

参 考 文 献

【1】 王万春等,南京大学学报(化学专刊), 154(1984).

【2】 王连生等,环境科学学报, 5(3), 304(1985).

【3】 王连生等,环境化学, 4(4), 25(1985).

BOD 测定中用化学法抑制硝化作用的研究

梁 贤 英 李 献 文

(北京建筑工程学院)

引 言

用测定生化需氧量来间接地说明水质被有机物质污染的程度及水处理设施效果的优劣,是水污染控制中一项重要的水质指标。通常用 BOD₅ 作为相对标准。而水中有机物被微生物分解的耗氧可分为两个阶段:第一

阶段主要是有机物被转化为二氧化碳、水和氨。第二阶段主要是氨被转化为亚硝酸盐和硝酸盐,皆称为硝化阶段。

从分析水质的角度看,一般 BOD 测定的目的是测出第一阶段的耗氧量。假如在培养

林卫、王澄、金世洁等同志参加了实验工作

期间同时有硝化作用发生，就会使测定结果偏高，这就必须采取措施抑制硝化作用的发生。有时也需要分别测出含碳物质生化需氧量 C BOD 和含氮物质生化需氧量 N BOD。分别测出这两种 BOD 对建立水质模型是重要的，对生化处理设施的设计和运行都是重要的。它们之间的关系为

$$\text{总 BOD} = \text{C BOD} + \text{N BOD}$$

式中总 BOD 表示无抑制硝化措施测得的 BOD，抑制硝化作用的方法可分为两大类：一类为水样调整法，另一类为化学抑制法。水样调整法有数种^[1-2]，但这些方法操作不易掌握，给检测人员带来很大困难。因此促使研究人员去发展一些操作较简单，效果又好的化学抑制法。多年来用筛选法试验了几十种化学抑制剂。1948 年 W. E. Abbott 用亚甲蓝 (C₁₆H₁₈N₃SCl · 3H₂O) 抑制作用^[3]，但发现亚甲蓝也明显地影响 C BOD，因此未能推广。硫脲和烯丙基硫脲 (ATU) 可抑制硝化作用^{[4][5]}。但硫脲是可生化降解的，其抑制时间太短，硫脲也会对碘量法测定溶解氧产生干扰。1966 年 Montgomery 和 Borne^[6] 指出 ATU 用于抑制硝化产生的问题较少。1973 年 Young 研究了 N-抑制剂 ATU 和 TCMP [2-氯-6-(三氯甲基)吡啶] 对硝化作用的抑制效果^[7]。

上述研究工作多数为探讨原污水及二级处理出水的抑制硝化作用问题。我们做了大量实验研究，探讨了 ATU 对河水水样抑制的效果。对不同的河水水样在不同培养温度下 BOD 变化过程进行了分析。对 ATU 投加量和效果做了探讨，同时还做了不同浓度 ATU 对碘量法测定 DO 的影响实验。也做了在有 ATU 存在下酸化时间对 DO 测定的影响实验。

实 验

一、试剂部分

本实验所用试剂均为国产分析纯试剂，

所用稀释水及配制药品的溶剂都是经蒸馏器得来的。经等离子体测定铜离子含量为 0.006ppm。

二、内容与结果

1. 抑制剂对 BOD 的影响

(1) 以京密河水为样品

采样方法 用脚踏吸器负压吸取河中部水面下约 0.3m 部位的水为水样。

稀释比：1:1；抑制剂：ATU。

校核：用标准葡萄糖-谷氨酸溶液作校核，按《水与废水标准检验方法》15 版操作方法，测出的 BOD₅ 值为 199.53mg/L 符合要求。

实验方法 用叠氮化钠修正碘量法。用恒温培养箱控制温度在 20±1℃ 的条件下，通过不加 ATU 和加 10mg/L ATU 测得实验数据绘图见图 1。

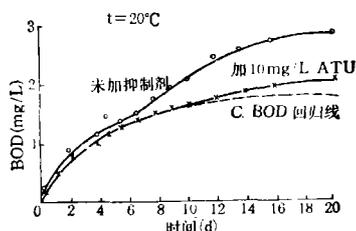


图 1 京密引河水水样的 BOD 曲线

实验条件下 ATU 抑制作用只能持续 12 天左右，根据我们所做的数十条 BOD 曲线看，ATU 的抑制作用皆只能维持 12—18 天。

(2) 以四川内江棉纺厂河水段为水样

稀释水配制、稀释比，操作步骤及抑制剂的用量均同上，所不同的是采用 20℃ 和 37℃ 两种不同温度观察 ATU 对 BOD 值的影响，见图 2、图 3。

在第一阶段加 ATU 的 BOD 值偏高。我们认为沱江水系有肉联加工厂的排水口，受含氮有机物及氨氮的污染较重，水中降解含氮有机物和亚硝酸盐菌一类的自养型微生物相对的数量较高。由于降解含氮有机物的

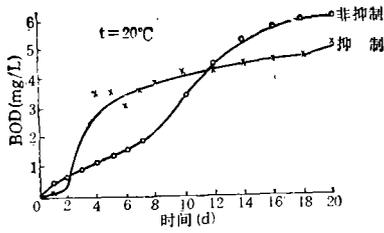


图 2 内江棉纺厂水样的 BOD 曲线 (20°C)

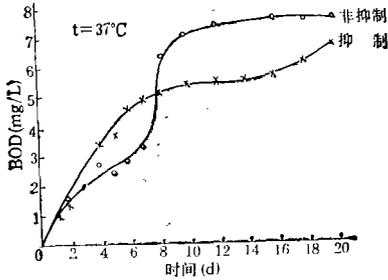


图 3 内江棉纺厂水样的 BOD 曲线 (37°C)

细菌稍高,有少量 ATU 被降解,在河水第一阶段 BOD 含量低时,上述耗氧则显得突出。又由于亚硝酸菌一类微生物偏高,于是第二阶段开始的时间(转折点)不像一般著作中所谈发生于第 8—10 天。由沱江的过程线看,多发生于第 5—6 天。

比较图 2、图 3, BOD 值随温度升高而增高。同样我们也做了 0°C、10°C、20°C、37°C 不同温度下的 BOD,其结果也符合图 2、图 3 的规律。

2. 不同 ATU 用量对 BOD 值的影响

分别制取含 ATU 量为 0 mg/L、0.5

mg/L、1.0mg/L、5.0mg/L 及 10.0mg/L 五个京密河水水样,在相同条件下培养并测其 BOD 值。

由图 4 看出,随着 ATU 量在水样中的增加, BOD 值也逐渐下降。当 ATU 含量为 5.0mg/L 以上时才能较好地起抑制作用。我们也做了 ATU 含量分别为 0, 0.5, 5.0, 10.0, 20.0 及 30.0mg/L 的系列样品试验,从趋势上看出 20mg/L 含量的水样也能较好地起抑制作用,然而 30mg/L 含量的水样就很

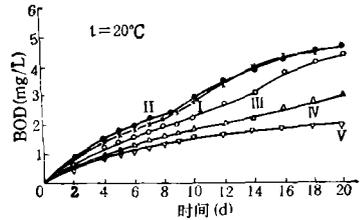


图 4 ATU 不同用量对 BOD 的影响
I—0mg/L; II—0.5mg/L; III—1mg/L
IV—5mg/L; V—10mg/L

不规律,而且于第 18 天后 BOD 值急骤上升。说明 ATU 这个有机化合物本身的耗氧上升是不可忽视的。

3. 相同时间内 ATU 用量对溶解氧的影响

水样 静置 48h 的自来水

酸化时间 15—20min

分别制取含 ATU 为 0mg/L、0.5mg/L、1.0mg/L、5.0mg/L、及 10.0mg/L 的五个水样在相同时间内按《标准》方法直接测三个平

表 1 不同 ATU 用量对 DO 的影响

DO mg/L 编 号	ATU 用量	0mg/L	0.5mg/L	1.0mg/L	5.0mg/L	10.0mg/L
1		7.258	7.197	7.046	6.057	5.239
2		7.440	7.127	6.854	5.966	5.431
3		—	7.076	6.895	6.057	5.239
\bar{DO}		7.349	7.133	6.932	6.027	5.297

行样的溶解氧,其数据列于表 1 中。

随着 ATU 含量的增加,其溶解氧值则下降。

4. 酸化时间对测溶解氧的影响

为了确保数据的可靠性,需要作平行样品,有时也要同时作几个样品。这样由于碘量法中碘分子易挥发而造成误差。为了研究时间的长短对溶解氧。测定值的影响,我们设计了以不同酸化时间测其溶解氧值的实验。

用静置 48h 的自来水为样品,分别取酸化后时间为 5、10、15、20 和 25min 五个平行样,分别在 ATU 为 1mg/L、5mg/L、10mg/L 的条件下,用标准法测定,其结果见图 5。说明了在酸化后 25 分钟范围内滴定,结果误差不大,同时也看出随 ATU 含量的增加,其溶解氧值会减小。

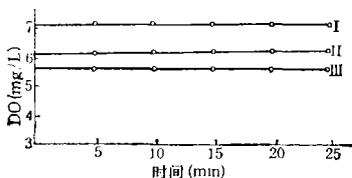


图 5 酸化时间对测定溶解氧的影响
I——1mg/L ATU II——5mg/L ATU
III——10mg/L ATU

讨 论

自然界中存在着大量依靠有机物生活的微生物,它们有分解氧化有机物的巨大能力。微生物在有氧条件下繁殖生长很快,以致于把可降解的有机物几乎全部氧化分解完。微生物繁殖生长主要靠溶解于微生物细胞液中的酶的作用。酶是一种生物催化剂,也是一种蛋白质,主要由氨基酸组成,具有氨基酸的一些共性。同样在一定条件如酸、碱、加热,紫外线照射等外界因素影响下丧失活性。当然也可能不引起酶蛋白的变性作用,而只使酶的活性下降。加某种化学药品用以降低酶的活性,这就是化学抑制作用。一般是由于化学药品与酶分子上的某些必需基团(主要

是指酶活性中心上的一些基团)发生化学反应或生成复合物,使酶活力下降,致使微生物不能正常发育。在测定水样 BOD 时,加入抑制剂是为了专门降低自养型硝化菌和亚硝化菌酶的活性,这类专门的细菌就不能生长发育,也就不再消耗氧。因而欲单独测得 C BOD,只要加入硝化抑制剂即可。

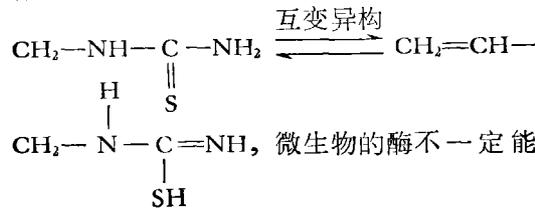
抑制剂可分为不可逆抑制剂与可逆抑制剂两大类。可逆抑制剂与酶蛋白质的结合是可逆的,它与自由状态的酶之间存在着一个平衡: $I + E \rightleftharpoons EI$,而抑制剂和酶形成的复合物 EI 不能分解成产物而使酶不能起活化底物的作用^[3]。

在测定水样 BOD 过程中,硝化抑制剂亚甲兰 $[(CH_3)_2N]_2C_{12}H_6NS(OH)$ 、硫脲 $NH_2-C(=S)-NH_2$ 、烯丙基硫脲 $CH_2=CH-$



都含有一定比例的氮元素,因而硝化细菌也能以抑制剂为饲料与酶结合成中间体而致使硝化细菌的生长被抑制。根据抑制剂的特点,竞争性抑制剂都具有与底物相类似的结构,因而我们认为硝化抑制剂也属于竞争性抑制剂。

微生物有各种酶,既可以利用氮作为生长能源,也可以利用硫作为生长能源,硝化过程中的微生物在有氧条件下同样如此。氮的氧化是生物氧化的第二阶段。我们用 ATU 作抑制剂它可能产生互变异构:



微生物的酶不一定能

区别 HS⁻氨基酸、H₂S 或 $\begin{array}{c} \text{—C=NH} \\ | \\ \text{SH} \end{array}$ 。微生物

在利用氮作能源的过程中也利用某种硫化物作为能源，当微生物的酶与 ATU 结合后失去活性，也即起到了抑制氮的氧化作用。

生物化学氧化是个很复杂的过程，当在水样中加抑制剂时，和酶形成复合物需要有一个适应过程。从污染角度看，有机物暂时增加了，所以我们在大量实验中都发现培养的前几天 BOD 值高于未加 ATU 水样的值。开始起抑制作用往往在第 7, 8 天左右。

烯丙基硫脲的结构式为 $\begin{array}{c} \text{CH}_2=\text{CH}- \\ | \\ \text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ || \\ \text{S} \end{array}$ ，在结构式中有两个不

饱和键，一个是 C₁C₂ 之间的双键和 C₃ 上的 α-H 形成 σ-π 共轭状态，C₃ 上的氢较活泼，在光催化下可与 I₂ 进行取代反应。S 和 O 是同一主族元素，性质相似，所以 —NH—C—NH₂ 在酸性条件下可以形成烯硫醇式 $\begin{array}{c} || \\ \text{S} \end{array}$

结构 $\begin{array}{c} \text{—NH—C=NH} \\ | \\ \text{SH} \end{array}$ ，而 —SH 很容易被氧

化^[9]，H₂O₂，I₂ 以至空气中的氧都能将硫醇氧化成二硫化物。根据碘量法测定溶解氧的原理，水中的氧以 H₂MnO₃ 的形式固定下来，在酸性条件下 H₂MnO₃ 把 I⁻ 氧化为 I₂，通过游离 I₂ 的量求出溶解氧。也正是在这酸性条件下，使 ATU 的互变异构被 I₂ 氧化，消耗 I₂ 使结果偏低。

结 论

一、BOD₅ 是测定第一阶段生化需氧量，当水样中亚硝酸菌一类的自养型微生物较高时，第二阶段 BOD 耗氧会提前发生，使 BOD₅ 测定值偏高，在需要测定第一阶段完全生化

需氧量时，也需避免发生硝化作用的耗氧，因此有必要研究并采用抑制硝化作用的方法。

二、对京密引水河这类清洁河水 ATU 的硝化抑制效果较好，对沱江这类 C BOD 虽然较低但 N BOD 较高，也即受氮污染较重的河水来说，ATU 的硝化抑制效果较差。但正因为污染较重的河水才特别需要加入抑制剂，因而在“标准法”中用 ATU 作硝化抑制剂存在一定问题，需要进一步研究和探讨。

三、据报道 TCMP 的效果优于 ATU，但目前我国未见产品，建议研制 TCMP。

四、ATU 的用量等于或超过 5.0mg/L 时，才能较好地起抑制作用。10mg/L 最好，20mg/L、30mg/L 则没有必要，当培养天数超过 12—18 天时，ATU 被降解，ATU 量过多，使测定结果偏高。

五、ATU 能产生抑制作用的天数随被测水质而异，一般只能持续 12—18 天。

六、使用 ATU 作硝化抑制剂要慎重。建议在测定第一阶段完全生化需氧量 BOD_u 时，尽量不采用 ATU，做超过 18 天长培养期的测定，可考虑采用连续 5—7 天的 BOD，用最小二乘法回归确定 K₁ 和 L₀ (即 BOD_u)，一般所得结果比直接用抑制硝化作用而测定 20 天所得结果要好。

参 考 文 献

- [1] Sawyer, C. N. and Bradney, L., *J. Sew. Works*, 18, 1113(1964).
- [2] Hurwitz, E. et al., *J. Sew. Works*, 19, 995(1947).
- [3] Abbott, W. E., *Water and Sew. Works*, 95, 424 (1948).
- [4] Painter, H. A. and Jones, K., *J. Appl. Bacteriol.*, 26, 471(1963).
- [5] Montgomery, H. A. C. and Borne, B. J., *Inst. Sewage Purif., J. Proc.* 4, 357(1966).
- [6] Tomlinson, T. G. et al., *J. Appl. Bact.*, 29, 266 (1966).
- [7] Young, J. C., *J. WPCF.* 45, 637(1973).
- [8] 沈同等, 生物化学, (上册) 245 页, 人民教育出版社, 1980 年。
- [9] 汪小兰, 有机化学, 141—142 页, 高等教育出版社, 1984 年。