

含五氯酚废水的生物降解性和微生物毒性试验*

戴友芝¹, 施汉昌², 冀静平², 钱易² (1. 湘潭大学环境工程系, 湖南 411105, E-mail: hxhgy@xtu.edu.cn; 2. 清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要: 模拟中温厌氧消化反应设备条件, 以葡萄糖为共基质, 测定了五氯酚的产甲烷毒性及其废水的厌氧可生物降解性。测定条件: COD 1100~1200 mg/L, pH 7.2~7.4, COD: TVSS 为 0.8 左右, 接种污泥未驯化, 其产甲烷活性 CH_4/VSS 为 240 ml/g。试验结果表明, 五氯酚是一种对产甲烷活性抑制性较强的物质, 当投加浓度小于 5 mg/L 时产生中度抑制, 大于 10 mg/L 产生重度抑制, 抑制程度与投加浓度大小呈正相关; 产甲烷活性被抑制 50% 的五氯酚浓度约为 6 mg/L。五氯酚对产酸阶段抑制程度很小, 含不同浓度的五氯酚废水 COD 转化率稳定在 70% 左右, 但 COD 不能完全矿化, 导致以丙酸、乙酸为主的有机酸积累, 无丁酸积累。五氯酚去除率可达 70%~80%。用反应终点的甲烷转化率、酸化率、残余挥发酸百分率等特性参数能较好地表征反应体系产酸菌与产甲烷菌的活性及其被抑制情况。

关键词: 五氯酚, 产甲烷毒性, 厌氧生物降解性, 废水生物处理。

中图分类号: X786 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2000)02-0040-06

Experiment of Anaerobic Biodegradability and Toxicity of Pentachlorophenol

Dai Youzhi¹, Shi Hanchang², Ji Jingping², Qian Yi² (1. Dept. of Environ. Eng., Xiangtan Univ., Hunan 411105, China E-mail: hxhgy@xtu.edu.cn, China; 2. Dept. of Environ. Sci. and Eng., Tsinghua Univ., Beijing 100084, China)

Abstract: A batch anaerobic test was conducted to examine the biodegradability and toxicity of pentachlorophenol sodium (PCP-Na) on methane formation. The reactor was operated under the following conditions: $T: 35 \pm 1^\circ C$, pH: 7.2~7.4, COD: 1100~1200 mg/L. The feed solution prepared by glucose, urea and KH_2PO_4 , and COD/TVSS ratio was 0.8. The original activity of methanogenic bacteria in seeded sludge CH_4/VSS was 240 ml/g. The results showed that PCP-Na had inhibition effect on the activity of methanogenic formation bacteria. It caused middle inhibition when PCP-Na concentration was below 5 mg/L and PCP-Na increased to above 10 mg/L, the activity was strongly inhibited. The inhibition degree was directly related to the dosage of PCP-Na. 6 mg/L PCP-Na may decrease 50% activity. However, PCP-Na affected slightly on acid formation process. COD removal remained about 70% under different PCP-Na dosages, but organic compounds (COD) in the system could not be decomposed completely. The system accumulated propionic acid and acetic acid, but no butyric acid. PCP-Na was removed 70%~80%. The activity of acid and methane formation bacteria in the reactor could be manifested by the rates of methane formation, acid formation, and volatile acid remnant at the end of reaction.

Keywords: pentachlorophenol sodium (PCP-Na), methane formation toxicity, anaerobic biodegradability, wastewater biological treatment.

80年代以后, 国内外研究人员开始探索难降解有机物和有毒有机物的厌氧生物处理。五氯酚是一种重要的有机化工原料, 常作为防腐剂、杀虫剂、除草剂和杀菌消毒剂, 其性质稳定,

* 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室开放基金资助项目
作者简介: 戴友芝(1956~), 女, 副教授, 主要从事废水生物处理研究。
收稿日期: 1999-09-23

有剧毒,属于优先控制污染物.本文试图通过对含五氯酚废水的可生物降解性和毒性的研究,为这类有毒有机物的厌氧生物处理提供科学依据.

1 试验装置、材料与方法

1.1 试验装置与材料

(1) 试验装置 试验用反应瓶为 500ml 医用输液瓶,可装 580ml 试样,胶塞密封,置于恒温水浴槽中,其温度通过 WMZK-01 型温度控制仪维持 $35 \pm 1^\circ\text{C}$. 产生的沼气用 30ml 的史氏发酵管(sm ith fermentation tube) 计量,当收集的气体体积快要超出刻度时,将史氏发酵管倾倒一下,便可重新计量.史氏发酵管内装有 3mol/L 的 NaOH 溶液,沼气中的 CO_2 几乎可以被碱液完全吸收,在乳胶管的末端还插有一小吸头,使进入 NaOH 溶液的气泡尽可能小,以利于充分吸收 CO_2 . 图 1 是试验装置的示意图.

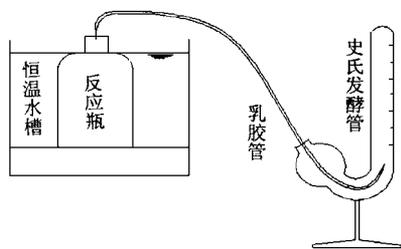


图 1 间歇试验装置图

(2) 试验污泥 污泥取自北京有机化工厂深井曝气回流污泥(约 2/5)、北京焦化厂 A-O 工艺回流污泥(约 2/5)和北京啤酒厂 UASB 装置中的厌氧污泥(约 1/5),放置约 4 个月,用 COD2000~2500mg/L 的葡萄糖培养液培养 2 个月.其污泥活性 CH_4/VSS 为 240ml/g.

(3) 试验用水水质 试验用水以葡萄糖、尿素和磷酸二氢钾(比例为 COD: N: P= 200: 5: 1)配置而成,投加定量五氯酚钠(PCP-Na).

1.2 试验方法

(1) 产甲烷毒性的测定 产甲烷毒性即是确定毒性物质或有毒废水在一定浓度下使甲烷

菌活性下降的程度^[1]. 试验以不含有毒物质的葡萄糖培养液为对照样,以含不同浓度的有毒物为受试样.向每个试验瓶注入 60ml 培养瓶底部的污泥(其活性 CH_4/VSS 为 240ml/g,污泥浓度约 20g/L)和 520ml 葡萄糖营养液,使其初始基质 COD 浓度为 1100~1200mg/L, pH 为 7.2~7.4, COD: TVSS 为 0.8 左右. 分别设对照样(空白试验样)和受试组样.对照样不含 PCP-Na, 受试组样中投加 PCP-Na 储备液,使 PCP-Na 浓度分别为 2、5、10、15、20、25 和 50mg/L. 对照样和受试组样溶液中的 COD 浓度、营养物、微量元素、碱度、污泥接种量及其它测定条件完全相同.将试验瓶摇匀后开始试验,记录各反应瓶不同时间的产气量.反应的前 12h,每小时记录 1 次累计甲烷产量,随后每天 3~5 次,每次读数后摇动反应瓶,使基质与污泥充分接触.试验终点(各试样甲烷累计产量增加很小或基本停止产气)测定各反应瓶上清液的 pH、COD、挥发酸(VFA)、PCP-Na 和污泥的 VSS、SS. 试验重复进行 2 次.

(2) 产甲烷活性恢复试验 在产甲烷毒性试验的终点,让反应瓶静置以使污泥完全沉淀,除去上清液,以少许清水置换掉残余的发酵液(操作 3 次),然后在各反应瓶中加入与产甲烷毒性测定试验中对照试样完全相同(浓度和体积)的葡萄糖营养液.这一过程包括所有受试组试样和对照试样.将试验瓶摇匀后开始试验,记录各反应瓶不同时间的产气量.并测定试验终点各瓶上清液的 pH、COD、VFA、污泥的 VSS、SS.

(3) 分析项目及方法 COD 采用标准重铬酸钾测定法^[2], SS 和 VSS 采用重量法^[2], PCP-Na 浓度用美国产 HP1050 液相色谱仪, Supelco ODS 反相柱 LC18 测定^[3], 挥发酸样品经预处理后用 SP-2305 型气相色谱仪测定^[4], 厌氧污泥活性采用史氏发酵管测定^[5].

2 试验结果与讨论

2.1 产甲烷毒性试验结果与分析

本试验以间歇式厌氧消化的累计产甲烷量

间接反映消化系统所受毒物的抑制程度,以相对活性的比较来判断抑制程度(即有毒物的毒性)的大小.相对活性(Relative Activity, 记作 RA)可用下式表示:

$$RA = (\text{某时刻受试组累计产甲烷量/同时刻对照组累计产甲烷量}) \times 100\%$$

RA 为 75% ~ 95%, 表示轻度抑制; RA 为 40% ~ 75% 表示中度抑制; RA < 40% 表示重度抑制^{6,71}. 产甲烷毒性试验结果表明, 五氯酚是一种对厌氧产甲烷抑制性较强的物质, 当 PCP-Na 浓度 5mg/L 时, RA 为 50% ~ 60%; 当 PCP-Na 浓度大于 10mg/L, 甲烷产量急剧减少, RA 约为 20%. 不同 PCP-Na 浓度下的累计甲烷产量和相对活性与时间的关系曲线见图 2.

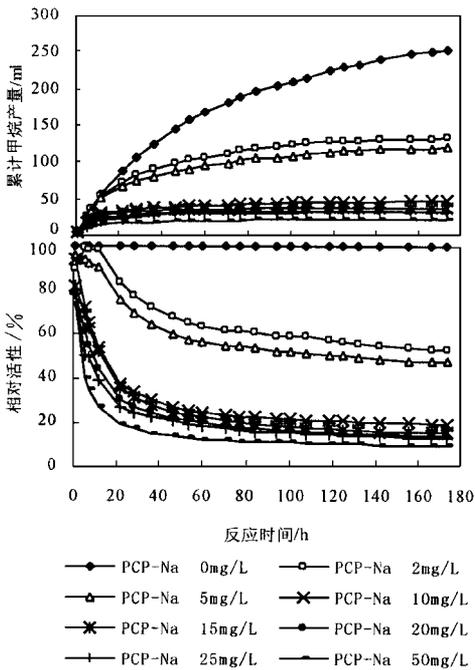


图 2 产甲烷活性和相对活性结果

由图 2 可知, 在较低浓度(小于 5mg/L)下, RA 在试验前 12h 降低很少, 随后 RA 有一逐渐下降的过程, 约 5d 后产甲烷量随时间增加很少; 在较高 PCP-Na 浓度(大于 10mg/L)下, RA 在试验的前 20h 逐步下降至 30%, 约 3d 后, 几乎停止产气. 说明五氯酚对厌氧生物降解

葡萄糖反应的抑制作用, 在低浓度时发生在反应后期, 在高浓度时发生在反应初期. 这可能是产甲烷微生物在体内有一毒性积累过程, 而在高浓度下, 所需积累时间短, 毒性强. 在产甲烷活性降低后, 随着反应时间的延长, 没有出现 RA 有回升的现象, 说明五氯酚对产甲烷菌抑制的不可逆性. PCP-Na 浓度小于 5mg/L 为中度抑制, 大于 10mg/L 为重度抑制. 抑制程度与所投加 PCP-Na 的浓度大小呈正相关, 如图 3 所示. 从图 3 可初步确定, 当消化时间为 3~ 8d 时, RA 值为 50% 时的 PCP-Na 浓度约为 6mg/L. 在同一 PCP-Na 浓度下, 抑制程度与消化反应时间呈正相关.

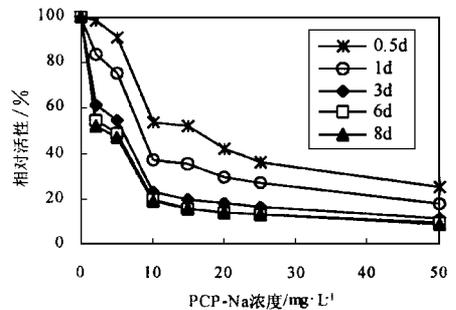


图 3 相对活性与投加浓度的关系

2.2 产甲烷活性恢复试验结果与分析

在产甲烷活性恢复试验中, 受试样污泥的活性被称为“残余活性”. 为便于比较仍以相对活性表示. 图 4 是残余活性与各对应试样的关系. 因为在恢复试验中, 各试样均不投加 PCP-Na, 故图 4 横坐标只是代表与在产甲烷毒性试验中投加的 PCP-Na 浓度所对应的试样. 将图 4 与图 3 进行比较, PCP-Na 引起的产甲烷活性下降在整个试验中恢复程度很小; 随着恢复试验时间的延长, PCP-Na 小于 2mg/L, 残余活性有较明显的增加, 大于 5mg/L 的试样活性恢复很小. 这是由于 PCP-Na 是一种杀菌性毒素, 可能引起产甲烷菌细胞死亡, 要使活性恢复必需有更长的恢复时间, 即有新的细胞增殖发生.

2.3 含 PCP-Na 废水的处理效果

通过对各试样反应始点、终点 COD 和 PCP-Na 的测定, 计算出 COD 和 PCP-Na 的去

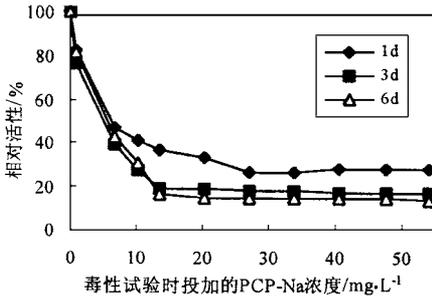


图 4 残余活性与各对应浓度的关系

除率, 其结果见图 5。从图 5 可知, 对照样的 COD 去除率大于 95%, 说明葡萄糖易于消化。COD 去除率与 PCP-Na 投加浓度具有线性关系, 随 PCP-Na 投加浓度升高, 去除率逐步降低。试验结果表明当 PCP-Na 投加浓度为 10 mg/L 以上, 对葡萄糖完全矿化有较强的抑制作用, PCP-Na 投加浓度越大, 抑制越强。PCP-Na 的去除率与 COD 去除率无相关性。当 PCP-Na 投加浓度小于 15 mg/L 时, 其去除率可达 80% 左右; 当 PCP-Na 浓度大于 15 mg/L 时, 其去除率为 70% 左右。PCP-Na 的去除率远大于 COD 的去除率, 说明含 PCP-Na 废水可厌氧生物降解, 但 COD 不能完全矿化。

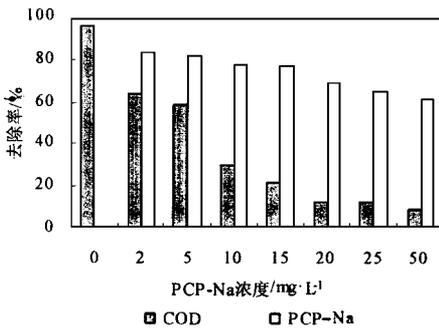


图 5 COD 和 PCP-Na 去除效果

2.4 厌氧生物降解性及其抑制机理探讨

在厌氧消化反应中, 可被厌氧微生物降解的 COD 记作 COD_{BD} , 这里可生物降解的含义包括了有机物的完全分解、有机物的酸化和转化为细胞物质的有机物; 可被产酸菌(或水解菌与产酸菌)转化为挥发酸的 COD 称为可酸化

COD, 记作 COD_{acid} ; 可被产甲烷菌利用转化为甲烷的 COD 称作甲烷化 COD, 记作 COD_{CH_4} ; 尚未被转化为甲烷而以挥发酸残存于反应器中的 COD 称作残余挥发酸 COD, 记作 COD_{vfa} ; 可转化为细胞物质的 COD 记作 COD_{cells} . COD_{BD} 所占起始 COD 的百分率称作废水的厌氧生物可降解性, 记作 $BD\%$; COD_{acid} 占起始 COD 的百分率称作酸化率, 记作 $A\%$; COD_{CH_4} 占起始 COD 的百分率称作甲烷转化率, 记作 $M\%$; COD_{vfa} 占起始 COD 的百分率称作残余 VFA 百分率, 记作 $VFA\%$; COD 去除率记作 $E\%$. 反应终点上清液 $BD\%$ 值越高, 表明厌氧生物可降解性越好。若 $A\%$ 值高, 表明反应系统中总 VFA 产量多, 则产酸菌活性好, 但不能表明系统中产甲烷菌的活性好, 不能直接反映系统对 COD 的去除率; $A\%$ 中包括 $M\%$ 与 $VFA\%$, 当 $A\%$ 一定, 若 $M\%$ 高, 则 $VFA\%$ 就低, 表明系统产甲烷菌活性好, 即受抑制性小; 当 $M\% \approx A\%$, 则表明系统产酸菌与产甲烷菌自身链接关系好, 产甲烷菌不受任何抑制。

本试验通过测量反应过程中累计甲烷产量和反应终点上清液剩余的 VFA 量, 并换算为 COD 值, 计算出 COD_{acid} 和 COD_{BD} . 其结果列于表 1。表 1 中 COD_0 、 COD_{fit} 分别为反应起始与终点上清液溶解性 COD 的实测值。 COD_{vfa} 、 COD_{CH_4} 为换算结果, VFA 与 COD 的换算系数为每 mg 乙酸相当于 0.875 mg COD, 每 mg 丙酸相当于 1.272 mg COD, 每 mg 丁酸相当于 1.563 mg COD(以标准乙酸、丙酸、丁酸所对应的 COD 实测结果为依据, 测定方法同 COD_{fit})。实测甲烷气换算为 COD 的换算系数为每 41.8 ml 甲烷(综合考虑温度的变化和 CO_2 吸收不完全等因素与理论值的差异)相当于 1 g COD. COD_{acid} 和 COD_{BD} 为计算结果, $COD_{acid} = COD_{CH_4} + COD_{vfa}$, $COD_{BD} = COD_{acid} + COD_{cells}$, 由于 COD_{cells} 不便测定, 则以去除 COD 代替 COD_{cells} 与 COD_{CH_4} 之和, 即 $COD_{BD} = COD_0 - COD_{fit} + COD_{vfa}$. 由表 1 结果分别计算出 $BD\%$ 、 $A\%$ 、 $M\%$ 、 $VFA\%$ 和 $E\%$ 列于表 2。由表 1 和表 2 可知, 厌氧可生化性 $BD\%$ 和酸化率

表 1 产甲烷毒性试验各试样 COD 值比较/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

PCP-Na	COD_0	COD_{filt}	COD_{vfa}	COD_{CH_4}	COD_{acid}	COD_{BD}
0	1151.8	40.8	36.8	1071.1	1107.9	1147.8
2	1137.4	404.1	73.0	564.2	634.2	806.3
5	1207.4	493.9	174.2	504.2	678.3	887.7
10	1199.4	832.6	525.3	204.8	730.1	892.1
15	1199.4	930.6	636.9	161.6	798.5	905.7
20	1180.0	1028.5	654.8	145.2	800.0	806.3
25	1135.9	990.8	659.5	136.4	795.9	804.6
50	1200.0	1095.2	701.5	99.1	800.6	806.3

表 2 产甲烷毒性试验各试样厌氧生物可降解性数据比较

PCP-Na/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	M/%	VFA/%	A/%	BD/%	E/%
0	92.99	3.19	96.19	99.65	96.46
2	49.34	6.42	55.79	70.89	64.47
5	41.76	14.43	56.26	73.52	59.09
10	17.08	43.80	60.87	74.38	30.58
15	13.47	53.08	66.55	75.52	22.44
20	12.31	55.49	67.80	68.33	12.84
25	12.01	58.06	70.00	70.83	12.77
50	8.25	58.41	66.67	66.72	8.80

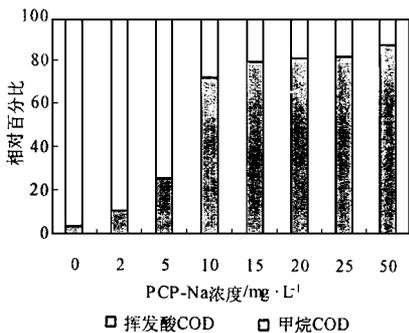


图 6 残余挥发酸 COD 与甲烷 COD 的比例

A% 均较高, 且随投加浓度变化影响较小, BD% 稳定在 70% 左右, A% 稳定在 60% ~ 70%, 说明系统中产酸菌活性较好, PCP-Na 对产酸阶段抑制程度小。所产生的有机酸被转化为甲烷和仍以挥发性脂肪酸残留的比例关系见图 6, 由图 6 可知, 对对照 95% 以上的有机酸可被产甲烷菌利用, $M\% \approx A\%$, 表明在无毒物条

件下, 厌氧降解葡萄糖过程产酸菌与产甲烷菌自身链接关系好, 产甲烷菌不受抑制; 在 PCP-Na 投加浓度为 2mg/L 时, 有 88% 的有机酸可被转化为甲烷, 在 PCP-Na 投加浓度为 5mg/L 时, 有 74% 的有机酸可被转化为甲烷, M% 接近于 A%, 说明产甲烷菌受抑制程度较小; PCP-Na 浓度为 $10 \sim 50\text{mg/L}$ 时, 只有 28% ~ 12% 的有机酸转化为甲烷, 72% ~ 88% 的有机酸残留于反应体系中, 因而 COD 去除率较低。说明 PCP-Na 投加浓度大于 10mg/L , PCP-Na 对产甲烷的抑制远大于对产酸阶段的抑制, PCP-Na 投加浓度越大, 对产甲烷阶段抑制性越强。

各试样反应终点上清液的挥发酸测定结果见图 7。由图 7 可知, 在残余挥发酸中, 以丙酸和乙酸为主, 丁酸很少。说明 PCP-Na 存在时, 葡萄糖厌氧消化可能主要是经丙酸菌作用再转化为乙酸的, 这与 McCarty 等研究的葡萄糖厌

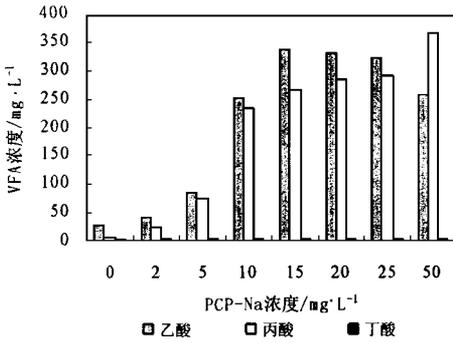


图 7 挥发酸测定结果

氧消化产酸阶段新模式^[8](在高基质浓度下)是一致的. 上述 PCP-Na 对厌氧消化过程分阶段的抑制试验结果也可从反应热力学及厌氧微生物角度来分析, 由丙酸转化为乙酸的反应自由能 ΔG_0 变化为 +76.1 kJ/mol, 必须使反应产物氢浓度降低才能使反应实际自由能成为负值, 将反应导向产物方向. 当 PCP-Na (大于 10 mg/L) 对产甲烷菌有较强的毒性时, 不能有效地利用氢, 则在乙酸积累的同时也会出现丙酸的积累. PCP-Na 对产甲烷菌有较强的抑制, 而对产酸菌的抑制程度很小, 这可能与微生物细胞的结构、生理生化特征等关系密切. 根据 PCP-Na 的分子特性推测其对产甲烷菌的抑制机理为: PCP-Na 进入甲烷菌体后, 与多功能氧化酶体系酶蛋白的活性中心进行共价结合(不可逆结合), 从而使蛋白质变性, 引起细胞膜的化学损伤, 而且这种损伤很难得以再生和修复, 表现出对产甲烷活性的严重抑制. 而厌氧产酸菌体内可能具有易于诱导、较为多样化的健全脱氯或开环酶体系, 为 PCP-Na 的酸化降解提供了客观保证.

3 结论

(1) PCP-Na 是一种对产甲烷活性抑制性较强的物质. 当投加浓度小于 5 mg/L 时, 产生中度抑制, 大于 10 mg/L 时产生重度抑制, 抑制

程度与投加浓度大小呈正相关; 产甲烷活性被抑制 50% 的 PCP-Na 浓度约 6 mg/L. PCP-Na 对产甲烷菌的抑制为不可逆性.

(2) 五氯酚属于杀菌性毒素, 当投加浓度大于 10 mg/L, 毒性引起的产甲烷活性下降不易恢复, 除非恢复试验时间很长, 从而有新的细胞增殖发生.

(3) PCP-Na 对产酸阶段抑制程度很小, 含不同浓度的 PCP-Na 废水可生化性稳定在 70% 左右, PCP-Na 去除率可达 70% ~ 80%. 由于产甲烷菌受抑制大, 使得产酸与产甲烷不能很好地链接, COD 不能完全矿化, 导致以丙酸、乙酸为主的有机酸积累, 无丁酸积累.

(4) 在测定有毒废水的产甲烷毒性的同时, 可以测定其可生物降解性. 用反应终点的甲烷转化率 M%、酸化率 A%、残余挥发酸百分率 VFA% 等特性参数能较好地表征反应体系产酸菌与产甲烷菌的活性及其被抑制情况.

参考文献

- 1 贺延龄. 废水的厌氧生物处理. 北京: 中国轻工业出版社, 1998. 509~514.
- 2 国家环境保护局. 水与废水监测分析方法(第三版). 北京: 中国环境科学出版社, 1997. 381, 233~237.
- 3 张文悦等. 高效液相色谱法测定厌氧废水处理液中五氯酚的含量. 环境污染与防治, 1994, 16(6): 33~35.
- 4 中国科学院成都生物研究所. 沼气发酵常规分析. 北京: 北京科学技术出版社, 1984. 43~48.
- 5 俞毓馨等. 环境工程微生物检验手册. 北京: 中国环境科学出版社, 1990. 182~186.
- 6 Dong Xiuzhu. Role of formate and hydrogen in the syntrophic degradation of propionate and butyrate. Ph. D. thesis. department of microbiology, Wageningen Agricultural University, The Netherland, 1994.
- 7 Driessen W J B M et al. Experience on anaerobic treatment of distillery effluent with the UASB process. Wat. Sci. Tech., 1994, 30(12): 193~201.
- 8 McCarty P L et al. Modeling of anaerobic digestion processes (a discussion of concepts). Wat. Sci. Tech., 1991, 24(8): 17~33.