

32种芳香化合物的好氧生物降解性表征*

陈勇生 陈丽侠** 杨杰*** 庄源益 戴树桂

(南开大学环境科学系, 天津, 300071)

摘 要

本文采用芳香化合物生物降解产生的二氧化碳量(PCD)作为表征其生物降解性的指标,测定了32种芳香化合物好氧生物降解12d产生的二氧化碳量,在此基础上提出了定性划分有机物生物降解性的标准,按照此标准对32种芳香化合物的生物降解性进行了划分;另外还探索了影响生物降解性的诸因素。

关键词: 芳香化合物, 活性污泥, 好氧生物降解, 二氧化碳生成量。

目前,用于有机物生物降解性研究的测试指标可根据有机物的减少量、氧气的消耗量或二氧化碳生成量来衡量。此外,也可通过观察接种物的生理、生化变化特征来评估。采用最多的是BOD, COD, 溶解有机碳(DOC), 二氧化碳生成量(PCD)等。其中,硝化作用对BOD有影响,细胞吸附作用和无机还原性物质对COD有干扰,微生物的吸附作用对DOC的试验结果有影响^[1-3]。而以PCD为生物降解性指标的影响因素最少,且PCD可反映有机污染物完全无机化的程度。因此,在好氧生物降解试验中采用PCD作为评估有机污染物生物降解性能的测试指标较为合理。

本文选用天津市纪庄子污水处理厂曝气池中的活性污泥,对一系列芳香化合物好氧生物降解12d产生的二氧化碳量进行测定,探索了芳香化合物的结构对其生物降解性的影响。

1 实验部分

1.1 接种菌液

将从污水处理厂取来的活性污泥空曝24h,然后定期逐步加入一定量的一种受试物储备液,使污泥中受试物的浓度逐渐增高,最后达到 $100\text{mg DOC}\cdot\text{l}^{-1}$,驯化时间为6d。将驯化后的污泥静置沉降,弃去上清液,污泥倒入100ml离心管中以 $3000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10min,弃去上清液,污泥用磷酸盐缓冲溶液洗涤,再离心15min,弃去上清液,然后用磷酸盐缓冲溶液洗涤,离心,如此重复三次。把最后得到的污泥倒入烧杯中,用蒸馏水浸泡,制成一定浓度的接种物储备液,取该液15ml于恒重过的蒸发皿中,水浴蒸干,再

* 国家教委博士点专项基金资助项目, ** 现在秦皇岛环境科学研究所工作, *** 现在国家专利局工作。

放到 100—110℃ 的烘箱中恒重, 计算接种物悬浮液浓度 (以混合液悬浮固体 $\text{gMLSS} \cdot \text{l}^{-1}$ 表示). 实验时取一定体积使反应瓶中活性污泥的浓度为 $0.5 \text{gMLSS} \cdot \text{l}^{-1}$.

1.2 营养盐及其用量

有机物生物降解所需的无机营养盐为: 磷酸盐缓冲液 (每升水中含有 KH_2PO_4 8.5g, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 28.5g, Na_2HPO_4 17.7g 和 NH_4Cl 1.7g). 氯化钙溶液 ($27.5 \text{g} \cdot \text{l}^{-1}$), 硫酸镁溶液 ($11.0 \text{g} \cdot \text{l}^{-1}$), 氯化铁溶液 (含 6 个结晶水 $0.25 \text{g} \cdot \text{l}^{-1}$); 在有机物生物降解实验中, 营养盐的浓度为: 磷酸盐缓冲液 $5 \text{ml} \cdot \text{l}^{-1}$, 氯化钙溶液 $2 \text{ml} \cdot \text{l}^{-1}$, 硫酸镁溶液 $2 \text{ml} \cdot \text{l}^{-1}$, 氯化铁溶液 $2 \text{ml} \cdot \text{l}^{-1}$.

1.3 吸收液

前置吸收液共三级, 前两级为 $10 \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 的 NaOH 溶液, 第三级采用 $0.1 \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 的 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 溶液. 气流再经水洗瓶进入反应瓶. 芳香化合物经生物降解所产生的 CO_2 用 $0.1 \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 的 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 溶液吸收 (采用的吸收瓶为 500ml 锥形瓶, 内装 400ml $0.1 \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 的 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 吸收液), $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 的原始浓度用标准盐酸溶液进行测定. 整个反应过程是通过四级吸收来完成, 吸收瓶每两天更换一次. 将换下的吸收液全部转移到 2000ml 容量瓶中定容, 并用标准盐酸溶液滴定, 以测得吸收瓶中 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 的剩余量, 从而求得 CO_2 的产生量.

1.4 生物降解实验

将配制好的 2000ml 反应液 (受试物的浓度为 $100 \text{mg DOC} \cdot \text{l}^{-1}$) 置于 25℃ 的恒温水浴中, 接好前置吸收瓶、反应瓶和 CO_2 吸收瓶, 在气体流量为 $12 \text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ 进行实验, 然后用标准盐酸分别测定出反应 2, 4, 6, 8, 10, 12d 后吸收液中的 CO_2 量.

1.5 分析方法

二氧化碳量采用酸碱滴定法; DOC 采用日本岛津公司产的 TOC 分析测定仪; 混合液悬浮固体 (MLSS)、混合液中挥发性悬浮固体 (MLVSS) 采用重量法测定.

2 结果与讨论

按照上述试验条件, 分别对 32 种不同的芳香化合物生物降解 12d 产生的 CO_2 量进行了测定, 其结果见表 1. 根据表 1 的结果, 对此类化合物好氧生物降解性分类方法及定性结构与生物降解性关系进行一些探讨.

2.1 有机物生物降解性的分类

有机物在好氧微生物的作用下降解生成二氧化碳和水. 一定时间内二氧化碳的产生量可以用来表征有机物生物降解的难易和程度. 产生的 CO_2 量愈多愈容易降解, 反之, 产生的 CO_2 量愈少, 甚至出现负值 (使内源呼吸受到抑制), 则表明愈难降解. 因此, 可以根据有机物降解产生的 CO_2 量对其生物降解性作一定性评价. 此外, 还考虑到以 CO_2 产生量评价有机物的生物降解性可以避免硝化作用、微生物细胞吸附作用和无机还原性物质对测试结果的影响.

一般来说, 接种物经驯化后, 有机化合物生物降解生成的二氧化碳量与生物降解时间的关系, 可用如图 1 所示的三种典型二氧化碳生成量曲线来描述.

表 1 一些芳香化合物生物降解产生的 CO_2 量 ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)Table 1 The production of carbon dioxide of 32 aromatic compounds in biodegradation duration ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)

化合物	PCD	化合物	PCD	化合物	PCD
苯酚	18.32	邻氯酚	5.36	2,4-二甲苯酚	3.01
邻苯二酚	16.30	对氯酚	7.27	2,6-二甲苯酚	4.67
间苯二酚	17.94	邻硝基酚	12.72	3,5-二甲苯酚	14.22
对苯二酚	11.47	对硝基酚	11.02	2,4-二硝基酚	-2.12
间苯三酚	15.32	间乙酰氨基酚	0.73	2,6-二硝基酚	-2.40
邻氨基酚	9.50	2,3-二氯酚	2.00	3-甲基-5-乙基酚	-0.23
间氨基酚	10.44	2,4-二氯酚	1.69	5-亚硝基邻甲酚	2.94
对氨基酚	9.42	2,5-二氯酚	2.06	4-亚硝基间苯二酚	8.94
邻甲酚	8.32	3,4-二氯酚	1.04	2,6-二叔丁基对甲酚	-5.07
间甲酚	8.76	3,5-二氯酚	8.92	2,4,6-三氯苯酚	-2.78
对甲酚	9.00	3,5-二羟基甲苯	13.58		

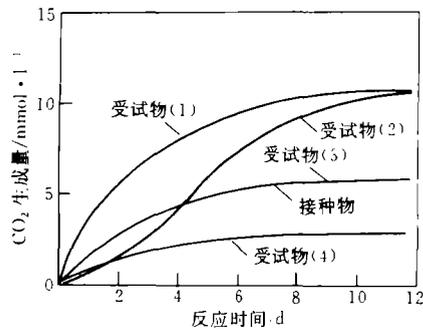


图 1 有机物生物降解过程中几种典型的 PCD 曲线

Fig. 1 Typical PCD curves for description biodegradation of organic compounds

从图 1 可以看出, 不同的受试物生物降解所产生的 CO_2 曲线不同. 受试物 (1) 不需驯化便可被生物降解; 受试物 (2) 需经一段时间的驯化; 受试物 (3) 在反应过程中, 其没有被转化成 CO_2 ; 受试物 (4) 在反应过程中, 不但没有被转化成 CO_2 , 而且对生物有抑制作用. 因此, 可得出受试物经一段时间生物降解所产生的 CO_2 总量大于接种物在这段时间里内源呼吸所产生的 CO_2 总量, 即两者之差大于零, 说明该受试物可被生物降解, 差值愈大, 表明该受试物的生物降解性愈好; 受试物产生的 CO_2 曲线与接种物产生的 CO_2 曲线重合时, 两者之差等于零, 说明该受试物不能被生物降解, 但对生物的生命活动也无抑制作用; 受试物产生的 CO_2 总量小于接种物内源呼吸所产生的 CO_2 总量时, 两者之差为负值, 说明该受试物对生物有抑制作用, 负值的绝对值愈大, 表明抑制作用愈大.

根据上述分析和文献报道^[4-7], 再结合实验结果, 本文提出, 当有机物经 12d 生物降解, 产生的 CO_2 量高于 $8\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, 相当于 CO_2 理论生成量的 48%, 即有机物大部分被矿化成无机物时, 则认为该有机物易生物降解; 而当 CO_2 生成量介于 0 和 $8\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$

之间时,即虽不抑制内源呼吸,但有机物本身降解缓慢,只有较少的一部分被彻底分解,认为该有机物是可生物降解的;而当 CO_2 生成量为负值时,即非但自身难以降解,而且抑制了生物细胞的内源呼吸,则认为该有机物难生物降解.具体归纳如下: CO_2 生成量 $>8\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$,易生物降解; $0<\text{CO}_2$ 生成量 $\leq 8\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$,可生物降解; CO_2 生成量 ≤ 0 ,难生物降解.

按照划分原则,本试验所测芳香化合物的生物降解性能分类如表2所示.

表2 一些芳香化合物生物降解性能的分类*

Table 2 The classification for biodegradability of 32 aromatic compounds

化合物	PCD**	分类	化合物	PCD**	分类
苯酚	18.32	易降解	邻甲酚	8.32	易降解
间苯二酚	17.94	易降解	对氯酚	7.27	可降解
邻苯二酚	16.30	易降解	邻氯酚	5.36	可降解
间苯三酚	15.32	易降解	2,6-二甲基酚	4.67	可降解
3,5-二甲基酚	14.22	易降解	2,4-二甲基酚	3.01	可降解
3,5-二羟基甲苯	13.58	易降解	5-亚硝基邻甲酚	2.94	可降解
邻硝基酚	12.72	易降解	2,3-二氯酚	2.00	可降解
对苯二酚	11.47	易降解	2,5-二氯酚	2.06	可降解
对硝基酚	11.02	易降解	2,4-二氯酚	1.69	可降解
间氨基酚	10.44	易降解	3,4-二氯酚	1.04	可降解
邻氨基酚	9.50	易降解	间乙酰氨基酚	0.73	可降解
对氨基酚	9.42	易降解	3-甲基-5-乙基酚	-0.23	难降解
对甲酚	9.00	易降解	2,4-二硝基酚	-2.12	难降解
4-亚硝基间苯二酚	8.94	易降解	2,6-二硝基酚	-2.40	难降解
3,5-二氯酚	8.92	易降解	2,4,6-三氯苯酚	-2.78	难降解
间甲酚	8.76	易降解	2,6-二叔丁基对甲酚	-5.07	难降解

* 表中难降解表示难生物降解;易降解表示易生物降解;可降解表示可生物降解;

** PCD单位为: $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$.

根据目前一些已知化合物在环境中的残留和生物降解性信息来看,采用上述分类方法,所得的分类结果能够较好地反映有机物的生物降解的难易程度.

2.2 取代基数量对芳香化合物生物降解性的影响

以苯酚为母体,对氯苯酚、2,4-二氯苯酚和2,4,6-三氯苯酚中氯原子的取代数目分别为1,2和3;对甲基苯酚和2,4-二甲基苯酚甲基取代基的取代数目分别为1和2,根据表1的数据可得上述化合物的生物降解图示(见图2).

从图2可以看出,当苯酚取代物上的取代基的数量增加时,其生物降解性随之减弱,对于甲基而言,生物降解性变化不明显,但对于氯原子,随着取代基的增加,则生物降解性明显减小.当加一个至两个氯时,其还可被生物降解;当氯的取代数目增加到三个时,其就难以被生物降解.

2.3 取代基位置和种类对芳香化合物生物降解性的影响

在研究不同取代基对芳香化合物生物降解性的影响时,以往的研究多采用苯为母体,

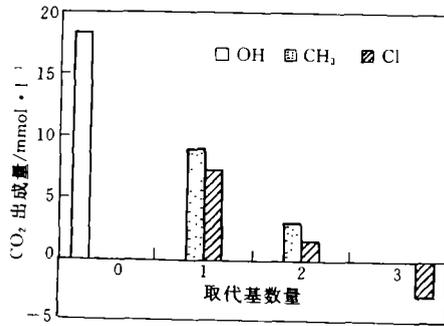


图 2 取代数量对苯酚取代物生物降解性的影响

Fig. 2 Correlation between PCD values and the number of substituent for substituted phenols

本研究以苯酚为母体, 研究了其邻位和对位被不同取代基取代后所产生的生物降解性差异, 结果见图 3 (a) 和 (b). 从图 3 (a), (b) 可以看出, 当苯酚被一个取代基取代时, 其对生物降解影响不很明显. 对不同种类的苯酚一取代物来说, 邻位和对位生物降解性顺序均为: $\text{OH} > \text{NO}_2 > \text{NH}_2 > \text{CH}_3 > \text{Cl}$.

为了进一步研究取代基对芳香化合物生物降解性的影响, 以苯酚为母体, 给出了在母体化合物中分别被两个甲基取代基、硝基取代基和两个氯原子取代后, 有机物生物降解性的差异, 结果见图 3 (c). 从图中可以看出, 当苯酚被两个硝基取代时, 其生物降解性明显减弱. 对于不同种类的二取代苯酚来说, 生物降解性的顺序为: $\text{CH}_3 > \text{Cl} > \text{NO}_2$.

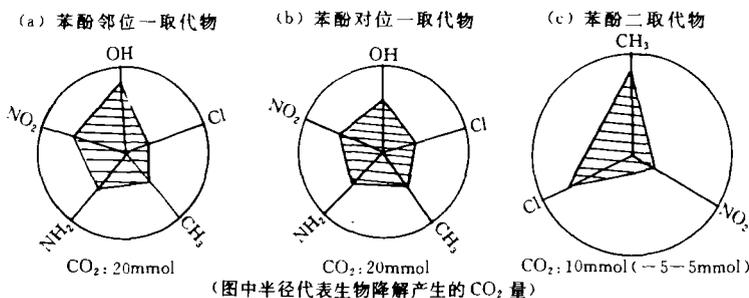


图 3 苯酚的生物降解性图

Fig. 3 Circular diagram of the biodegradability of phenols

3 结论

通过对芳香化合物生物降解性分类指标和定性分析, 可得到以下两点初步结论:

(1) 按有机物生物降解产生的二氧化碳量与生物内源呼吸所产生的 CO₂ 量差值的大小, 可把有机物生物降解的难易程度划分为以下三类 (起始浓度为 $100\text{mgDOC} \cdot \text{l}^{-1}$, 生物降解 12d): CO_2 生成量 $> 8\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, 易生物降解; $0 < \text{CO}_2$ 生成量 $\leq 8\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, 可

生物降解; CO_2 生成量 $\leq 0 \text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, 难生物降解.

(2) 对不同种类的苯酚一取代物来说, 邻位和对位生物降解性顺序均为: $\text{OH} > \text{NO}_2 > \text{NH}_2 > \text{CH}_3 > \text{Cl}$; 对二取代苯酚来说, 生物降解性顺序为: $\text{CH}_3 > \text{Cl} > \text{NO}_2$. 当苯环上的取代基数目增加时, 生物降解性减弱.

定性评估有机物生物降解性不能满足实际的要求, 还必须进行定量的预测, 建立有效的预测模型. 有关此方面的研究将在另外的文章中报道.

参 考 文 献

- [1] Bird P G, The Effect of Nitrification in the BOD Test. *J. Water Pollut. Control*, 1981, **80** : 378
- [2] Hartmann L, The Removal of ABS by Microorganisms. *Biotechnol. Bioeng.*, 1963, **5** : 331
- [3] Urano K, Saito M, Adsorption of Surfactants on Microbiologies. *Chemosphere*, 1984, **13** : 285
- [4] Folsom B R et al. , Comparison of Substituted 2-Nitrophenol Degradation by Enzyme Extracts and Intact Cells. *Environ. Sci. and Technol.* , 1994, **28**(2) : 306-311
- [5] Pitter P, Chudoba J, Biodegradability of Organic Substances in the Aquatic Environment. CRC Press, Boca. Raton, Florida, 1990
- [6] Gibson D T, Microbial Degradation of Aromatic Compounds. *Science*, 1968, **161** : 1093
- [7] Dean P O, Philip H H et al. . Activated Sludge Biodegradation of 12 Commercial Phthalate Esters. *Applied and Environmental Microbiology*, 1985, **49** : 443

1996年1月9日收到.

A STUDY ON BIODEGRADABILITY OF 32 AROMATIC COMPOUNDS

Chen Yongsheng Chen Lixia Yang Jie Zhuang Yuanyi Dai Shugui

(Department of Environmental Science, Nankai University, Tianjin, 300071)

ABSTRACT

The Production of carbon dioxide (PCD) test was used to study biodegradability of aromatic compounds. PCD of 32 aromatic compounds was measured. Based on PCD data and previous researches, the evaluation standard of biodegradability was discussed and biodegradability of 32 aromatic compounds was evaluated qualitatively. In addition, the factors affecting biodegradability of aromatic compounds were also explored.

Keywords: aromatic compound, biodegradability, activated sludge, production of carbon dioxide.