



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202211019 中图分类号 X703 文献标识码 A

杨垒, 郭淋凯, 任勇翔, 等. 活性污泥对硒化镉量子点暴露的胁迫响应机制[J]. 环境工程学报, 2023, 17(5): 1641-1650. [YANG Lei, GUO Linkai, REN Yongxiang, et al. The stress response mechanisms of activated sludge exposed to CdSe quantum dots[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2023, 17(5): 1641-1650.]

活性污泥对硒化镉量子点暴露的胁迫响应机制

杨垒^{1,2}, 郭淋凯^{1,2}, 任勇翔^{1,2,✉}, 崔坤^{1,2}, 李晓彤^{1,2}, 路颖琪^{1,2}, 王宇超¹

1. 西安建筑科技大学陕西省环境工程重点实验室, 西安 710055; 2. 西安建筑科技大学, 西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 西安 710055

摘要 为揭示硒化镉(CdSe)量子点(quantum dots, QDs)在复杂环境体系中的生物毒性效应, 本研究以活性污泥为研究对象, 探讨了CdSe QDs(0.1~10 mg·L⁻¹)长期暴露对序批式活性污泥反应器运行效能、污泥性能以及微生物代谢作用的影响。结果表明, 在实验质量浓度范围内, 出水COD值和硝酸盐波动较大, 而硝化作用影响较小, 且低剂量CdSe QDs的存在加速了NH₄⁺-N的降解, 1 mg·L⁻¹ CdSe QDs将平均氨氧化速率由2.2 mg·(L·h)⁻¹提高到3.3 mg·(L·h)⁻¹。尽管CdSe QDs会引起出水浊度略微增加, 但污泥沉降性能始终维持稳定。CdSe QDs主要与污泥表面的C—O—C、C—O、C—C和磷酸基团结合, 诱导胞外聚合物的酪氨酸类蛋白荧光淬灭。同时, 微生物会通过分泌色氨酸类蛋白以缓解胁迫影响。此外, 活性污泥的物种丰富度和多样性均受CdSe QDs的抑制, 但低质量浓度CdSe QDs有利于*Nitrospirae*相对丰度的增加。PICRUSt2预测显示, 微生物的新陈代谢和遗传信息处理相关的代谢通路均受到CdSe QDs的显著抑制, 膜传输和信号传导的代谢通路丰度最终分别下降至32 552和7 876, 导致反应器出水COD值随暴露剂量的增加而逐渐增大。因此, CdSe QDs通过改变微生物群落结构和功能影响活性污泥有机物的去除效果, 但对硝化反应及污泥絮凝和沉淀性能并未表现出明显负面效果。

关键词 硒化镉量子点; 活性污泥; 生物硝化; 胞外聚合物; 微生物群落

近年来, 镉系量子点(quantum dots, QDs)因其优异的光响应性、带隙可调控和充足且较高的导带能位而被用于制造光催化剂、存储设备、显示器、发光二极管和化学传感器^[1-2]。而镉系QDs的大规模商业应用大大增加了其释放到环境中的暴露风险, 进而增大其进入污水处理厂的概率以及富集质量浓度。镉系QDs也将随排水泄露到自然环境, 最终危害微生物, 藻类和动植物^[3-4]。污水处理厂作为防止镉系QDs进入自然环境的关键一环, 明确其长期暴露对污水处理过程的影响至关重要。

活性污泥系统是污水处理厂实现污水净化的核心环节^[5], 大量研究发现, 纳米颗粒(TiO₂, ZnO, 聚苯乙烯等)进入活性污泥后会通过物理化学吸附等作用从水相转移至污泥中富集^[6-8], 进而影响污泥絮凝体的结构和功能, 造成出水水质恶化^[9-11]。当纳米颗粒与微生物长期接触, 微生物群落结构和代谢功能也将做出相应响应^[12]。对于粒径更小(2~10 nm)、更易进入细胞的含镉量子点(CdSe、CdTe/CdS、CdSe/ZnS)^[13], 其在污泥内富集的环境风险可能更为突出。目前, 尽管研究人员已经在关注镉系QDs的生物毒性研究, 但目标生物(细胞、细菌、斑马鱼和少数藻类)和实验条件

收稿日期: 2022-11-02; 录用日期: 2023-04-11

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2022JM-217); 陕西省教育厅专项科研项目(21JK0716)

第一作者: 杨垒(1988—), 男, 博士研究生, 副教授, yangleixauat@126.com; ✉通信作者: 任勇翔(1968—), 男, 博士研究生, 教授, ryx@xauat.edu.cn

较为单一^[14-15],其在复杂系统中的毒理效应尚不明确,镉系 QDs 对污水处理厂处理效能的影响和作用机制仍未可知。因此,有必要明确镉系 QDs 对污水处理厂出水水质、污泥絮体物化特性以及微生物群落结构的影响,从而为 QDs 的安全应用和排放提供理论依据。

本研究通过评估污水处理效果、污泥絮凝沉淀性能、胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 物化特征,微生物群落结构及其代谢功能对 CdSe QDs 长期胁迫的响应,全面揭示 CdSe QDs 对活性污泥的毒性效应及其内在机制,将为 QDs 的环境行为研究及其暴露风险评估提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料的制备和表征

采用水相合成法制备水溶性的 CdSe QDs^[16]。将硼氢化钠 (NaBH_4) 和硒粉 (Se) 分散于除氧超纯水,得到硒化钠 (NaHSe) 溶液。将 $20\ \mu\text{L}$ 巯基乙酸溶于 $2\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $50\ \text{mL}$ 氯化镉 (CdCl_2) 后,用 $1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠 (NaOH) 溶液调节 pH 至 10,并用高纯氮气 (N_2 , 99.999%) 鼓泡 30 min。将制备得到的两种溶液于 $500\ \text{mL}$ 三颈烧瓶内混合,溶液在氮气环境下水浴加热 4 h,得到 CdSe QDs 溶液。经反复洗脱和冷冻干燥处理,最终制备得到 CdSe QDs 粉末。利用高分辨透射电子显微镜 (Tecnai G2 F20, 美国 FEI 公司) 和荧光分光光度计 (FP 6 500, 日本 JASCO 公司) 测定样品的表面形貌及其荧光特性。

1.2 活性污泥的驯化培养

本实验采用有效工作容积为 $5\ \text{L}$ 的序批式活性污泥反应器 (sequencing batch reactor, SBR)。反应器由进气管、曝气泵、流量计和排水管组成。接种污泥取自西安市第 4 污水厂曝气池,进水采用人工配制的模拟污水^[17],组分和质量浓度如下: $80\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸钠 ($\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$)、 $26.32\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、 $150\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖 ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)、 $150\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 蛋白胨、 $114.6\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化铵 (NH_4Cl)、 $444\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 碳酸氢钠 (NaHCO_3)、 $10.6\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钙 (CaCl_2)、 $180\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸镁 ($\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 以及 $0.38\ \text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ 微量元素溶液。运行周期包括:进水 $0.25\ \text{h}$,曝气 $10.5\ \text{h}$,沉淀 $1\ \text{h}$,排水 $0.25\ \text{h}$ 。污水排放比为 0.5,水力停留时间和污泥龄分别为 $24\ \text{h}$ 和 $30\ \text{d}$ 。培养过程溶解氧控制在 $4\sim 6\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,混合液悬浮固体质量浓度 (mixed liquid suspended solids, MLSS) 保持在 $3\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,通过投加 NaHCO_3 使 pH 维持在 $7\sim 8$ 的范围内。

1.3 CdSe QDs 长期暴露对活性污泥系统的影响

待污泥驯化完成后,反应器连续运行 $120\ \text{d}$,以前 $30\ \text{d}$ 无 CdSe QDs 添加阶段作为对照组。CdSe QDs 暴露条件连续运行 $90\ \text{d}$,运行期内每隔 $30\ \text{d}$ 增加进水 CdSe QDs 质量浓度,各阶段质量浓度分别为 0 、 0.1 、 1 和 $10\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。实验阶段每 $3\ \text{d}$ 测定 1 次出水水质和污泥沉降性能,每个阶段结束前对单个反应周期水质变化进行连续监测。在反应器运行的第 30 、 60 和 90 天提取污泥样品进行后续傅里叶红外光谱 (fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)、EPS 以及微生物种群结构和多样性分析。

1.4 分析方法

出水水质 (NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N、COD、 PO_4^{3-} -P)、MLSS 和污泥容积指数 (sludge volume index, SVI) 按照《水和废水监测分析方法》(第 4 版) 中的标准方法进行测定^[18]。出水浊度采用浊度仪 (Model 2 100 AN) 测定。利用傅里叶红外光谱仪 (IRPrestige-21, Shimadzu) 对活性污泥样品表面官能团进行定性分析,取污泥粉末样品与干燥的溴化钾粉末混合均匀,在压片机上压制成片测试,扫描范围 $4\ 000\sim 500\ \text{cm}^{-1}$,分辨率 $0.8\ \text{cm}^{-1}$,扫描速度 $2.5\ \text{kHz}$ 。EPS 提取采用修改的热提法^[19],具体步骤如下:将 $30\ \text{mL}$ 泥水混合液离心 $10\ \text{min}$ ($4\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),去掉上清液后加入 0.05% NaCl 至

30 mL, 重复上述步骤3次, 然后将混合液水浴加热处理30 min (60 °C), 经离心和0.45 μm醋酸纤维素膜过滤后得到的上清液即为EPS。通过荧光分光光度计 (FP 6 500, JASCO) 测定其三维荧光光谱 (three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence, 3DEEM), 并通过光谱不同区域积分对EPS进行区域荧光积分 (fluorescence regional integration, FRI) 分析。污泥DNA采用E.Z.N.A.®Tissue DNA Kit (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA) 试剂盒提取, DNA的质量检测、扩增、纯化和测序委托上海生工生物工程技术有限公司完成。选取引物338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')扩增16S rRNA基因V3-V4区, 通过Illumina Miseq高通量测序平台测定微生物16S rRNA基因, 采用QIIME(1.8.0)软件进行数据分析。利用PICRUST2软件进一步对16S rRNA高通量测序数据进行功能预测, 基于KEGG数据库, 得到微生物代谢途径及其预测丰度。该项目数据已上传至SRA数据库, 项目号为PRJNA941489。

2 结果与讨论

2.1 SBR运行效能对CdSe QDs的胁迫响应

本研究制备的CdSe QDs的平均粒径为(2.54±0.7) nm (图1(a, b))并且其最大发射波长为521 nm (图1(c))。将不同质量浓度CdSe QDs投加到SBR中, 其对反应器运行性能的影响如图2(a)所示。在CdSe QDs连续暴露90 d实验期间, 反应器硝化作用相较于对照组几乎不受影响。NH₄⁺-N去除率高达99%, 几乎无NO₂⁻-N积累, NO₃⁻-N质量浓度稳定在35 mg·L⁻¹左右, 表明硝化作用对CdSe QDs并不敏感。而石墨纳米颗粒却能通过抑制氨氧化细菌(*Nitrosomonas*)活性, 进而影响NH₄⁺-N的去除^[20]。对比SBR运行期间的出水COD值, 对照组出水COD值稳定在106 mg·L⁻¹, 而0.1 mg·L⁻¹ CdSe QDs实验组可显著降低反应器中耗氧有机污染物的含量, 出水COD值由127.1 mg·L⁻¹降低至71.7 mg·L⁻¹。这可能归因于微生物的毒性兴奋效应^[21], 微生物对耗氧有机污染物的降解量增加。然而, 随着CdSe QDs暴露剂量的进一步增加, 出水COD值整体呈现出上升趋势, 最终达到124.7 mg·L⁻¹。该现象表明过量的CdSe QDs会抑制活性污泥微生物对有机物的降解能力。

SBR单个反应周期的水质监测结果如图2(b)所示。CdSe QDs的存在加速了NH₄⁺-N的降解, 在1 mg·L⁻¹ CdSe QDs胁迫下氨氧化速率由2.2 mg·(L·h)⁻¹增大到3.3 mg·(L·h)⁻¹。同时, 添加CdSe QDs能够有效降低NO₂⁻-N的累积质量浓度, 在不同暴露剂量条件下NO₂⁻-N几乎均未有积累。此外, 反应过程NO₃⁻-N生成速率也随CdSe QDs质量浓度的增加而增加。以上结果表明, CdSe QDs对硝化过程有明显的促进作用。通常, 氧化反应消耗电子, 而电子传递对参与硝化作用的酶活性有显著影响^[22], 利于电子转移的外源物质可以提高酶的活性^[23]。因此, 推测CdSe QDs对硝化作用的促进可能归因于其作为电子载体可加速电子传递过程。

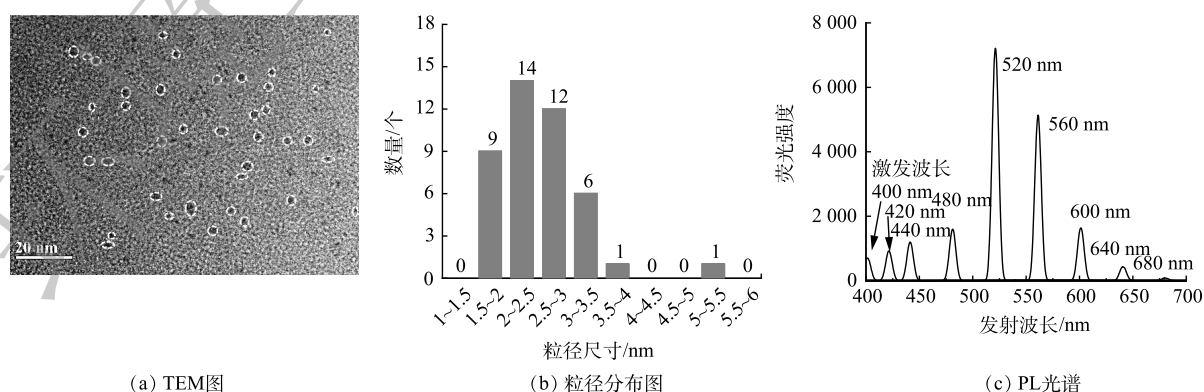


图1 CdSe QDs的表面形貌、粒径分布以及荧光光谱图。

Fig. 1 TEM images, particle size distributions and PL spectra of CdSe QDs

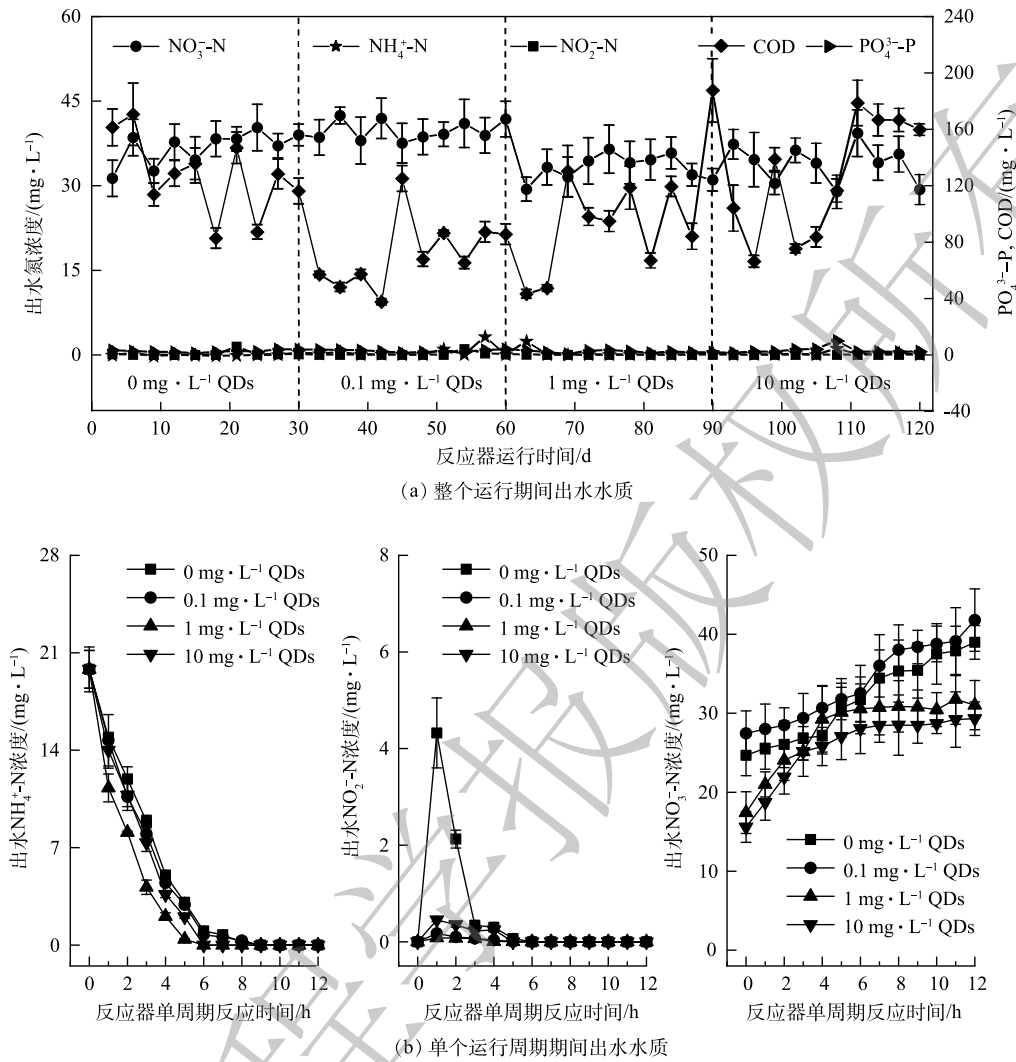


图2 SBR 整个运行期间和单个运行周期期间的出水水质变化

Fig. 2 Variations of effluent water quality during the whole operation and a single cycle in SBR

2.2 CdSe QDs 对污泥物化特性的影响

1) 污泥絮凝性能对 CdSe QDs 的胁迫响应。CdSe QDs 对污泥絮凝沉降性能的影响如图 3 所示。受不同质量浓度 CdSe QDs (0、0.1、1 和 10 mg·L⁻¹) 胁迫，活性污泥的 SVI 分别稳定在 36.8、33.6、31.2 和 31.2 mL·g⁻¹ 左右。显然，CdSe QDs 的存在不仅提高了污泥的沉降能力，而且使得污泥的 SVI 水平更为稳定。这可能是由于 CdSe QDs 粒径 (2.54 nm) 较小，极易通过污泥絮体网捕和物理化学吸附作用从水相转移至污泥中，增加污泥比重，提升污泥沉降能力^[6-8]。该结论与纳米磁粉能够有效提升污泥沉降性能的结论一致^[24]。此外，暴露于 CdSe QDs 条件的出水浊度稳定在 2.92 NTU，高于对照组的平均浊度 (1.51 NTU)。该现象可能是由于

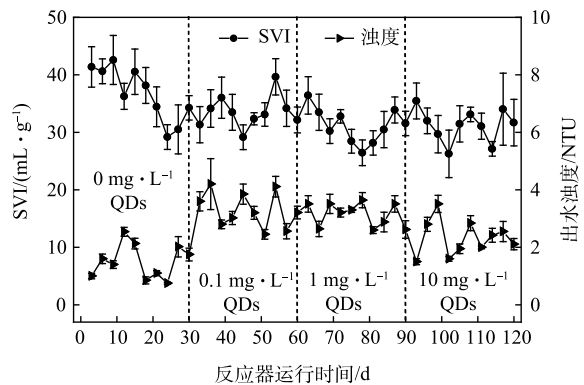


图3 反应器运行期间的沉降性能和出水浊度的变化
Fig. 3 Variations of SVI and effluent turbidity during operation in SBR

CdSe QDs 在污泥表面大量聚集, 影响了污泥对水中营养物质的吸收, 以及由于自身生物毒性干扰了微生物代谢, 导致污泥絮凝性能下降, 出水浑浊。

2) 胞外聚合物对 CdSe QDs 的胁迫响应。不同剂量 CdSe QDs 暴露条件下 EPS 的 3D-EEM 图谱类似 (图 4), 主要组分包括色氨酸类蛋白 (峰 B, Ex/Em=280~290 nm/330~365 nm), 酪氨酸类蛋白 (峰 A, Ex/Em=225~235 nm/300~350 nm) 和腐殖酸类物质 (峰 C, Ex/Em=340~370 nm/440~460 nm)。无 CdSe QDs 暴露条件下 EPS 中峰 A 和 B 的荧光强度分别为 1 517 和 2 515。随着 CdSe QDs 累积质量浓度的增大, 酪氨酸类蛋白物质的荧光峰强度逐渐下降。在 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CdSe QDs 胁迫下, 峰 A 几乎消失。该现象可能是因为酪氨酸类蛋白与 CdSe QDs 作用强烈, 诱导发生荧光淬灭^[25]。此外, CdSe QDs 的存在会显著增加 EPS 中色氨酸类蛋白的含量, 峰 B 的荧光强度也从 2 515 增至 3 969。有研究表明, PN 能够加速微生物聚集, 减少与 QDs 的接触面积, 从而缓解纳米毒性。ZHANG 等^[26]发现 *Thalassiosira Pseudonana* 可以通过分泌大量 PN 缓解 CdSe/ZnS QDs 的毒性胁迫。因此, 推测色氨酸类蛋白是污泥微生物缓解 CdSe QDs 刺激的主要作用物质。再者, 随着 CdSe QDs 暴露质量浓度的增加, 腐殖酸类物质的含量逐渐增加, 最终导致峰 C 的出现。

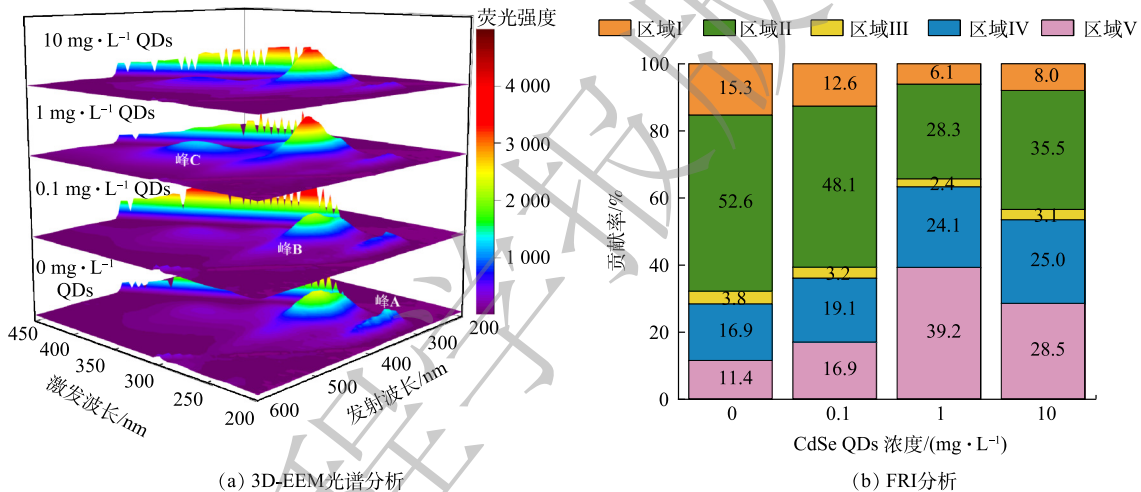


图 4 不同质量浓度 CdSe QDs 胁迫下的胞外聚合物的 3D-EEM 光谱和 FRI 分析。

Fig. 4 3D-EEM spectral analysis and FRI analysis of EPS exposed to different CdSe QDs concentrations

FRI 将三维荧光光谱构成的三维区域依照有机物的特性分为 5 个区域, 包括区域 I: 芳香蛋白类物质 A (类酪氨酸 Ex/Em: 220~250 nm/280~330 nm); 区域 II: 芳香蛋白类物质 B (类色氨酸 Ex/Em: 220~250 nm/330~380 nm); 区域 III: 类富里酸类物质 (Ex/Em: 220~250 nm/380~550 nm); 区域 IV: 微生物代谢产物 (Ex/Em: 250~400 nm/280~380 nm); 区域 V: 腐殖酸类物质 (Ex/Em: 250~400 nm/380~550 nm)^[27]。如图 4(b) 所示, 随着胁迫质量浓度增加, 区域 I 类酪氨酸物质的占比由 15.3% 下降到 8%, 该现象与酪氨酸蛋白所代表的峰 A 荧光强度下降结果一致。此外, 色氨酸类物质在 EPS 中的贡献率最高, 分别为 52.6%、48.1%、28.3% 和 35.5%。对于 EPS 中的富里酸类物质, 其含量几乎不受 CdSe QDs 的影响。相较于对照组, CdSe QDs 暴露下区域 IV 微生物代谢产物的占比均有所增加, 最终上升到 25%。此外, V 区代表的腐殖酸类物质含量的变化规律也与图 4(a) 中峰 C 荧光强度的变化规律一致, 在高质量浓度 CdSe QDs 暴露剂量条件大量累积。

3) 污泥 FTIR 分析。不同 CdSe QDs 胁迫质量浓度下活性污泥的红外光谱如图 5 所示。显然, 红外光谱吸收峰所在的位置基本相同, 说明 CdSe QDs 的胁迫只会影响活性污泥表面化学基团的数量, 而不会改变其化学组成。 $3\ 292 \text{ cm}^{-1}$ 处存在蛋白质和多糖 O—H 和 N—H 振动形成的宽峰^[28]。

2 930 cm^{-1} 处存在脂肪族 C—H 伸缩振动吸收^[28]。1 638 cm^{-1} 和 1 544 cm^{-1} 处为蛋白质酰胺类化合物 C=O、C—N 和 N—H 的伸缩振动^[29-30]。1 403 cm^{-1} 存在羧基中 C—O 和 C=O 的振动吸收^[30]。1 229 cm^{-1} 附近的吸收峰是蛋白质中酰胺 III 中 N—H、C—N 的伸缩振动峰^[30]。1 040 cm^{-1} 处出现的吸收峰被认为是多糖的 C—O—C、C—O 和 C—C 的对称收缩振动^[31]。小于 1 000 cm^{-1} 的吸收峰是磷酸基团的伸缩振动^[31]。

CdSe QDs 会与特定物质发生相互作用, 仅 0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 CdSe QDs 就能显著减弱各个化学基团的振幅。而 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的胁迫质量浓度对化学基团的影响差异并不明显。此外, 1 641 cm^{-1} (蛋白质的酰胺 I) 处峰值振动强度的降低进一步证明酪氨酸类蛋白含量的下降可能与脱酰胺作用有关^[32]。同时, 1 110 cm^{-1} 和 420~470 cm^{-1} 峰带的伸缩振动强度也随 CdSe QDs 剂量的增加呈现规律性的减弱, 推测 CdSe QDs 在活性污泥表面的主要结合位点是 C—O—C、C—O、C—C 和磷酸基团。

2.3 微生物种群结构和功能对 CdSe QDs 长期暴露的胁迫响应

1) 物种多样性和丰富度变化。为明确 CdSe QDs 对活性污泥微生物丰富度和多样性的影响, 本研究对不同运行阶段的污泥样本进行 Alpha 分析。表 1 结果显示, 文库的覆盖率均在 99% 以上, 代表大部分的样本序列都被测出, 并且测序结果能较好反映出活性污泥微生物的真实状况。本研究通过 Chao1 和 ACE 指数表征丰富度, 通过 Shannon 指数表征多样性。显然, 随着 CdSe QDs 质量浓度的增大, 测序分析得到的 OTUs 和序列数均骤减, 证明具有较强的 CdSe QDs 生物毒性。此外, Chao1、ACE 和 Shannon 指数均因 CdSe QDs 的投加而减小, 说明暴露于 CdSe QDs 活性污泥的物种丰富度和多样性均会降低。

2) 活性污泥种群结构的响应。不同 CdSe QDs 胁迫质量浓度下的活性污泥微生物群落门水平组成差异如图 6 所示。结果显示, 变形菌门 (*Proteobacteria*) 是最主要的优势菌群, 4 种胁迫质量浓度下相对丰度达到 65.4%、45.4%、38.8% 以及 47.5%。 *Proteobacteria* 广泛存在于活性污泥系统中, 该门下的菌属对脱氮除磷效果有重要影响^[33]。超级门 (*Patescibacteria*) 随着 CdSe QDs 暴露质量浓度的增大, 其群落占比逐渐增大, 分别为 14.4%、14%、27.3%

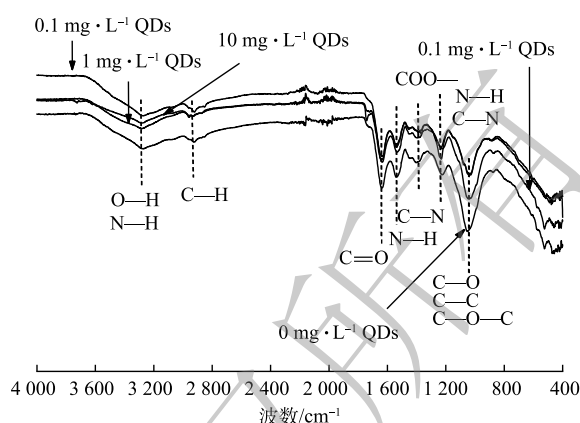


图 5 CdSe QDs 胁迫下活性污泥的傅里叶变换红外光谱
Fig. 5 FTIR spectra of activated sludge exposed to CdSe QDs

表 1 CdSe QDs 胁迫下活性污泥微生物群落多样性指数
Table 1 Alpha diversity indexes of activated sludge exposed to CdSe QDs

CdSe QDs 质量浓度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	序列数	OTUs	Shannon	Chao 1	ACE	覆盖率/%
0	65 288	1 720	7.07	1 720.0	1 739.5	99.9
0.1	43 101	881	7.46	882.1	951.3	99.7
1	40 025	805	6.74	805.9	881.3	99.7
10	32 356	700	6.69	701.1	801.7	99.6

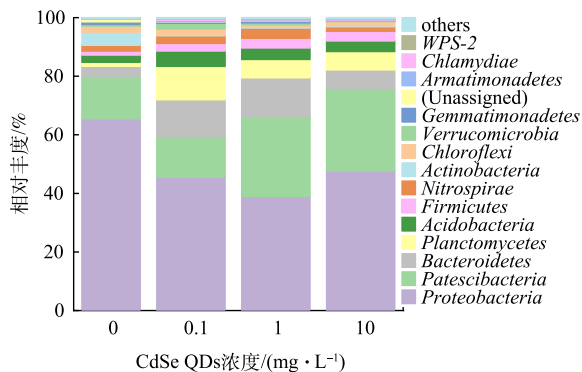


图 6 CdSe QDs 胁迫下微生物群落门水平组成分析
Fig. 6 Analysis of microbial compositions at phylum level under the stress of CdSe QDs

和 28.2%。此外，其他优势菌群还包括拟杆菌门 (*Bacteroidetes*: 3.6%、12.5%、13.3%、6.5%)、浮霉菌门 (*Planctomycetes*: 1.4%、11.4%、6.3%、6.3%)、放线菌门 (*Actinobacteria*: 2.4%、5.2%、3.9%、3.6%) 和厚壁菌门 (*Firmicute*: 1.4%、2.6%、3.4%、3.3%)。上述 6 类门微生物占总菌门的比例高达 95%。硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*) 在活性污泥中的含量较小，仅为 2%、2.6%、3.4%、1.5%。30 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CdSe QDs 对其丰度表现出一定的胁迫影响。

在属水平上微生物群落差异更为明显 (图 7)。暴露于 CdSe QDs 的活性污泥中，微生物优势菌主要包括中慢生根瘤菌属 (*Mesorhizobium*: 7.5%、1.1%、0.9%、2.9%)、下水道球菌属 (*Amaricoccus*: 6.5%、0.1%、0、0)、红杆菌属 (*Rhodobacter*: 2.4%、0.8%、0.8%、0.9%)、硝化螺旋菌属 (*Nitrospira*: 2%、2.6%、3.4%、1.5%)、古字状菌属 (*Runella*: 1.2%、4.5%、5.9%、1.3%) 和鞘氨醇盒菌属菌 (*Sphingopyxis*: 0.1%、0.9%、4.9%、6.3%) 等。显然，除了 *Runella* 和 *Sphingopyxis*，大部分微生物都受到 CdSe QDs 的抑制。*Sphingopyxis* 和 *Runella* 被认为具有较强的环境适应性^[34-35]，*Sphingopyxis* 能够生物转化重金属并能降解多种生物毒性物质^[34]，*Runella* 对 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 聚氯乙烯以及聚苯乙烯纳米颗粒也表现出较强抗性^[35]，两者在本研究中对 CdSe QDs 同样表现出较强的耐受性。此外，*Amaricoccus* 属于 *Proteobacteria*，与有机物降解有关^[36]。该菌属丰度的下降也解释了反应器出水 COD 值逐渐增大的现象。*Nitrospira* 属于 *Nitrospirae*，该菌属的微生物可参与亚硝酸盐的氧化^[37]。同样，10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CdSe QDs 对 *Nitrospira* 的抑制作用较为明显，这也解释了 SBR 运行后期 (90~120 d) 硝化速率减慢的现象。

3) 微生物代谢通路的响应。PICRUST 将暴露于 CdSe QDs 微生物的 16S rRNA 基因序列在 KEGG 数据库进行预测，最终得到微生物代谢通路的预测结果。如图 8 所示，活性污泥中微生物

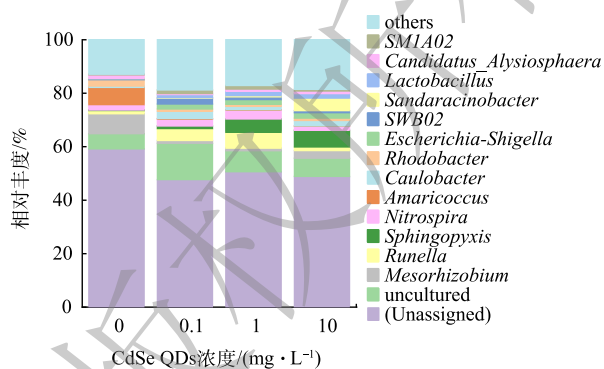


图 7 CdSe QDs 胁迫下微生物群落属水平组成分析
Fig. 7 Analysis of microbial compositions at genus level under the stress of CdSe QDs

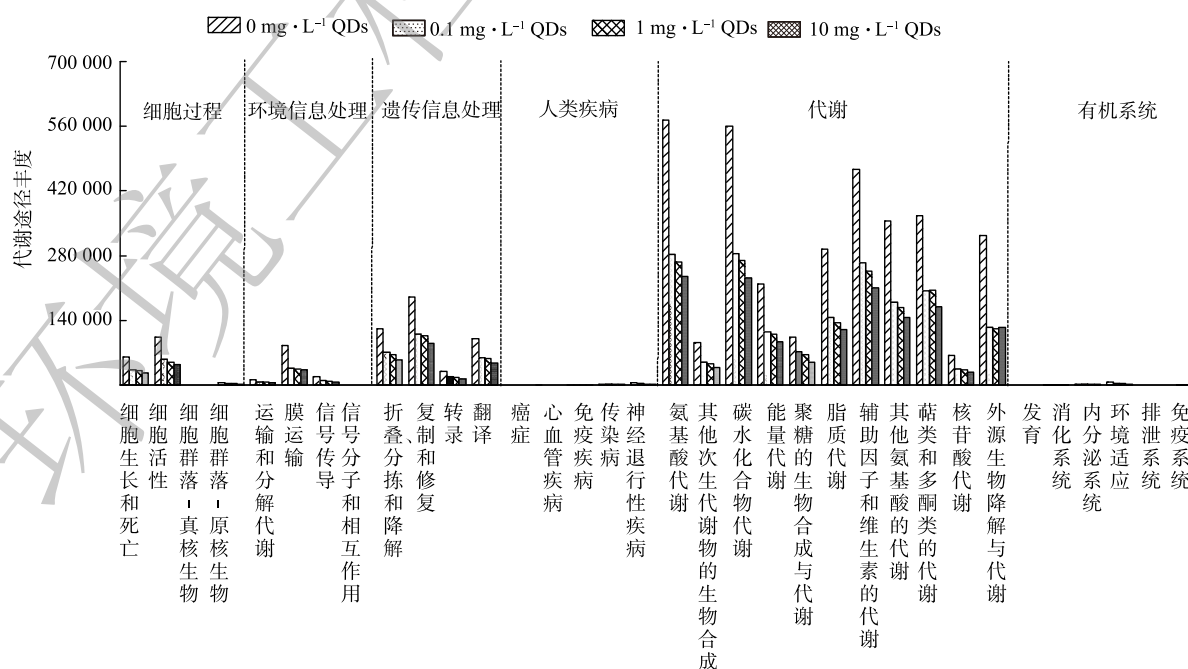


图 8 CdSe QDs 胁迫下基于 PICRIST2 预测的微生物代谢通路

Fig. 8 Gene metabolic pathway predicted with PICRIST2 under the stress of CdSe QDs

的1级功能层主要包括细胞过程、环境信息处理、遗传信息处理、人类疾病和新陈代谢。显然,基因代谢通路丰度最大的是新陈代谢,该功能区与微生物的生存和生长密切相关^[38]。CdSe QDs显著降低了该功能层下的11个子功能基因代谢丰度,而这些子功能直接决定污染物的去除效果,导致高质量浓度CdSe QDs条件微生物降解有机物能力变差。此外,环境信息处理功能层下的膜传输的丰度从85 944降至32 552,并伴随着信号传导丰度由18 563降至7 876。该现象可能归因于CdSe QDs进入细胞并造成细胞膜破裂^[39],最终影响活性污泥微生物之间的物质交流和信息传递。以上结果表明CdSe QDs长期暴露对微生物代谢功能的胁迫作用显著,进而影响活性污泥活性及其聚集性能。

3 结论

1) CdSe QDs的长期暴露对活性污泥系统运行效能影响较小,整个运行期间硝化运行效果稳定,且CdSe QDs的存在可加速 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的转化速率,但在高浓度胁迫条件下有机物降解和生物絮凝性能均受到一定程度的抑制作用。

2) 当CdSe QDs与活性污泥表面的吸附位点(C—O—C、C—O、C—C和磷酸基团)结合后,会导致蛋白质的酰胺基团减少,造成酪氨酸类蛋白荧光淬灭。同时, EPS中色氨酸类蛋白荧光强度大大增加。

3) CdSe QDs进入细胞后,会进一步干扰污泥微生物的代谢途径,包括氨基酸、碳水化合物、脂质及核苷酸的代谢。同时,与环境信息处理和遗传信息处理相关代谢也受到明显抑制,表明CdSe QDs长期暴露会引起细胞膜破裂并损伤DNA,降低微生物的活性及对有机污染物的去除能力。

参 考 文 献

- [1] CAI Q Q, WU D, LI H K, et al. Versatile photoelectrochemical and electrochemiluminescence biosensor based on 3D CdSe QDs-DNA nanonetwork-SnO₂ nanoflower coupled with DNA walker amplification for HIV detection[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 191: 113455.
- [2] ZHAO Z J, LIU Z L, ZHU Z X, et al. Ultrathin zinc selenide nanosheet-based intercalation hybrid coupled with CdSe quantum dots showing enhanced photocatalytic CO₂ reduction[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2021, 32(8): 2474-2478.
- [3] LIAN F, WANG C G, WANG C X, et al. Variety-dependent responses of rice plants with differential cadmium accumulating capacity to cadmium telluride quantum dots (CdTe QDs): Cadmium uptake, antioxidative enzyme activity, and gene expression[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 697: 134083.
- [4] YU Z, HAO R, ZHANG L, et al. Effects of TiO₂, SiO₂, Ag and CdTe/CdS quantum dots nanoparticles on toxicity of cadmium towards *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 156: 75-86.
- [5] LIU F, HU X M, ZHAO X, et al. Rapid nitrification process upgrade coupled with succession of the microbial community in a full-scale municipal wastewater treatment plant (WWTP)[J]. *Bioresour Technol*, 2018, 249: 1062-1065.
- [6] BRAR S K, VERMA M, TYAGI R D, et al. Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge-evidence and impacts[J]. *Waste Management*, 2010, 30(3): 504-520.
- [7] LI H X, XU S S, WANG S, et al. New insight into the effect of short-term exposure to polystyrene nanoparticles on activated sludge performance[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2020, 38:101559.
- [8] WEI L L, DING J, XUE M, et al. Adsorption mechanism of ZnO and CuO nanoparticles on two typical sludge EPS: Effect of nanoparticle diameter and fractional EPS polarity on binding[J]. *Chemosphere*, 2019, 214: 210-219.
- [9] 马娇, 曾天续, 宋珺, 等. 纳米单质铁对厌氧氨氧化脱氮性能的影响[J]. *中国环境科学*, 2022, 42(6): 2619-2627.
- [10] 王树涛, 李素萍, 王未青, 等. ZnO纳米颗粒对SBR活性污泥活性的影响[J]. *中国环境科学*, 2014, 34(10): 2575-2580.
- [11] 高静滢, 胡鹏, 蔡怡婷, 等. 纳米ZnO胁迫下SBBR污染物去除性能及微生物群落响应[J]. *中国环境科学*, 2022, 42(8): 1-8.
- [12] YANG Y, QUENSEN J, MATHIEU J, et al. Pyrosequencing reveals higher impact of silver nanoparticles than Ag⁺ on the microbial community structure of activated sludge[J]. *Water Research*, 2014, 48: 317-325.
- [13] HU L, ZHONG H, HE Z G. Toxicity evaluation of cadmium-containing quantum dots: A review of optimizing physicochemical properties to

- diminish toxicity[J]. *Colloids and Surfaces B:Biointerfaces*, 2021, 200: 111609.
- [14] LU T, ZHANG Q, ZHANG Z Y, et al. Pollutant toxicology with respect to microalgae and cyanobacteria[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2021, 99: 175-186.
- [15] ZHENG N Y, YAN J H, QIAN W, et al. Comparison of developmental toxicity of different surface modified CdSe/ZnS QDs in zebrafish embryos[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2021, 100: 240-249.
- [16] YANG Y, YUAN Z, LIU X P, et al. Electrochemical biosensor for Ni²⁺ detection based on a DNAzyme-CdSe nanocomposite[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 77: 13-18.
- [17] 曾湘梅, 李咏梅, 赵俊明. SBR工艺去除模拟城市污水中双酚A的研究[J]. *环境污染与防治*, 2008, 30(10): 23-27.
- [18] 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.
- [19] YIN C Q, MENG F G, CHEN G H. Spectroscopic characterization of extracellular polymeric substances from a mixed culture dominated by ammonia-oxidizing bacteria[J]. *Water Research*, 2015, 68: 740-749.
- [20] DONG Q, LIU Y C, SHI H C, et al. Effects of graphite nanoparticles on nitrification in an activated sludge system[J]. *Chemosphere*, 2017, 182: 231-237.
- [21] GUO L K, YANG L, Ren Y X, et al. The response and anti-stress mechanisms of nitrifying sludge under long-term exposure to CdSe quantum dots[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2024, 135: 174-184.
- [22] WANG C, LIU S Q, HOU J, et al. Effects of silver nanoparticles on coupled nitrification-denitrification in suspended sediments[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 389: 122130.
- [23] ZHANG H M, CAO J, TANG B P, et al. Effect of TiO₂ nanoparticles on the structure and activity of catalase[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2014, 219: 168-174.
- [24] 高丽英, 汤兵, 梁玲燕, 等. 纳米磁粉协同解偶联剂作用下活性污泥性能的研究[J]. *环境科学*, 2012, 33(8): 2766-2772.
- [25] ZHAO J F, LIU S X, LIU N, et al. Accelerated productions and physicochemical characterizations of different extracellular polymeric substances from *Chlorella vulgaris* with nano-ZnO[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 658: 582-589.
- [26] ZHANG S J, JIANG Y L, CHEN C S, et al. Ameliorating effects of extracellular polymeric substances excreted by *Thalassiosira pseudonana* on algal toxicity of CdSe quantum dots[J]. *Aquatic Toxicology*, 2013, 126: 214-223.
- [27] 袁乙卜, 张建民, 陈希, 等. 大分子有机物作用下胞外聚合物对除磷污泥颗粒化的影响[J]. *环境工程学报*, 2021, 15(4): 1321-1332.
- [28] 王远红, 张红波, 罗世田, 等. 胞外聚合物对水中Cd(II)的吸附性能研究[J]. *环境工程学报*, 2010, 4(10): 2185-2189.
- [29] 张国威, 黄建, 崔浩, 等. 活性污泥对Pb(II)的吸附机理[J]. *环境工程学报*, 2016, 10(7): 3707-3714.
- [30] ZHENG S M, ZHOU Q X, CHEN C H, et al. Role of extracellular polymeric substances on the behavior and toxicity of silver nanoparticles and ions to green algae *Chlorella vulgaris*[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 660: 1182-1190.
- [31] HAN F, WEI D, NGO H H, et al. Performance, microbial community and fluorescent characteristic of microbial products in a solid-phase denitrification biofilm reactor for WWTP effluent treatment[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 227: 375-385.
- [32] WANG X L, ZHANG L, PENG Y Z, et al. Enhancing the digestion of waste activated sludge through nitrite addition: insight on mechanism through profiles of extracellular polymeric substances (EPS) and microbial communities[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 369: 164-170.
- [33] 陈鑫童, 郝庆菊, 熊艳芳, 等. 铁矿石和生物炭添加对潜流人工湿地污水处理效果和温室气体排放及微生物群落的影响[J]. *环境科学*, 2022, 43(3): 1492-1499.
- [34] SHARMA M, KHURANA H, SINGH D N, et al. The genus *Sphingopyxis*: Systematics, ecology, and bioremediation potential - A review[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 280: 111744.
- [35] WANG Z Q, GAO J F, DAI H H, et al. Microplastics affect the ammonia oxidation performance of aerobic granular sludge and enrich the intracellular and extracellular antibiotic resistance genes[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 409: 124981.
- [36] WANG Q, ZHOU G Y, QIN Y X, et al. Sulfate removal performance and co-occurrence patterns of microbial community in constructed wetlands treating saline wastewater[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021, 43: 102266.
- [37] MANNACHARAJU M, SOMASUNDARAM S, GANESAN S. Treatment of refractory organics in secondary biological treated post tanning wastewater using bacterial cell immobilized fluidized reactor[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021, 43: 102213.
- [38] 张雪, 乔雪姣, 苏佳, 等. 垃圾渗滤液处理厂活性污泥微生物种群结构和功能分析[J]. *北京大学学报(自然科学版)*, 2021, 57(5): 927-937.
- [39] LIU N, TANG M. Toxicity of different types of quantum dots to mammalian cells in vitro: An update review[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 399: 122606.

(责任编辑: 曲娜)

The stress response mechanisms of activated sludge exposed to CdSe quantum dots

YANG Lei^{1,2}, GUO Linkai^{1,2}, REN Yongxiang^{1,2,*}, CUI Shen^{1,2}, LI Xiaotong^{1,2}, LU Haoqi^{1,2}, WANG Yuchao¹

1. Shaanxi Key Laboratory of Environmental Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2. Key Laboratory of Northwest Water Resource, Environment and Ecology, Ministry of Education, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China

*Corresponding author, E-mail: ryx@xauat.edu.cn

Abstract In order to reveal the biotoxicity of CdSe quantum dots (QDs) in complex environmental systems, activated sludge was taken as the research object to study the effects of long-term exposure to CdSe QDs ($0.1\sim 10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) on the operation efficiency, sludge performance and microbial metabolism in sequencing batch reactor (SBR). The results showed that COD and nitrate concentrations in effluent fluctuated greatly under the stress of CdSe QDs ($0.1\sim 10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), but nitrification performance was stable. Low dosed CdSe QDs accelerated degradation of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, and $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CdSe QDs could increase average oxidation rate of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ from 2.2 to $3.3\text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$. Although CdSe QDs caused a slight increase in effluent turbidity, the sludge sedimentation maintained stable. CdSe QDs mainly bound to C—O—C, C—O, C—C and phosphate group on sludge surface, and caused the fluorescence quenching of tyrosine-like protein in extracellular polymeric substance. Meanwhile, microorganisms also secreted tryptophan-like proteins to alleviate stress. Besides, both abundance and diversity of microbes in activated sludge were inhibited by CdSe QDs, but low level CdSe QDs were conducive to abundance of *Nitrospira*. The results predicted by PICRUSt found that the metabolic pathway for metabolism and genetic information processing was significantly inhibited by CdSe QDs, and the abundances of the metabolic pathway for membrane transport and signal transduction finally decreased to 32 552 and to 7 876, respectively. That might be the reason for the increase in effluent COD with the rise of exposure dosage. Therefore, CdSe QDs affected the organic matter removal by changing the structure and function of microbial community in activated sludge, but showed no obvious negative effects on nitrification, sludge settling and flocculation.

Keywords CdSe quantum dots; activated sludge; biological nitrification; extracellular polymeric substances; microbial community