

# 以葡萄糖为共基质硝基酚厌氧生物降解性试验研究

余宗莲, 于建伟, 金春姬

(中国海洋大学环境科学与工程学院 海洋生态环境山东省重点实验室, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 在 35 ℃ 中温厌氧条件下, 以葡萄糖为共基质, 采用间歇试验法, 通过测定甲烷累积产量, 研究了 2-硝基酚、4-硝基酚、2,4-二硝基酚和 2,6-二硝基酚的厌氧生物降解性, 利用相对活性值来判断硝基酚对产甲烷菌的抑制程度。研究结果表明: 2-硝基酚浓度小于 24 mg/L 时, 对产甲烷菌没有产生抑制作用; 4-硝基酚浓度小于 20 mg/L 时, 对产甲烷菌没有产生抑制作用, 浓度为 24 mg/L 时产生轻度抑制; 2,6-二硝基酚浓度小于 12 mg/L 时未产生抑制作用, 浓度为 16 mg/L ~ 24 mg/L 时产生轻度抑制; 2,4-二硝基酚浓度小于 4 mg/L 时没有产生抑制作用, 浓度为 8 mg/L ~ 24 mg/L 时产生中度抑制。4 种物质对产甲烷菌活性的抑制由小到大的排列顺序为: 2-硝基酚 < 4-硝基酚 < 2,6-二硝基酚 < 2,4-二硝基酚。

**关键词:** 葡萄糖; 共基质; 硝基酚; 厌氧生物降解性

中图分类号: X78 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)04-0082-04

## Anaerobic Biodegradation of Nitrophenols with Glucose as Co-substrate

SHE Zong-lian, YU Jian-wei, JIN Chun-ji

(Laboratory of Marine Environmental Science and Ecology, School of the Environmental Science and Engineering, China Ocean University, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** A batch anaerobic test was conducted to examine the biodegradation of 2-nitrophenol, 4-nitrophenol, 2,4-dinitrophenol and 2,6-dinitrophenol through measuring accumulative methane production. The Relative activity values were used to judge the inhibition level of nitrophenols on methanogenic bacteria. The test conditions was as follow: glucose was used as co-substrate and the temperature is 35 ℃. It didn't cause inhibition when concentrations of 2-nitrophenol, 4-nitrophenol, 2,6-dinitrophenol and 2,4-dinitrophenol were below 24 mg/L, 20 mg/L, 12 mg/L and 4 mg/L respectively. Slight inhibition was caused when concentrations of 4-nitrophenol and 2,6-dinitrophenol were 24 mg/L and 16 mg/L ~ 24 mg/L respectively. Middle inhibition when concentrations of 2,4-dinitrophenol were 8 mg/L ~ 24 mg/L was observed. The inhibition level was 2,4-dinitrophenol > 2,6-dinitrophenol > 4-nitrophenol > 2-nitrophenol.

**Key words:** glucose; co-substrate; nitrophenols; anaerobic biodegradation

硝基酚被广泛用于炸药、医药、染料、农药以及橡胶工业生产中, 是重要的环境污染物质, 其中 2-硝基苯酚、4-硝基苯酚和 2,4-二硝基苯酚毒性较大, 被美国环保局列为优先控制污染物名单<sup>[1]</sup>。硝基酚类化合物性质稳定, 属于难生物降解的有机物, 关于硝基酚厌氧生物降解性能的定量研究, 文献报道的较少; Mohammad 曾对 2-硝基酚、3-硝基酚、4-硝基酚和 2,4-二硝基酚的厌氧毒性作用进行了研究<sup>[2,3]</sup>, Karim 等研究了上流式厌氧污泥床反应器对 2-硝基酚、4-硝基酚和 2,4-二硝基酚的生物转化和去除效果<sup>[1,4]</sup>。有关研究表明, 在废水厌氧处理过程中加入易生物降解的有机物(如葡萄糖等), 可提高难降解有机物的生物降解性<sup>[5,6]</sup>。本文研究了以葡萄糖为共基质条件下, 4 种硝基酚类化合物在不同浓度条件下的厌氧生物降解性和抑制作用, 可为含硝基酚类化合物废水的厌氧处理提供依据。

## 1 试验装置、材料与方法

### 1.1 试验装置

试验反应瓶容积为 250 mL, 放置在恒温水箱中, 采用温度控制仪将温度控制在 35 ℃ ± 1 ℃; 厌氧反应产生的气体先通入装有 0.1 mol/L NaOH 溶液的三角瓶, CO<sub>2</sub> 气体被吸收, 甲烷进入装有蒸馏水的刻度玻璃管, 在气体压力的作用下, 玻璃管中的水面下降, 水面下降的体积就是甲烷的生成量。试验装置如图 1 所示。

### 1.2 试验材料和组成

本试验用 4 种硝基酚类化合物(2-硝基酚、4-硝基酚、2,4-二硝基酚和 2,6-二硝基酚)作为受试物。在受试样反应瓶中接种 25 mL VSS 为 13.6 g/L 的厌氧污泥, 加入 225 mL 试液, 试液的组成为: 一定浓度硝基酚、葡萄糖共基质、常量元素及微量元素。混合后试液 COD 约为 4000 mg/L, pH7.0 ~ 7.5, COD/VSS 为 0.3。在不同反应瓶中分别投加一种硝基酚,

收稿日期: 2003-07-23; 修订日期: 2003-09-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40272108); 青岛市水利局资助项目

作者简介: 余宗莲(1962~), 女, 硕士, 副教授, 主要从事水污染控制研究。

混合后试液硝基酚浓度为 4、8、12、16、20 和 24 mg/L。对照样(即空白)中不加硝基酚,其它组成与受试样相同。

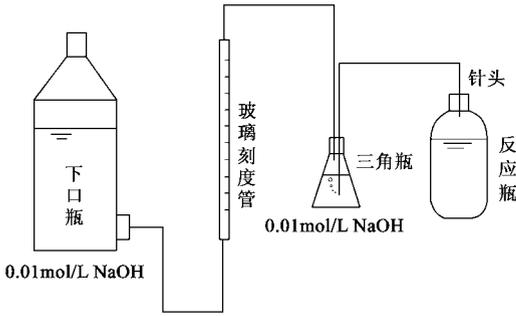


图 1 试验装置示意图

Fig.1 The schematic diagram of experimental

试验污泥取自青岛团岛污水处理厂的厌氧消化池,用葡萄糖营养液在实验室内预先培养 7 d。

### 1.3 试验方法

(1) 产甲烷毒性的测定 向反应瓶中加入厌氧污泥和试液,摇匀后放入恒温水浴中。试验开始后,每天测定反应瓶中甲烷产量,并计算甲烷累积产量。甲烷累积产量增加很小或基本停止产气时,定为试验终点。

(2) 产甲烷活性恢复试验 产甲烷毒性试验结束后,进行产甲烷活性恢复试验。让反应瓶静置使污泥沉淀,排除上清液,用少许清水淘洗污泥,去掉残余的试液,然后在各反应瓶中加入与产甲烷毒性试验中对照试样完全相同的葡萄糖营养液,摇匀反应瓶后开始试验,记录各反应瓶不同时间的产气量。这一试验包括所有受试试样和对照试样。

## 2 产甲烷毒性试验结果及讨论分析

间歇厌氧消化试验过程中甲烷累积产量可反映受试物的厌氧降解性,即说明受试物对厌氧消化系统的抑制程度或毒性。本研究用相对活性的比较来判断抑制程度,相对活性(Relative Activity, RA)可用下式表示:

$$RA = (\text{某时刻受试组甲烷累积产量} / \text{同时刻对照组甲烷累积产量}) \times 100\%$$

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<sup>[7,8]</sup>。

### 2.1 2-硝基酚试验结果及分析

投加不同浓度 2-硝基酚试样的甲烷累积产量见图 2。试验的前 50 h, 2-硝基酚不同浓度的受试样

与对照样的甲烷累积产量十分接近, RA 接近 100%。当反应时间超过 50 h 后,受试样的甲烷累积产量逐渐超过对照样,最终,所有浓度受试样的甲烷累积产气量均高于对照样,但受试样的甲烷累积产量随着 2-硝基酚浓度的增大而减少。上述实验结果说明,在本试验所选取的浓度范围内(≤24 mg/L), 2-硝基酚不仅没有对厌氧微生物产生抑制作用,而且产生了刺激作用,刺激作用随 2-硝基酚浓度的增加而降低。

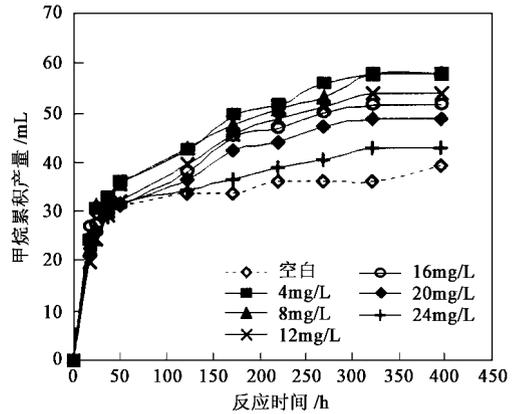


图 2 2-硝基酚试验甲烷累积产量

Fig.2 Accumulative methane production curves for the anaerobic test of 2-nitrophenol

### 2.2 4-硝基酚试验结果及分析

4-硝基酚试验甲烷累积产量随反应时间的变化见图 3。在反应的前 30 h,浓度为 4 mg/L、8 mg/L 受试样的甲烷累积产量接近于对照,即 RA 接近 100%,而浓度为 12 mg/L、16 mg/L、20 mg/L、24 mg/L 试样的甲烷累积产量低于对照;在反应时间为 25 h ~ 50 h 内,浓度为 4 mg/L、8 mg/L 受试样的甲烷累积产量超过对照,12 mg/L、16 mg/L、20 mg/L、24 mg/L 受试样的甲烷累积产量仍然低于对照;当反应时间超过 50 h 后,12 mg/L、16 mg/L、20 mg/L 受试样的甲烷累积产量逐渐超过对照,24 mg/L 受试样的甲烷累积产气量一直低于对照。产生这种情况的原因是厌氧污泥对于投加的受试物需要一定的适应时间,且随着受试物浓度的增大,所需适应时间增加。所以在反应初期,受试样的甲烷累积产量低于对照,浓度为 12 mg/L、16 mg/L、20 mg/L 受试样的甲烷累积产量超过对照所需时间长于 4 mg/L、8 mg/L 受试样,而浓度为 24 mg/L 受试样,由于毒物浓度较高,毒性较大,在试验期间甲烷累积产量一直低于对照,最终 RA 值为 83%,属于轻度抑制。

与 2-硝基酚试验结果比较可知,4-硝基酚的抑

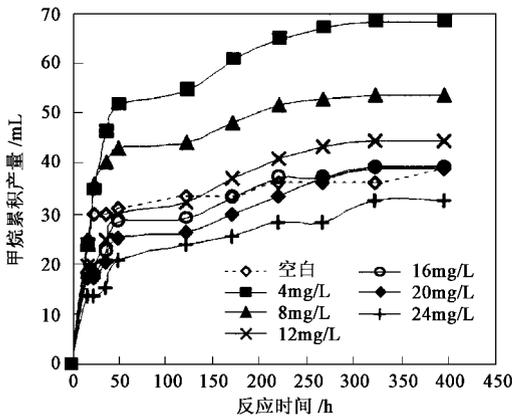


图 3 4-硝基酚试验甲烷累积产量

Fig.3 Accumulative methane production curves for the anaerobic test of 4-nitrophenol

制性大于 2-硝基酚,这与 Moha m mad 等人的研究结果是一致的<sup>[2]</sup>.

### 2.3 2,4-二硝基酚试验结果及分析

2,4-二硝基酚试验甲烷累积产量见图 4.只有浓度为 4 mg/L 受试样的最终甲烷累积产量大于对照,其余浓度受试样(即 8 mg/L、12 mg/L、16 mg/L、20 mg/L、24 mg/L)的最终甲烷累积产量都小于对照,且随着投加浓度的增大,甲烷累积产量逐渐减少.这说明 2,4-二硝基酚浓度大于 8 mg/L 时,对厌氧微生物的活性产生了抑制.2,4-二硝基酚浓度为 8 mg/L、12 mg/L、16 mg/L、20 mg/L 和 24 mg/L 时,最终 RA 分别为 75 %、70 %、63 %、57 %和 55 %,都属于中度抑制.

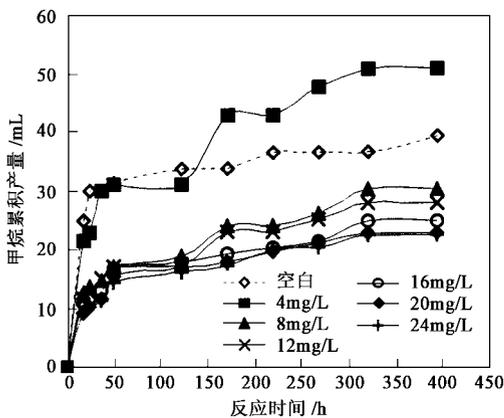


图 4 2,4-二硝基酚试验甲烷累积产量

Fig.4 Accumulative methane production curves for the anaerobic test of 2,4-dinitrophenol

### 2.4 2,6-二硝基酚试验结果及分析

2,6-二硝基酚试验甲烷累积产量随时间的变化见图 5.浓度为 4 mg/L、8 mg/L、12 mg/L 受试样的甲烷累积产量高于对照,其余浓度受试样均低于对照.

2,6-二硝基酚浓度为 16 mg/L、20 mg/L 和 24 mg/L 时,最终 RA 值分别为 85 %、82 %和 77 %,属于轻度抑制.与 2,4-二硝基酚的试验结果比较可知,2,6-二硝基酚的抑制性小于 2,4-二硝基酚.

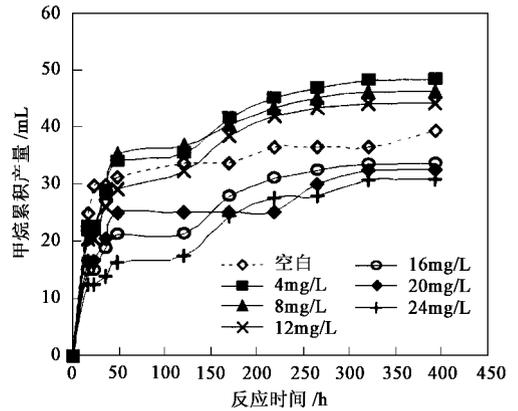


图 5 2,6-二硝基酚试验甲烷累积产量

Fig.5 Accumulative methane production curves for the anaerobic test of 2,6-dinitrophenol

## 3 产甲烷活性恢复试验结果与分析

产甲烷活性恢复试验可测定受试样污泥的残余活性,从另一方面说明有毒物质对厌氧微生物的毒性作用大小.本试验将各试样厌氧污泥的甲烷累积产量与对照样污泥的甲烷累积产量进行比较,说明厌氧污泥活性恢复情况.图 6、图 7、图 8 和图 9 分别是 2-硝基酚、4-硝基酚、2,4-二硝基酚和 2,6-二硝基酚试样污泥的残余活性与对照的比较.在恢复试验中,由于各试样均不投加硝基酚,故图中浓度代表与甲烷毒性试验中投加的硝基酚浓度相对应的试样.

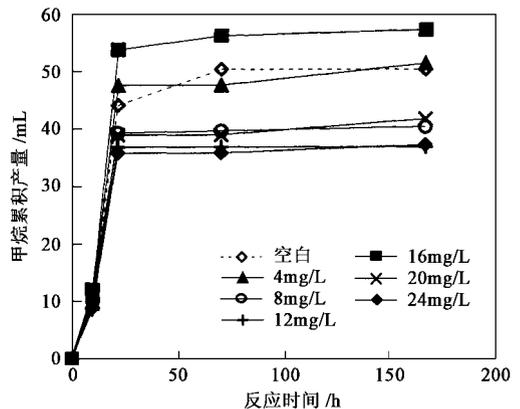


图 6 2-硝基酚试样活性恢复甲烷累积产量

Fig.6 Accumulative methane production curves for 2-nitrophenol active resuming test

4 种硝基酚各浓度试样污泥的产气在试验开始 30h 均已基本结束,最终甲烷累积产量均随硝基酚

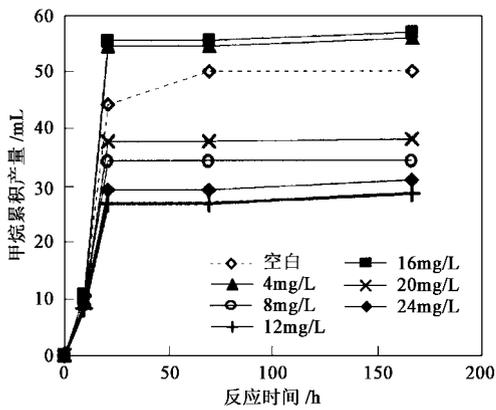


图 7 4-硝基酚试样活性恢复甲烷累积产量

Fig.7 Accumulative methane production curves for 4-nitrophenol active resuming test

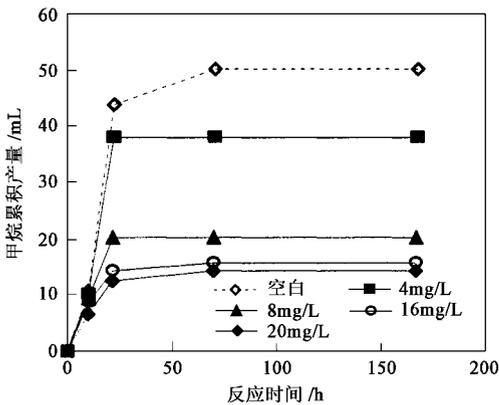


图 8 2,4-二硝基酚试样活性恢复甲烷累积产量

Fig.8 Accumulative methane production curves for 2,4-dinitrophenol active resuming test

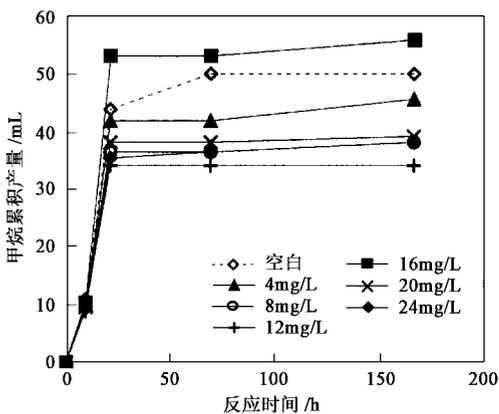


图 9 2,6-二硝基酚试样活性恢复甲烷累积产量

Fig.9 Accumulative methane production curves for 2,6-dinitrophenol active resuming test

浓度的增大而降低。2-硝基酚与 4-硝基酚试样的甲烷累积产量变化趋势大致相同,浓度为 4 mg/L、8 mg/L 试样的最终甲烷累积产量高于对照,表明其

产甲烷活性高于对照,原因可能是毒性试验中低浓度 2-硝基酚和 4-硝基酚对厌氧微生物产生刺激作用的延续;浓度为 12 mg/L、16 mg/L、20 mg/L 和 24 mg/L 试样的产甲烷活性低于对照。

2,4-二硝基酚各浓度试样的甲烷累积产量均低于对照,浓度为 4 mg/L 试样的产甲烷活性较之在毒性试验中下降很多,其它浓度试样的产甲烷活性恢复程度也很小。

2,6-二硝基酚只有浓度为 4 mg/L 试样的最终甲烷累积产量大于对照,其余浓度试样的最终甲烷累积产量均小于对照。

#### 4 结论

(1) 低浓度硝基酚(浓度低于 4 mg/L)对厌氧微生物会产生刺激作用,使厌氧菌活性增强。

(2) 4 种硝基酚抑制性大小的顺序为 2,4-二硝基酚 > 2,6-二硝基酚 > 4-硝基酚 > 2-硝基酚,产生这种差别的原因与硝基取代基的多少及其位置有关。

(3) 低浓度 2-硝基酚和 4-硝基酚(浓度低于 8 mg/L)在毒性试验以后污泥的活性降低不大;2,4-二硝基酚毒性较大,毒性试验后厌氧污泥活性较难恢复;2,6-二硝基酚浓度为 4 mg/L 试样的污泥产甲烷活性恢复较好,其余浓度试样(8 ~ 24 mg/L)的活性恢复均较差。

#### 参考文献:

- [1] Karim Khurshid, Gupta S K. Continuous biotransformation and removal of nitrophenols under denitrifying conditions[J]. Water Research, 2003, 37:2953 ~ 2959.
- [2] Mohammad R Haghighi Poden, et al. Effects of nitrophenols on acetate utilizing methanogenic systems[J]. Wat. Res., 1995, 29(2):391 ~ 399.
- [3] Mohammad R. Haghighi Poden, et al. Fate and toxic effects of nitrophenols on anaerobic treatment systems[J]. Wat. Res., 1996, 34(5-6):345 ~ 350.
- [4] Karim Khurshid, Gupta S K. Biotransformation of nitrophenols in upflow anaerobic sludge blanket reactors[J]. Bioresource Technology, 2001, 80:179 ~ 186.
- [5] Kameya Takashi, et al. Testing and classification methods for the biodegradabilities of organic compounds under anaerobic conditions[J]. The Science of the Total Environment, 1995, 170:31 ~ 41.
- [6] 杨晓奕,等.乙二胺四乙酸(EDTA)生物降解特性[J].环境科学,2001,22(2):41 ~ 45.
- [7] Dong Xiuzhu. Role of formate and hydrogen in the syntrophic degradation of propionate and butyrate[D]. The Netherland: department of microbiology, Wageningen Agricultural University, 1994.
- [8] Driessen W J B M, et al. Experience on anaerobic treatment of distillery effluent with the UASB process[J]. Wat. Sci. Tech., 1994, 20(12):193 ~ 301.