

碳源及电子受体对厌氧微生物降解对氯硝基苯的影响

于延伟, 吴锦华, 李冬昱
(华南理工大学环境与能源学院, 广东 广州 510006)

摘要: 为考察氯代硝基苯的共代谢降解过程中, 有机碳源类型和电子受体对氯代硝基苯厌氧降解过程的影响, 以对氯硝基苯 (p-CNB, para-chloronitrobenzene) 为目标污染物, 通过间歇试验考察了葡萄糖、乙醇、乙酸钠等有机碳源及 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 等竞争性电子受体对厌氧微生物降解对氯硝基苯的影响。结果显示, 葡萄糖、乙醇和乙酸钠作为碳源时, 菌种获得的还原能力大小依次为: 乙醇>葡萄糖>乙酸钠。 SO_4^{2-} 对菌种降解对氯硝基苯过程不产生竞争性抑制。 NO_3^- 对对氯硝基苯降解过程的影响与碳源的量有关, 当乙醇-COD为100 mg/L时, 硝酸盐产生竞争性抑制, 且抑制作用随着 NO_3^- 浓度升高而增强; 当乙醇-COD为600 mg/L时, 硝酸盐对菌种降解对氯硝基苯过程不产生竞争性抑制作用。

关键词: 对氯硝基苯; 碳源; 电子受体; 厌氧微生物

中图分类号: TQ424; X788

文献标志码: A

Effects of Carbon Sources and Electron Acceptors on the Anaerobic Degradation of Para-chloronitrobenzene

Yu Yanwei, Wu Jinhua, Li Dongyu

(School of Environment and Energy, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: In this paper, the effects of carbon sources and electron acceptors on the anaerobic degradation of chloronitrobenzene (CNB) during the process of co-metabolism degradation were studied. Para-chloronitrobenzene (p-CNB) was taken as the target pollutant. During the batch experiments, the effects of glucose, ethanol and sodium acetate as the organic sources and SO_4^{2-} and NO_3^- as the competitive electron acceptors on anaerobic degradation of p-CNB were investigated. The results showed that when glucose, ethanol and sodium acetate were selected as the carbon sources, reduction capacity obtained by the microorganism was maximal with ethanol, followed by glucose and sodium acetate in a descending order. During the anaerobic degradation of p-CNB, competitive inhibition did not occur with SO_4^{2-} . However, the effects of NO_3^- on the anaerobic degradation of p-CNB were much correlated with the amount of carbon source. When ethanol-COD was 100 mg/L, competitive inhibition occurred. The higher the NO_3^- concentration was, the stronger the inhibition was. However, when ethanol-COD was 600 mg/L, no competitive inhibition happened.

Keywords: Para-chloronitrobenzene; Carbon Source; Electron Acceptor; Anaerobic Microorganism

CLC number: TQ424; X788

氯代硝基苯是含氯含硝基的芳香族化合物, 广泛应用于染料、医药、农药等化工生产领域^[1-3]。我国氯硝基苯年产能能力约占世界年产能能力

的60%, 是世界主要生产与供应国^[4]。氯代硝基苯具有遗传毒性和“三致”作用, 因此被多个国家列为优先控制有机污染物^[5-6]。

收稿日期: 2014-06-09

基金项目: 国家自然科学基金 (50708039) ; 中央高校基本科研业务费资助项目 (2012ZZ0047) ; 广东省自然科学基金 (05300188) 项目资助

作者简介: 于延伟 (1988-), 女, 硕士研究生。研究方向: 工业废水生物处理。E-mail: 13763305929@163.com

通信作者: 吴锦华, E-mail: jinhuawu@scut.edu.cn

氯硝基苯硝基和氯原子的强吸电子作用,使得苯环上的电子云密度大幅度下降,好氧微生物的单加氧酶或双加氧酶亲电子攻击大大受阻,造成氯代硝基苯的可生化性差,很难被常规的好氧微生物降解^[7-8]。但在厌氧条件下,厌氧微生物可以通过共代谢作用,把氯代硝基苯还原为毒性较小的苯胺类物质,甚至矿化为二氧化碳和水^[9]。

厌氧微生物共代谢去除难降解污染物是以难降解污染物为电子受体,从易降解基质的降解获得还原能力把它们还原成毒性小的物质。由于不同的基质环境下厌氧生物降解产生的还原能力是不一样的,因此在氯硝基苯厌氧降解过程中使用不同的基质会获得不一样的效果。另外,氯硝基苯废水中或废水处理过程中常常存在其他电子受体如 SO_4^{2-} 和 NO_3^- ,这些电子受体会竞争利用易降解基质降解释放的还原能力,降低厌氧微生物还原氯硝基苯的速率,甚至抑制厌氧微生物还原氯硝基苯的酶活性^[4]。

有鉴于此,本文以工业上常用的对氯硝基苯为研究对象,采用间歇试验方法,研究3种代表性有机碳源如葡萄糖、乙醇、乙酸钠和废水处理过程中常见的电子受体如 SO_4^{2-} 和 NO_3^- 对厌氧微生物降解对氯硝基苯的影响,为氯硝基苯废水处理工程实践提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验装置

间歇试验装置见图1。

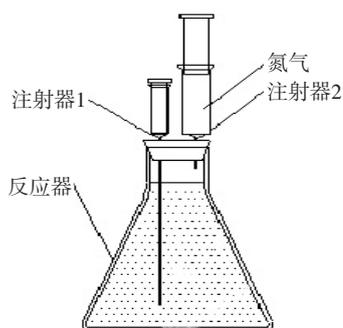


图1 间歇试验装置

反应器为250 mL的密封锥形瓶,注射器1的

玻璃针管靠近反应器底部,用于取样;注射器2的玻璃管在液面以上,注射器内充有氮气,用来平衡压强。

1.2 污泥接种和驯化

接种污泥取自广州市某污水处理厂二沉池,使用前先在一个5.5 L的厌氧生物滤池反应器中采用模拟废水连续进水对菌种进行驯化。反应器中污泥初始浓度为5 g/L,水力停留时间为24 h。模拟废水以葡萄糖、乙醇和乙酸钠(COD比例为1:1:1)作为基质,模拟废水组成为(mg/L): COD 1000、对氯硝基苯0~50、 NH_4Cl 170、 K_2HPO_4 45、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 190、 CaCl_2 20、 NaHCO_3 1000和微量元素;初始pH值为7.5。微量元素浓度为: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 为65 mg/L、 $\text{CoCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 NH_4MO_3 、 ZnSO_4 均为0.5 mg/L。

驯化从对氯硝基苯浓度为5 mg/L开始,以每7天5 mg/L的梯度把进水硝基苯浓度提升到50 mg/L。经过70 d的驯化,反应器对COD和对氯硝基苯的去除率分别达到80%和85%,至此,驯化结束,可继续试验。试验前从反应器中富集污泥,污泥经3 d饥饿处理后用去离子水淋洗3次以去除污泥中残余的对氯硝基苯、对氯苯胺和其他杂质,以此污泥作为间歇实验研究的菌种。

1.3 试验方法

移取模拟废水250 mL并接种上述菌种到250 mL锥形瓶,菌种投加量为1 600 mgVSS/L。改变模拟废水中葡萄糖、乙醇和乙酸钠初始COD浓度分别为100和400 mg/L,对氯硝基苯的初始浓度为350 $\mu\text{mol/L}$,在两种基质浓度下考察基质对厌氧微生物降解对氯硝基苯的影响。在电子受体影响实验中,以乙醇为基质,选定对氯硝基苯的初始浓度为350 $\mu\text{mol/L}$,菌种投加量VSS为1 600 mg/L,改变硝酸盐、硫酸盐的浓度,考察不同电子受体对对氯硝基苯厌氧降解过程的影响。反应过程中,每隔2~4 h,采集水样,分析COD、对氯硝基苯和对氯苯胺浓度。每个试验设2个平行样,取其平均值。

1.4 分析方法

试验中COD、VSS均采用标准分析方法^[10]。对氯硝基苯和对氯苯胺测定：液相色谱法（日立L-2000型），液相色谱的分析条件为：反相色谱柱Luna 5uC18、流动相甲醇/水=50/50（v/v）、流动相流速为1.0 mL/min、检测波长270 nm。溶液样品经过5 min 4 000 r/min的离心处理，并通过0.45 μm滤膜过滤后，取样10 μL水溶液样品注入色谱进行定量分析。

2 结果与讨论

2.1 有机碳源的影响

分别以葡萄糖、乙醇和乙酸钠为碳源，在COD浓度为100和400 mg/L两种条件下考察了它们对厌氧微生物降解对氯硝基苯的影响，结果见图2~5。

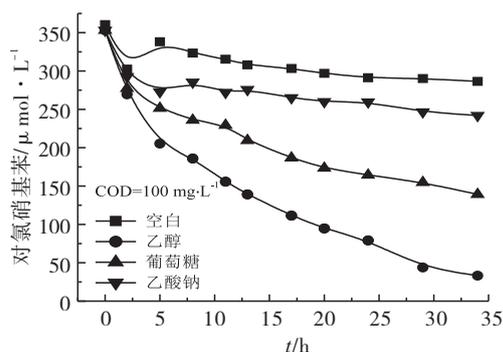


图2 碳源 (COD=100 mg·L⁻¹) 对降解过程中对氯硝基苯降解的影响

图2所示当以葡萄糖、乙醇和乙酸钠为碳源时 (COD=100 mg/L)，反应34 h后对氯硝基苯的降解率分别为61.5%、91.3%和31.5%。作为降解对氯硝基苯的共基质，乙醇是乙醇、葡萄糖和乙酸钠3种基质中最有效的电子供体和碳源。

Yin et al^[11]利用Fe⁰/厌氧微生物协同体系降解对氯硝基苯，协同体系分别加入乙醇、乙酸钠和葡萄糖作为厌氧微生物的基质，结果发现以乙醇作为协同体系的基质时协同体系的降解效果最好。

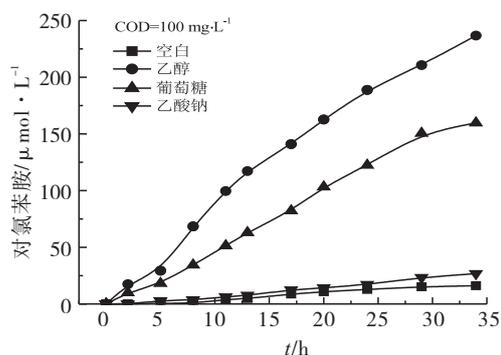


图3 碳源 (COD=100 mg·L⁻¹) 对降解过程中对氯苯胺生成的影响

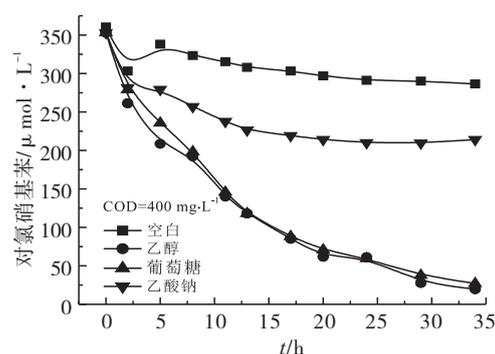


图4 碳源 (COD=400 mg·L⁻¹) 对降解过程中对氯硝基苯降解的影响

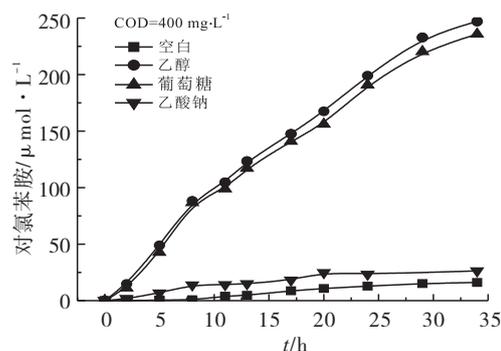


图5 碳源 (COD=400 mg·L⁻¹) 对降解过程中对氯苯胺生成的影响

当有机质的COD浓度提高到400 mg/L时，见图4。以葡萄糖、乙醇和乙酸钠为碳源时，反应34 h后对氯硝基苯的降解率分别92%、94%和39%。基质的量由100 mg/L增加到400 mg/L时，同样时间内，对氯硝基苯的降解率分别对应增长了31%、3%和8%，厌氧微生物以葡萄糖作为共基质降解对氯硝基苯的速率增长幅度明显大于以乙醇和乙酸钠作为共基质时的速率增长幅度。由此可以看出，增加碳源的量有利于提高微生物的活性，进而增加对氯硝基苯的去除率和去除速

率；碳源的量增加时，加入的基质种类不同，对氯硝基苯的降解率和降解速率增加幅度也不同。

根据液相色谱分析，对氯硝基苯的主要降解产物为对氯苯胺 (*p*-CAN, *para*-chloroaniline)，对氯苯胺的毒性小于对氯硝基苯，在环境中可以被好氧微生物矿化处理。对氯苯胺的收率为：

$C_{t,p-CAN} / (C_{t,p-CNB} - C_{0,p-CNB}) \times 100\%$ (式中, $C_{t,p-CAN}$ 代表对氯苯胺在 t 时刻的摩尔浓度, $C_{t,p-CNB}$ 代表对氯硝基苯在 t 时刻的摩尔浓度, $C_{0,p-CNB}$ 代表对氯硝基苯的初始摩尔浓度)。

对氯苯胺的生成情况如图3和5所示。当以葡萄糖、乙醇和乙酸钠为碳源时 (COD为100 mg/L)，对氯苯胺收率分别为45%、67%和8%，COD为400 mg/L时，对氯苯胺的收率上升至67.1%、70.4%和9.5%。基质的种类会影响对氯硝基苯的代谢途径，进而影响对氯硝基苯转化为对氯苯胺的收率，乙醇作为共基质时，对氯苯胺的收率最高。乙酸钠-COD投加量分别为100 mg/L和400 mg/L时，反应34 h后对氯苯胺的收率分别为8%和9%，增加基质的量对对氯苯胺的收率影响很小，这表明以乙酸钠作为碳源时，对氯硝基苯的去除了主要是因为微生物群的吸附作用，而不是厌氧微生物的共代谢降解作用。

2.2 电子受体的影响

2.2.1 SO_4^{2-} 的影响 改变 SO_4^{2-} 浓度分别为0、0.5、1.5和6 mmol/L，考察硫酸盐对对氯硝基苯降解的影响，结果见图6。

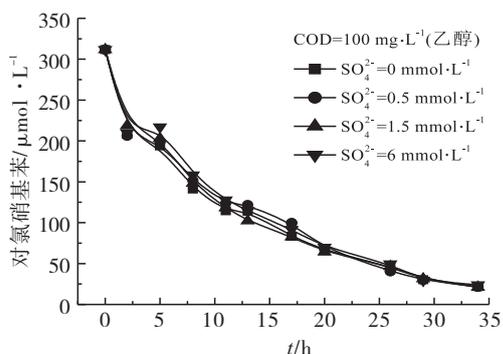


图6 SO_4^{2-} 对对氯硝基苯降解的影响 (COD为100 mg·L⁻¹)

在 SO_4^{2-} 浓度分别为0、0.5、1.5和6 mmol/L时，对氯硝基苯的浓度在稳态时都为24.5 μmol/L，这说明厌氧微生物在产甲烷环境和硫酸盐环境下降解对氯硝基苯并没有明显不同，硫酸盐电子受

体的存在对对氯硝基苯的去除了并没有产生明显影响。硫酸盐的存在对许多的芳香族化合物的去除产生影响。Krumholz et al^[12]研究硫酸盐对厌氧微生物去除2,4-二硝基苯酚的影响，结果发现2,4-二硝基苯酚在产甲烷环境和硫酸盐环境下的去除速率分别为25.1和9.1 μmol/L，这说明硫酸盐存在对二硝基苯酚降解产生明显的抑制作用。硫酸盐的存在对多环芳香烃 (PAH) 的降解影响存在分歧，有的研究认为硫酸盐还原菌可以降解对氯PAH，从而增大PAH的去除了率，也有的研究认为硫酸盐的存在对PAH去除没有明显影响^[13]。本试验发现硫酸盐的存在对对氯硝基苯的去除了没有明显的影响，没有因为竞争电子供体而抑制对氯硝基苯的降解，也没有因为硫酸盐还原菌的作用而促进对氯硝基苯的去除了。

2.2.2 NO_3^- 的影响 改变 NO_3^- 浓度分别为0、0.8、2.4和4.8 mmol/L，考察硝酸盐对对氯硝基苯降解的影响，结果见图7。

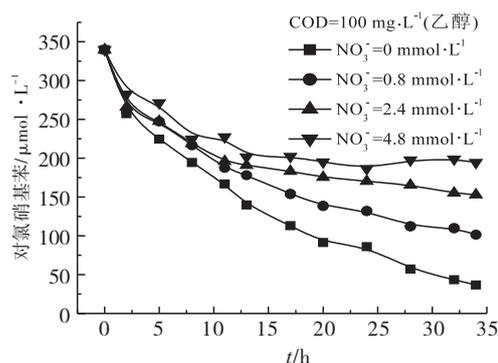


图7 NO_3^- 对对氯硝基苯降解的影响 (COD为100 mg·L⁻¹)

当硝酸盐浓度分别为0.8、2.4和4.8 mmol/L时，反应34 h后对氯硝基苯的降解率分别为70.1%、55.2%和43.2%，明显小于没有加入硝酸盐时的降解率 (89.7%)，这说明硝酸盐对对氯硝基苯的降解具有抑制作用，且抑制作用随着硝酸盐浓度升高而增强。这是因为当基质有限时，共基质产生的还原能力部分用于反硝化作用从而使得对氯硝基苯的还原过程受到抑制^[10]。这也说明在基质有限的情况下，硝酸盐的竞争能力大于硫酸盐，会与对氯硝基苯竞争利用由基质产生的还原能力。为进一步考察硝酸盐与对氯硝基苯的竞争作用，在基质充足COD=600 mg/L的条件

下,考察硝酸盐是否对对氯硝基苯的降解产生抑制作用,结果见图8。

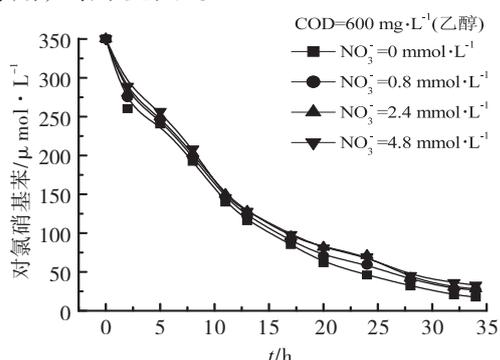


图8 NO_3^- 对对氯硝基苯降解的影响 (COD为600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

由图8可知,当硝酸盐初始浓度分别为0、0.8、2.4和4.8 mmol/L时,反应34 h后对氯硝基苯的降解率分别为93%、92%、92%和90%。可见COD=600 mg/L 时,提高溶液中硝酸盐的浓度对对氯硝基苯的降解产生明显非常小的抑制作用,这种抑制作用在误差允许范围内可以忽略不计,即基质充足的情况下,硝酸盐对对氯硝基苯的降解不产生抑制作用。

硝酸盐的存在对对氯苯胺的生成产生影响,具体见图9和10。

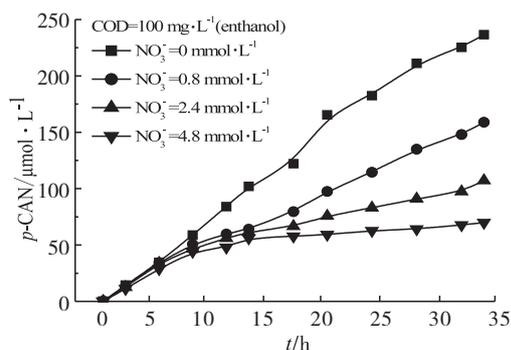


图9 NO_3^- 对对氯苯胺生成的影响 (COD为100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

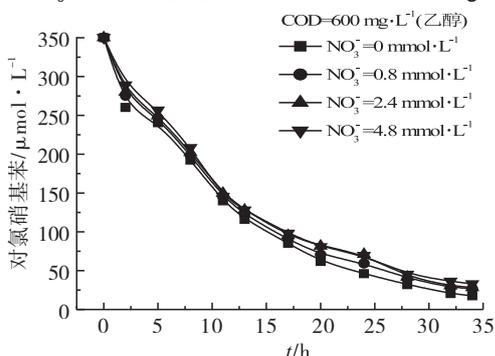


图10 NO_3^- 对对氯苯胺生成的影响 (COD为600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

当硝酸盐浓度分别为0、0.8、2.4和4.8 mmol/L

时,COD为100 mg/L 时,反应34 h后对氯苯胺的收率分别为68.1%、66.2%、47.3%和37.9%,COD为600 mg/L 时,反应34 h后对氯苯胺的收率分别为77.6%。这说明基质有限时,硝酸盐的存在影响对氯硝基苯的代谢途径,使得对氯苯胺的收率降低。这可能是由于反硝化细菌利用对氯苯胺作为还原硝酸盐的碳源和电子供体,使得对氯苯胺进一步代谢和矿化^[14]。1 g的 NO_3^- -N的完全还原为 N_2 时需要3.45~5.34 g的COD^[15],进水COD为600 mg/L ,乙醇易降解基质提供的电子就可以将硝酸盐完全还原,反硝化细菌优先利用乙醇易降解基质,对氯苯胺不会得到进一步反硝化降解,因此基质充足时,硝酸盐对对氯苯胺的收率没有影响。

3 结论

(1) 对氯硝基苯的降解效率和降解速率与碳源的种类密切相关,碳源的量影响对氯硝基苯的代谢途径,进而影响对氯苯胺的收率。葡萄糖、乙醇和乙酸作为碳源时,菌种获得的还原能力大小依次为:乙醇>葡萄糖>乙酸钠,乙醇是最有效的碳源。

(2) 硫酸盐对对氯硝基苯厌氧降解过程不产生影响。碳源不足时,硝酸盐会竞争利用由碳源产生的还原能力,抑制微生物还原对氯硝基苯的速率和效率,抑制作用随着硝酸盐浓度升高而增强,硝酸盐还原使得对氯苯胺进一步代谢,对氯苯胺的收率随着硝酸盐的增加减少;碳源充足时,硝酸盐对对氯硝基苯降解过程不产生影响。

(3) 对氯硝基苯浓度为350 $\mu\text{mol/L}$,添加作为碳源,碳源的量为乙醇-COD为400 mg/L 时,对氯硝基苯的去除率最大(达到94%);此时,溶液中存在电子受体硫酸盐或一定量硝酸盐(≤ 3.2 mmol/L),对氯硝基苯的降解速率和效率不受影响。

参考文献

[1] 项 硕,叶 敏,徐向阳,等.氯代硝基苯类生产废水厌氧-好氧序批生物处理技术[J].浙江大学学报,2003,29(2):195-200.

(下转第84页)

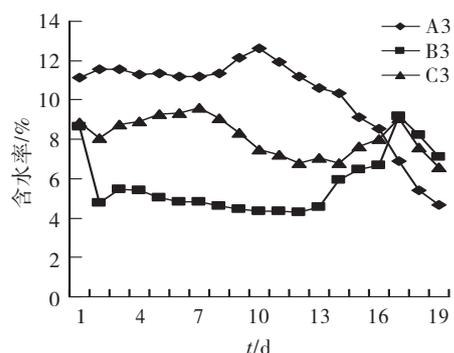


图9 添加30g污泥土壤含水率变化

3 结论

随着我国城镇污水排放量的增加和处理率的提高,污泥产量大幅增加,污泥处理处置面临新的挑战。因此,急需结合我国国情和污泥特点寻求解决对策。本研究表明,在充分供水条件下,添加污泥能显著提高砂土、壤土和粘土土壤初期的最大持水量,并可改善3种质地土壤的保水性,使水分蒸发减慢,其中对砂土保水性的提高效果最好,污泥添加量越多,保水效果提高越明显,开发污泥做为保水剂是可行的。这为污泥的资源化利用提供了新的途径,也为复合保水剂

的研制提供了新的廉价材料,对于污泥治理及农业节水都有重要意义。

参考文献

- [1]舒小伟,沈上越,范力仁,等.低成本耐盐性超强吸水复合材料的研制[J].矿物岩石, 2005,25(3):91-94.
- [2]程 丝.高吸水性材料的复合化及进展[J].合成技术及应用,2002,17(3):26-29.
- [3]黄占斌,张玲春,董 莉,等.不同类型保水剂性能及其对玉米生长效应的比较[J].水土保持学报,2007,21(1):140-144.
- [4]黄占斌,张国楨,李秧秧,等.保水剂特性测定及其在农业中的应用[J].农业工程学报,2002,18(1):22-26.
- [5]介晓磊,李有田,韩燕来,等.保水剂对土壤持水特性的影响[J].河南农业大学学报,2000, 34(1):22-24.
- [6]王 刚.国内外污泥处理处置技术现状与发展趋势[J].环境工程, 2013,31: 530-533.
- [7]曹秀芹,杜金海.污泥处理处置技术发展现状与分析[J].环境工程, 2013,31: 561-564.
- [8]姚金玲,王海燕,于云江,等.城市污水处理厂污泥处理处置技术评估及工艺选择[J].环境工程,2010,28(1):81-84.
- [9]陈晓蓉,孙克君,王 俊,等.污泥保水功能的研究及应用初报[J].水土保持通报,2011,31(5):200-203.
- [10]曹秀芹,谭晶晶.污泥农用中的资源利用价值分析[J].环境工程,2008,26(3):84-87.
- [11]陈同斌,高 定,李新波.城市污泥堆肥对栽培基质保水能力和有效养分的影响[J].生态学报,2002,22(6):802-807.
- [12]Park H S, Lim S J, Chang Y K, et al. Degradation of chloronitrobenzenes by a coculture of *Pseudomonas putida* and a *Rhodococcus* sp.[J]. Appl Environ Microbiol,1999, 65(3):1083-1091.
- [13]国家环境保护总局.水和废水监测分析方法[M].北京:中国环境科学出版社, 2002.
- [14]Yin W Z, Wu J H, Li P, et al. Reductive transformations of pentachloronitrobenzene by zero-valent iron and mixed anaerobic culture[J]. Chemical Engineering Journal, 2012, 210:309-315.
- [15]Krumholz L R, Sulflita J M. Anaerobic aquifer transformation of 2,4-dinitrophenol under different terminal electron accepting conditions[J]. Anaerobe, 1997, 3(6):399-403.
- [16]Wisniowska E, Janosz-Rajczyk M. Selected PAHs concentration changes under nitrate and sulphate reducing conditions[J]. Desalination, 2007, 211(1-3):232-237.
- [17]Kahng H Y, Kukor J J, Oh KH. Characterization of Strain HY99:a novel microorganism capable of aerobic and anaerobic degradation of aniline[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 190(2):215-221.
- [18]Narkis N, Rebhum M, Sheindrof C H. Denitrification at various carbon to nitrogen ratios[J].Water Res, 1979, 13:93-98.
- [19]邱 罡, 谢凝子, 陈少瑾, 等.两种土壤中对硝基氯苯被Fe⁰还原的对比研究[J].生态环境学报, 2009, 18(6): 2156-2160.
- [20]Shen J M, Chen Z L, Xu Z Z, et al. Kinetics and mechanism of degradation of p-chloronitrobenzene in water by ozonation[J]. J Hazard Mater, 2008, 152(3):1325-1331.
- [21]查清云, 吴锦华, 李 平, 等.硝酸盐还原条件下对氯硝基苯的生物还原转[J].环境工程学报,2012, 6(7): 2169-2172.
- [22]Le C, Liang J Q, Wu J H, et al. Effective degradation of para-chloronitrobenzene through a sequential treatment using zero-valent iron reduction and Fenton oxidation[J]. Water Science & Technology, 2011, 64(10):2126-2131.
- [23]Guo H Q, Liu Z Y, Yang S G. The feasibility of enhanced soil washing of p-nitrochlorobenzene (p-NCB) with SDBS/Tween80 mixed surfactants[J]. J Hazard Mater, 2009, 170(2-3): 1236-1241.
- [24]Katsivela E, Wray V, Pieper D H, et al. Initial reactions in the biodegradation of 1-chloro-4-nitrobenzene by a newly isolated bacterium strain LW1[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65:1405-1412.
- [25]Kuhlmann A, Hegemann W. Degradation of monochloronitrobenzenes by *Pseudomonas acidovorans* CA50[J]. Acta Hydrochim Hydrobiol, 1997, 25:298-305.

(上接第74页)