 MC-LR 释放的动力学分析

通过液相双质谱联用仪测得胞外初始 MC-LR 的质量浓度约为  $28 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,胞外及胞内总初始 MC-LR 的质量浓度约为  $290 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,即胞内初始 MC-LR 的质量浓度约为  $262 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ .研究胞内 MC-LR 的释放规律,发现随着高锰酸钾暴露剂量的

增加,胞内 MC-LR 的浓度变化情况与藻细胞活性类似.其反应同样符合二级动力学,动力学方程可以表达为

$$-\frac{dc_{\text{MC-LR}}}{dt} = k_r c_{\text{MC-LR}} c(\text{KMnO}_4) \quad (7)$$

$$\frac{c_{\text{MC-LR},E}}{c_{\text{MC-LR},0}} = e^{-k_r E} \quad (8)$$

$$k_r = \frac{-\ln(c_{\text{MC-LR},E}/c_{\text{MC-LR},0})}{E} \quad (9)$$

式中: $k_r$  为胞内 MC-LR 释放速率常数.反应动力学拟合结果见图 5 及表 3.

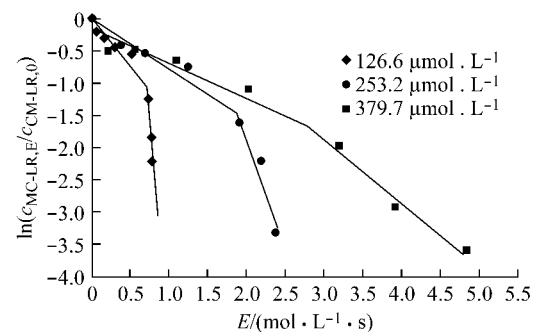
图 5 不同高锰酸钾投加量下高锰酸钾暴露剂量  $E$  对胞内 MC-LR 释放的影响

Fig.5 Effect of potassium permanganate exposures on releasing of intracellular MC-LR with different permanganate dosages

表 3 高锰酸钾暴露剂量  $E$  对胞内 MC-LR 影响的动力学模型拟合参数

Tab.3 Fitting parameters of kinetics model on releasing of MC-LR under different potassium permanganate exposures

$c(\text{KMnO}_4)/$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$E < E_r$			$E \geq E_r$	
	$E_r/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s})$	$k_r/((\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	$R^2$	$k_r/((\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	$R^2$
126.6	0.709	1.45	0.899	14.45	0.855
253.2	1.870	0.76	0.936	3.25	0.907
379.7	2.788	0.55	0.949	0.96	0.981

对于低浓度的高锰酸钾( $12.6, 31.6, 63.3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),胞内 MC-LR 释放不完全,分别由  $262 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  左右降低并稳定至  $195, 176, 98 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  左右.这是因为高锰酸钾在  $120 \sim 180 \text{ min}$  时已经基本消

耗完全(图 3),无法进一步溶解藻细胞.

高浓度高锰酸钾( $126.6, 253.2, 379.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )下,胞内 MC-LR 释放速率在  $E = E_r$  处发生突变,即  $E < E_r$  时,藻细胞未发生明显破裂,胞内

MC-LR 因为氧化剂的刺激诱导微量释放,  $E \geq E_r$  时藻细胞明显破裂甚至溶解, 胞内 MC-LR 开始大量释放, 胞内 MC-LR 分别于 480, 294, 210 min 左右释放完全. 同样, 由于高浓度高锰酸钾的助凝作用,  $E_r$  随氧化剂投加量的增加由  $0.709 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}$  增加至  $2.788 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}$ , 细胞明显破裂后的 MC-LR 释放速率常数  $k_r$  由  $14.45 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  降至  $0.96 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (见表 3).

比较  $k_Y$  与  $k_r$  发现, 它们随氧化剂投加量的增加同步降低, 说明藻活性的丧失与胞内 MC-LR 的释放呈正相关性. 不同浓度高锰酸钾下均有  $k_Y \geq k_r$ , 即氧化剂对藻的灭活速率高于胞内 MC-LR 释放速率. 比较  $E_r$  与  $E_Y$  发现, 不同氧化剂投加量下均有  $E_r \geq E_Y$ , 即胞内 MC-LR 的释放滞后于藻活性的下降, 可以判断藻细胞的灭活与 MC-LR 释放分为两个阶段: 第一阶段氧化剂暴露值达到  $E_Y$ , 高锰酸钾直接与细胞壁反应, 藻细胞开始破裂, 藻的生命体征基本丧失; 第二阶段氧化剂暴露值达到  $E_r$ , 藻细胞发生明显破裂甚至溶解, 导致胞内 MC-LR 大量释放.

另外, 试验发现当高锰酸钾投加量较高 (即  $126.6, 253.2$  和  $379.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 时, IOM 释放明显, 但胞外 MC-LR 质量浓度一直维持在很低水平 ( $<5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 是因为 MC-LR 的氧化降解速率远大于释放速率 (详见表 1 和表 3), 即胞内 MC-LR 一旦释放到细胞外的溶液中即能迅速被高锰酸钾氧化.

虽然高锰酸钾预氧化能使胞外 MC-LR 维持在较低水平, 但藻细胞明显破裂后会伴随有其他 IOM 的释放, 这些有机物会提高后续水处理负荷及消毒副产物生成风险等, 故需根据实际需要, 控制高锰酸钾暴露剂量在  $E_Y$  与  $E_r$  之间, 即有效灭活藻细胞、控制胞外 MC-LR 浓度的同时, 最大程度抑制 IOM 的释放, 节约氧化剂投加量, 降低出水色度风险, 保障高藻水水源饮用水安全.

### 2.3 EEM 分析铜绿微囊藻 IOM 和 EOM 释放及转化规律

使用 EEM 分析铜绿微囊藻 IOM, EOM 的特征荧光峰一般有 3 个, 分别是激发波长与发射波长比  $E_x/E_m$  为 280/335 的类蛋白质峰 A,  $E_x/E_m$  为 360/450 和 280/450 的 2 个类腐殖质峰 B 和 C<sup>[13-14]</sup>, 见图 6.

图 7 为不同高锰酸钾浓度及反应时间下 EOM 的 3 维荧光图, 发现当高锰酸钾浓度为  $12.6 \mu\text{mol} \cdot$

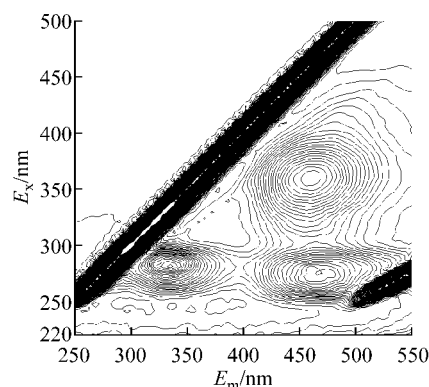


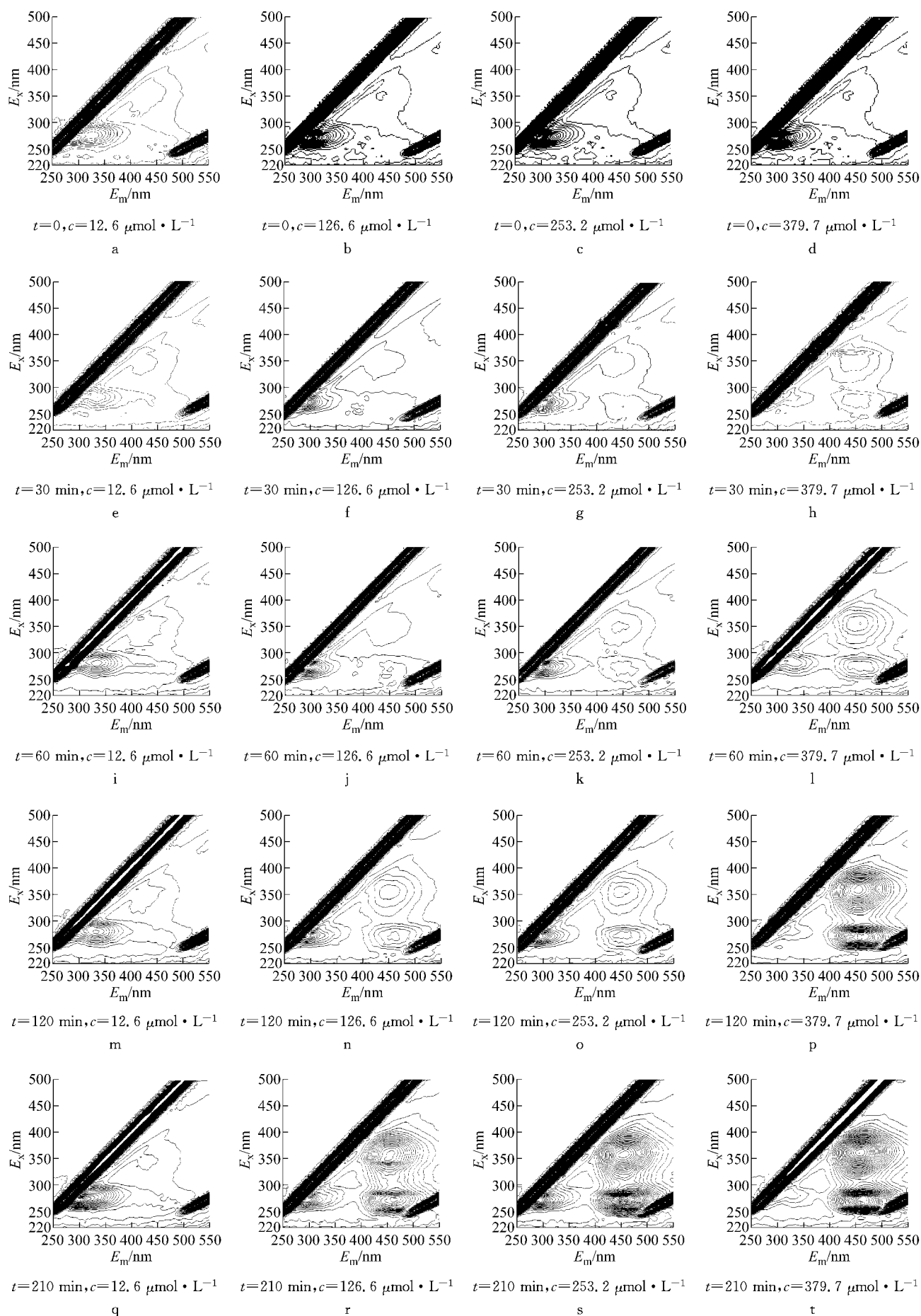
图 6 IOM, EOM 的 3 个特征荧光峰

Fig. 6 EEM characteristic peaks of IOM and EOM

$\text{L}^{-1}$  时, 经 280 min 氧化, EOM 荧光光谱无明显改变. 而当高锰酸钾投加量浓度逐步升高时, EOM 光谱变化明显, 主要是类腐殖质峰 B 与 C 的增加. 高锰酸钾浓度较低时, 因其与 EOM 发生反应而被迅速消耗, 故对 EOM 荧光特性无明显影响. 浓度较高时, 藻细胞壁氧化破裂从而导致 IOM 的释放, 浓度越高, 作用越明显, 类腐殖质峰 B 与 C 也出现越早. 故 B, C 峰的出现表示细胞壁开始破裂, B, C 峰的显著增加代表 IOM 的大量释放, 可以由此判断氧化剂穿透细胞壁以及藻细胞明显破裂的时间. 2.2 中推断出藻细胞在  $126.6, 253.2, 379.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  高锰酸钾下分别暴露  $0.357, 0.407, 0.451 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}$  时细胞壁开始破裂, 暴露  $0.709, 1.870, 2.788 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}$  后藻细胞发生明显破裂, 反算不同浓度下藻细胞破裂的时间可得 3 个投加量下细胞壁被穿透的暴露时间分别约为 80, 40, 30 min, 细胞发生明显破裂的时间分别约为 210, 200, 140 min.

由图 7 可知, 高锰酸钾浓度为  $126.6, 253.2, 379.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 反应 60~120, 30~60, 30 min 时, B, C 峰开始出现, 反应 210, 210, 120 min 后 B, C 峰显著增加. 这些现象均与之前计算所得的氧化剂穿透细胞壁、藻细胞明显破裂时间相同, 再次验证 2.2 的结论, 即藻液在高锰酸钾下暴露  $E_Y$  后氧化剂穿透细胞壁, 藻细胞活性迅速丧失, 当暴露值增加至  $E_r$  时藻细胞发生明显破裂甚至消融, 胞内 MC-LR 大量释放.

本试验研究考察了不同高锰酸钾投加量、氧化时间对铜绿微囊藻活性、藻毒素 MC-LR 释放的影响. pH 值、天然水体背景成分和实际水体背景对铜绿微囊藻及 MC-LR 氧化的影响以及反应产物分析等有待进一步研究.



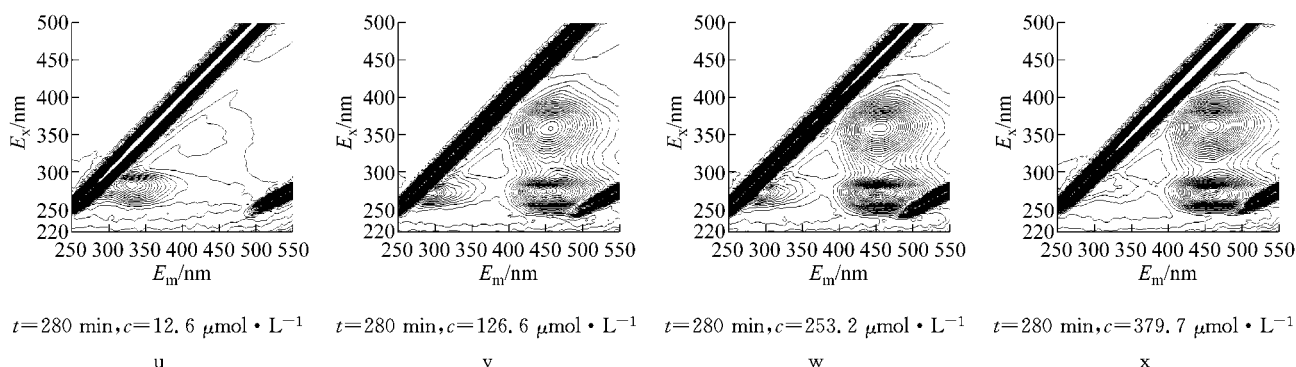


图 7 不同高锰酸钾浓度及反应时间下 EOM 的 3 维荧光图

Fig. 7 EEM properties of EOM under different potassium permanganate exposures

### 3 结论

(1) EOM 和 IOM 背景下高锰酸钾氧化 MC-LR, 降解速率常数分别为  $368.3 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  和  $400.2 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , 远大于其他有机物, 即 MC-LR 易被高锰酸钾氧化, 背景 AOM 对其降解无明显竞争作用。

(2) 高锰酸钾氧化铜绿微囊藻过程中存在两个氧化剂暴露剂量临界值  $E_Y$  及  $E_r$ 。暴露剂量未达到  $E_Y$  时, 高锰酸钾主要与藻细胞表面分泌物发生反应, 氧化剂未直接作用于细胞壁, 此时高锰酸钾剩余浓度呈指数下降趋势, 藻活性下降缓慢, 胞内 MC-LR 微量释放。暴露剂量在  $E_Y$  及  $E_r$  之间时, 高锰酸钾穿透细胞壁, 藻活性迅速丧失, 藻活性下降速率常数在临界点  $E_Y$  前后由  $0.49 \sim 2.35 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  突变至  $5.00 \sim 19.38 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , 但胞内 MC-LR 尚未开始大量释放。暴露剂量达到  $E_r$  后, 藻细胞发生明显破裂甚至消融, 胞内 MC-LR 及其他 IOM 开始大量释放, MC-LR 释放速率常数在临界点  $E_r$  前后由  $0.55 \sim 1.45 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  突变至  $0.96 \sim 14.45 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , 高锰酸钾消耗速度加快。EEM 的研究结果与藻细胞活性及胞内 MC-LR 释放规律一致。

(3) 高锰酸钾氧化过程中会产生不溶于水的还原产物二氧化锰, 其对水中有机物的吸附作用会促进絮体的成长, 形成以二氧化锰为核心的密实絮体, 致使氧化剂投加量较高时藻液产生大量絮体, 降低了高锰酸钾对藻细胞的氧化效果, 导致高浓度氧化剂暴露临界值后移以及  $k_Y$  及  $k_r$  降低的现象。

(4) 胞内 MC-LR 的释放速率远小于 MC-LR 的氧化降解速率, 即胞内 MC-LR 一旦释放到胞外便能

被高锰酸钾迅速氧化, 致使整个氧化过程中胞外 MC-LR 一直维持在很低的水平。然而, 藻细胞明显破裂后伴随有其他 IOM 的释放, 这些有机物会提高后续水处理负荷及消毒副产物风险等, 故需根据实际需要, 控制高锰酸钾暴露剂量在  $E_Y$  及  $E_r$  之间, 即灭活藻细胞、控制胞外 MC-LR 浓度的同时, 最大程度抑制 IOM 的释放, 保障高藻水水源饮用水安全。

### 参考文献:

- [1] 黎雷, 高乃云, 殷娣娣, 等. 控制饮用水原水中藻类、藻毒素的水厂处理工艺 [J]. 中国给水排水, 2008, 24(6): 20.  
LI Lei, GAO Naiyun, YIN Didi, et al. Treatment processes in waterworks for removal of algae and algal toxins from raw water [J]. China Water & Wastewater, 2008, 24(6): 20.
- [2] Li L, Gao N Y, Deng Y, et al. Characterization of intracellular & extracellular algae organic matters (AOM) of microcystic aeruginosa and formation of AOM-associated disinfection byproducts and odor & taste compounds [J]. Water Research, 2012, 46(4): 1233.
- [3] Li L, Gao N Y, Deng Y, et al. Experimental and model comparisons of  $\text{H}_2\text{O}_2$  assisted UV photodegradation of Microcystin-LR in simulated drinking water [J]. Journal of Zhejiang University: Science A, 2009, 10(11): 1660.
- [4] 张可佳, 高乃云, 黎雷. 高锰酸钾氧化嗅味物质  $\beta$ -环柠檬醛的动力学 [J]. 中南大学学报: 自然科学版, 2011, 42(4): 1161.  
ZHANG Kejia, GAO Naiyun, LI Lei. Kinetics of oxidation of odorant beta-cyclocitral by potassium permanganate [J]. Journal of Central South University of Science and Technology, 2011, 42(4): 1161.
- [5] Gupta N, Pant S C, Vijayaraghavan R, et al. Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice [J]. Toxicology, 2003, 188(2/3): 285.
- [6] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 5749—2006 生活饮用水卫生标准 [S]. 中国: 中国标准出版社, 2006.  
Ministry of Health of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of



- China. GB5749-2006 Sanitary standard for drinking water quality [S]. China: China Zhijian Publishing House, 2006.
- [7] Lawton L A, Robertson P K J. Physico-chemical treatment methods for the removal of microcystins (cyanobacterial hepatotoxins) from potable waters [J]. Chemical Society Reviews, 1999, 28(4): 217.
- [8] Daly R I, Ho L, Brookes J D. Effect of chlorination on *Microcystis aeruginosa* cell integrity and subsequent microcystin release and degradation [J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(12): 4447.
- [9] Rodriguez E, Majado M E, Meriluoto J, et al. Oxidation of microcystins by permanganate: reaction kinetics and implications for water treatment [J]. Water Research, 2007, 41(1): 102.
- [10] He D, Guan X H, Ma J, et al. Influence of different nominal molecular weight fractions of humic acids on phenol oxidation by permanganate [J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(21): 8332.
- [11] Yan Y E, Schwartz F W. Oxidative degradation and kinetics of chlorinated ethylenes by potassium permanganate [J]. Journal of Contaminant Hydrology, 1999, 37(3/4): 343.
- [12] Waldemer R H, Tratnyek P G. Kinetics of contaminant degradation by permanganate [J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(3): 1055.
- [13] 欧桦瑟, 高乃云, 郭建伟, 等. 氯化法和 UVC 灭活铜绿微囊藻的机理 [J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2011, 39(6): 100.
- OU Huase, GAO Naiyun, GUO Jianwei, et al. Inactivation mechanism of microcystis *aeruginosa* by chlorination and UVC irradiation [J]. Journal of South China University of Technology: Natural Science Edition, 2011, 39(6): 100.
- [14] 王昊, 高乃云, 欧桦瑟, 等. 三维荧光分析 O<sub>3</sub> 和 UV-C 处理铜绿微囊藻过程 [J]. 中南大学学报: 自然科学版, 2012, 43(2): 763.
- WANG Hao, GAO Naiyun, OU Huase, et al. 3-D fluorescence spectroscopy studies on degradation of microcystic *aeruginosa* by O<sub>3</sub> and UV-C irradiation [J]. Journal of Central South University of Science and Technology, 2012, 43(2): 763.

~~~~~

(上接第 706 页)

- [7] Witczak M W. Effective temperature analysis for permanent deformation of asphaltic mixtures. SHRP A-401 MIDAS study [R]. Washington D C: Strategic Highway Research Program of National Research Council, 1992.
- [8] SHRP. The superpave mix design manual for new construction and overlays [R]. Washington D C: Strategic Highway Research Program of National Research Council, 1994.
- [9] Shell International Ltd. Shell pavement design manual: asphalt pavements and overlays for road traffic [R]. London: Shell International Ltd., 1981.
- [10] 邹晓翎, 谈至明. 基于多指标的沥青路面结构设计方法研究: 路面温度场研究 [R]. 上海: 同济大学交通运输工程学院, 2011.
- ZOU Xiaoling, TAN Zhiming. Report of "Study on structural design procedure of asphalt pavements": research on pavement temperature field [R]. Shanghai: College of Transportation Engineering of Tongji University, 2011.
- [11] 吁新华. 沥青路面等效温度研究 [D]. 上海: 同济大学, 2011.
- YU Xinhua. Study on equivalent temperatures of asphalt pavement [D]. Shanghai: Tongji University, 2011.
- [12] Lukanen E O, Stubstad R, Briggs R C. Temperature predictions and adjustment factors for asphalt pavements. Washington D C: The Federal Highway Administration, 2000.
- [13] 施杨. 沥青路面车辙等效温度的研究 [D]. 上海: 同济大学, 2010.
- SHI Yang. Research on effective temperature of asphalt pavement rut [D]. Shanghai: Tongji University, 2010.
- [14] 谈至明, 姚祖康. 层状结构顶面当量模量的近似计算 [J]. 公路, 2003(8): 5.
- TAN Zhiming, YAO Zukang. Approximate calculation of equivalent modulus for the top of layer structure [J]. Highway, 2003(8): 5.
- [15] 谈至明, 吁新华. 沥青面层的疲劳等效温度 [J]. 同济大学学报: 自然科学版, 2013, 41(2): 197.
- TAN Zhiming, YU Xinhua. Fatigue equivalent temperature for asphalt pavements [J]. Journal of Tongji University: Natural Science, 2013, 41(2): 197.