

微生物降解对硝基苯酚的特性分析

周作明 荆国华

(华侨大学材料科学与工程学院, 福建 泉州 362021)

摘要 对驯化微生物处理对硝基苯酚(p -NP)模拟废水进行研究, 考察 p -NP初始浓度、菌种投加量、葡萄糖添加量、溶液pH值、反应温度等因素对 p -NP降解效果的影响. 结果表明, 当 p -NP浓度大于 $125\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 开始表现出对微生物的抑制作用; 当 p -NP浓度增高到 $200\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 后, 微生物降解效果不理想; 而当 p -NP浓度为 $150\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 微生物接种量大于 $2.75\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 可获得最大平均降解速率. 此外, 适量添加葡萄糖, 可促进微生物对 p -NP的降解, 但葡萄糖浓度超过 $0.55\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 以后, 底物竞争会对 p -NP的降解形成抑制. 实验最后得出, 生物降解 p -NP的适宜pH值为 $7.0 \sim 8.0$, 适宜温度范围为 $25 \sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$.

关键词 对硝基苯酚, 废水处理, 生物降解, 驯化微生物

中图分类号 TQ 246.1⁺; X 172; X 703

文献标识码 A

难降解有毒有机污染物的有效处理, 一直是环境领域研究的热点, 目前广泛应用和研究的方法主要有3种: 化学还原氧化法^[1]、吸附萃取法^[2]和生化法^[3]. 其中, 生化法因具有成本低、应用范围广、环境友好等特点, 成为废水处理发展的主要趋势. 对硝基苯酚(p -NP)是广泛应用化工原料, 但其毒性强, 难于降解, 被列为世界“环境优先控制有毒有机污染物”名单前列. 本文在培养驯化特性微生物的基础上, 考察主要工艺参数对微生物降解 p -NP的影响, 为该方法的工业应用提供基础数据.

1 材料与方法

1.1 试剂

对硝基苯酚(纯度 $\geq 99.5\%$), 葡萄糖(纯度 $\geq 99.5\%$), 其他试剂均为分析纯.

1.2 微生物的驯化与保存

基础培养基的组成($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): $5\ 000\text{ NaCl}$, 500 MgSO_4 , $5\ 750\text{ NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $3\ 000\text{ KH}_2\text{PO}_4$. 接种用活性污泥取自某炼油厂污水处理车间的曝气池, 取下层污泥 20 mL 接种于含 100 mL 基础培养液的培养瓶中, 置于 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴摇床中振荡培养, 摇床转速为 $150\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$. 驯化时, 以 p -NP为唯一碳源, 逐步提高其浓度, 培养液pH值控制在 $6.5 \sim 7.5$, 同时设置空白对照实验. 培养后的微生物经离心分离洗涤, 用pH值为 7.0 的磷酸盐缓冲液配成一定浓度的菌液, 置于 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存.

1.3 p -NP生物降解实验

配制一定 p -NP浓度的模拟废水置于 250 mL 培养瓶中, 添加一定量的驯化微生物. 根据实验条件, 调节溶液pH值和反应温度, 置于上述恒温摇床中进行 p -NP的生物降解实验, 每隔一定时间取样分析培养瓶中 p -NP浓度(C)和微生物量(M), 同时, 设置不加微生物的空白实验进行对照.

1.4 分析方法

(1) 微生物量的测定. 通过测定菌液在 580 nm 波长下的光密度(OD值), 根据其OD值和微生物干重的线性关系换算得到微生物量(M). (2) p -NP浓度的测定. 采用紫外分光光度法, 取样后加入掩蔽剂, 调节pH值, 分别在波长 317 nm , 酸性条件($\text{pH} = 3 \sim 4$), 或在波长 400 nm , 碱性条件($\text{pH} = 11$)下, 以空白样为参照, 测定其吸光强度. 其最佳测量范围为 $0 \sim 10\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 浓度过高时, 可采用稀释法^[4].

收稿日期 2005-12-22

作者简介 周作明(1975), 男, 讲师, 主要从事环境生物技术的研究. E-mail: zhoujing@hqu.edu.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

2 结果与讨论

2.1 微生物的驯化

以 p -NP 为驯化微生物的唯一碳源, 驯化结果如图 1 所示. 图 1 中, 曲线 1, 2 分别为未添加和添加

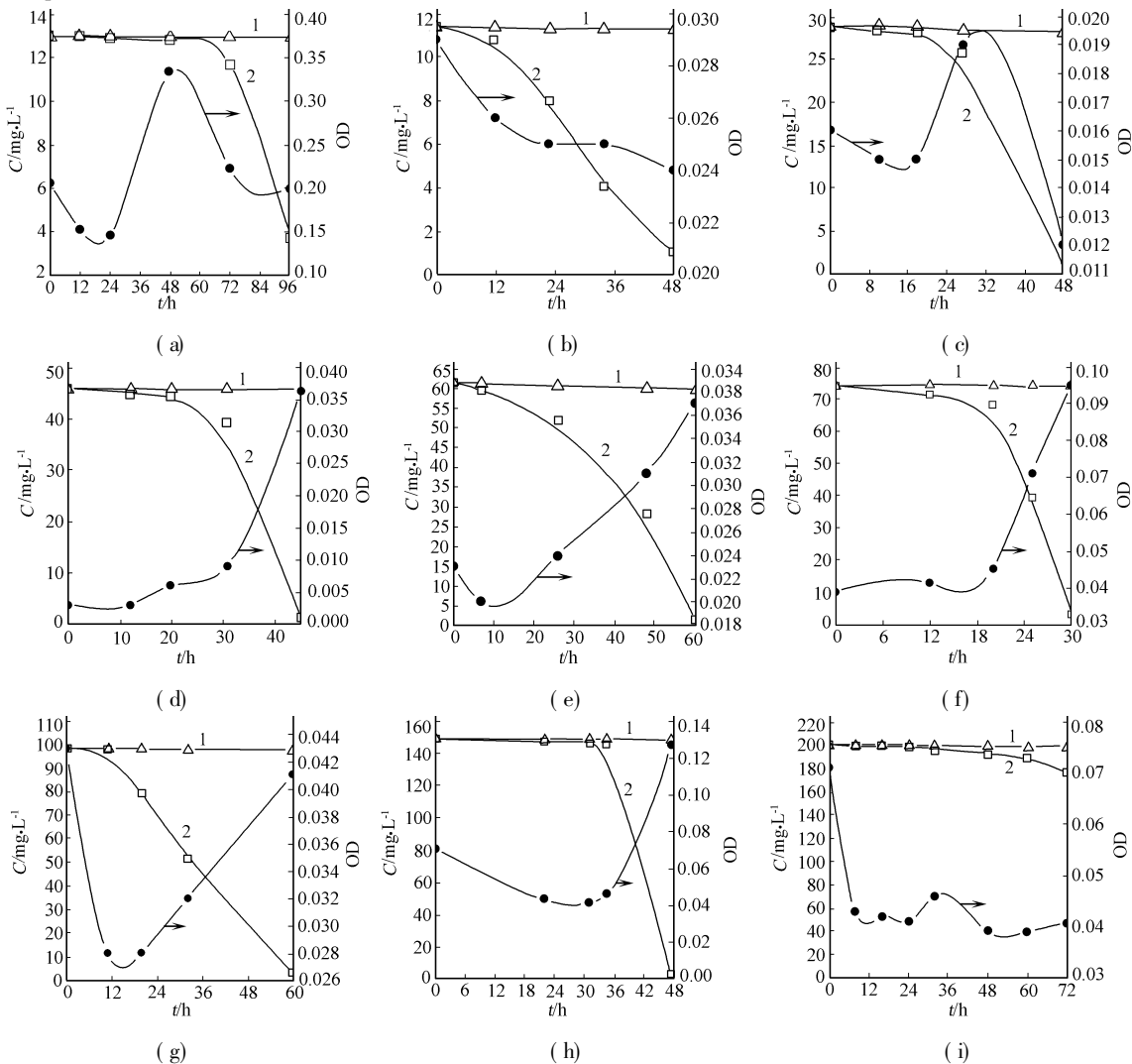


图 1 各个浓度下微生物驯化曲线

微生物水样. 从图 1 可以看出, 初次驯化时, 微生物的适应期较长, 在 p -NP 浓度(C)为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的模拟废水中, 近 3 d 后才开始降解; 再次驯化时, 其适应期显著缩短, 约 0.5 d 即开始发生降解. 随后逐步提高 p -NP 浓度, 微生物均表现出了一定的适应周期, 且在降解过程中, 微生物生长量大量增加, 但当 p -NP 浓度达到 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后, 微生物适应期显著延长, 生物量也开始减少. 此时, p -NP 表现出了对微生物的毒害特性.

2.2 微生物降解 p -NP 的最大浓度

芳香类有机物通常在低浓度时被生物降解, 但浓度较高时, 则表现出对微生物的强烈毒性^[5]. 为考察微生物最大降解浓度, 分别配制 p -NP 浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 为 50, 75, 100, 125, 150, 175 和 200 的模拟水样, 取 150 mL 水样于 250 mL 培养瓶中, 补充相应的无机营养盐, 并加入 0.01 g 菌种, 控制水样 pH 值在 7.0 左右. 将以上各个培养瓶置于 $35.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴摇床中培养, 反应 34.5 h 后测定 p -NP 浓度, 得出不同初始浓度下 p -NP 的平均降解速率 u , 如图 2 所示. 从图 2 可以看出, 当 p -NP 浓度较低时, u 随基质浓度的提高而增大; 在 p -NP 初始浓度为 $125\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, u 达到最

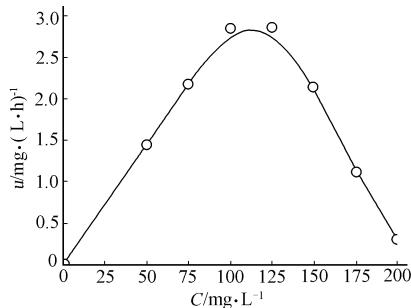


图 2 不同初始 p -NP 浓度下
平均降解速率

大值 $2.86 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$; 但当 $p\text{-NP}$ 浓度继续提高时, u 反而下降, 可见, $p\text{-NP}$ 在高浓度条件下对微生物降解作用有抑制, 当 $p\text{-NP}$ 浓度达到 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 微生物降解作用被明显抑制. 可见, 高浓度下 $p\text{-NP}$ 较难为微生物所降解, 同时还会对微生物产生毒害作用. 如果有效控制进水的 $p\text{-NP}$ 浓度 (小于 $175 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 并保持较长的水力停留时间 (大于 24 h), 采用微生物降解 $p\text{-NP}$ 是完全可行的. 实验中的 $p\text{-NP}$ 浓度均采用 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

2.3 微生物的最佳投加浓度

生物降解过程中, 微生物量对于污染物降解时间有着重要的指导意义. 微生物浓度越低, 达到一定处理效果所需时间越长; 而微生物浓度过高, 由于受到包括溶解氧等其他条件的限制, 化合物降解速率不再上升. 为考察这方面的影响, 分别取 150 mL 模拟水样置于含不同菌种量的各个培养瓶中, 置于上述恒温摇床反应. 30 h 后, 测定反应液中 $p\text{-NP}$ 浓度和微生物 OD 值, 得到平均降解速率 u 和微生物投加量 M 之间的关系, 如图 3 所示. 由图 3 可知, M 在 $0 \sim 2.68 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, u 和 M 呈线性关系, 可表示为 $u = 2.2147 \times M^{0.9113}$; 但当 M 超过 $2.68 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 后, u 不再随 M 的增加而增加.

2.4 不同葡萄糖投量下 $p\text{-NP}$ 的降解

在较高浓度的 $p\text{-NP}$ 下, 对微生物会产生毒害作用, 导致微生物浓度下降, 不利于降解反应, 此时投加适量易降解基质可促进微生物的增殖, 有利于难降解有机物的降解^[6]. 因此, 实验在葡萄糖投加量 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 分别为 $0, 0.10, 0.40, 0.55, 0.70$ 和 0.85 (分别对应图 4 中曲线 1~6) 时, 考察了微生物对 $p\text{-NP}$ 的降解, 菌种投加量为 0.01 g , 间隔一定时间测定 $p\text{-NP}$ 的浓度和微生物 OD 值, 得到不同葡萄糖投加量下 $p\text{-NP}$ 的降解曲线, 如图 4 所示. 图 4 中, 曲线 7 为未添加微生物的水样. 从图 4 中可知, 处理相同浓度 $p\text{-NP}$ 时, 投加适量葡萄糖可获得较快的降解速率. 当葡萄糖的投加量小于 $0.55 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, $p\text{-NP}$ 的去除速率随水样中葡萄糖浓度的增加而增加; 当葡萄糖的投加量超过 $0.55 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 以后, 葡萄糖浓度的增加不但不会提高平均降解速率; 相反地, 会降低其速率. 这是由于 $p\text{-NP}$ 对微生物的致毒作用, 使得微生物在大量葡萄糖存在下优先降解葡萄糖的缘故. 说明了葡萄糖对微生物降解 $p\text{-NP}$, 具有协同作用和底物竞争关系, 适量葡萄糖的存在可以提高微生物对 $p\text{-NP}$ 的耐受浓度.

2.5 不同 pH 值下 $p\text{-NP}$ 的降解

微生物的生化反应是在酶的催化作用下进行的, 酶是具有离解基团的两性电解质, pH 值对微生物生长繁殖的影响体现在酶的离解过程中. 此外, 酶的催化作用还取决于基质的电离状况, pH 值对基质电离状况的影响, 也会影响到酶的催化活性. 因此, 溶液 pH 值的波动会对微生物种群产生较大影响. 取 22.5 mL 的 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} p\text{-NP}$ 贮备液于 250 mL 培养瓶中, 加入 127.5 mL 培养液, 菌种投加量为 0.01 g , 分别调节 pH 值至 $6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0$ 和 8.5 . 置于上述培养摇床中培养, 定时测定溶液 $p\text{-NP}$ 浓度和微生物 OD 值, 得到不同 pH 值下 $p\text{-NP}$ 的降解曲线, 如图 5 所示. 从图 5 可看出, 在 pH 值为 $6.0, 6.5$ 时, $p\text{-NP}$ 的去除速率明显低于 pH 值为 7 时的速率; 而在 pH 值为 $7.0, 7.5, 8.0$ 时, $p\text{-NP}$ 的去除速率没有太明显的区别, 进一步提高 pH 值, 反而会使

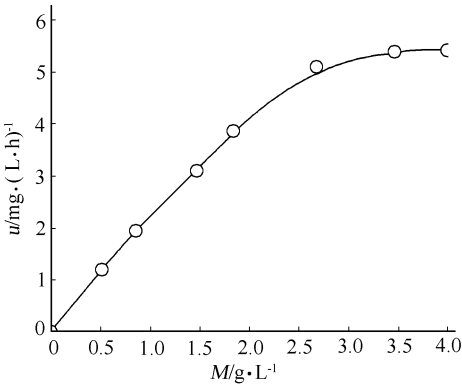


图 3 不同微生物投加量的影响

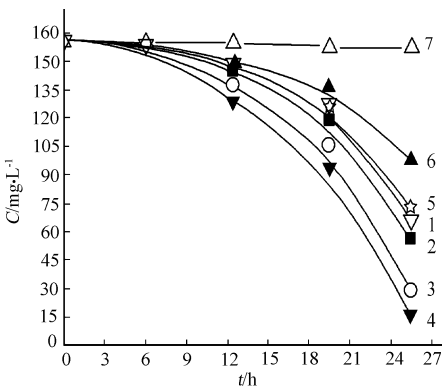


图 4 葡萄糖投加量对 $p\text{-NP}$ 降解的影响

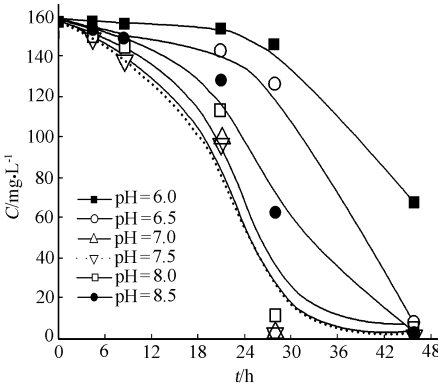


图 5 不同 pH 值对 $p\text{-NP}$ 降解的影响

降解效果下降. 由此可见, 当 pH 值处于 7.0~8.0 之间时, 最有利于微生物降解 *p*-NP.

2.6 不同温度下微生物对 *p*-NP 的降解

温度对微生物具有广泛的影响, 总体上说, 微生物的全部降解过程都取决于化学反应, 反应速率都受温度的影响. 在最适生长温度范围内, 反应温度升高, 平均降解速率随之增加. 在溶液 pH 值为 7.0, 其余条件不变时, 考察温度(℃)分别为 20, 25, 30, 35 和 40(分别对应图 6 中曲线 1~5)时, 微生物对 *p*-NP 的降解情况, 如图 6 所示. 从图 6 可以看出, 当温度低于 35℃时, 随着温度的上升, *p*-NP 降解效果增强; 但当进一步提高反应温度, 降解受到显著抑制, 微生物降解 *p*-NP 的最适环境温度范围为 30~35℃.

3 结束语

(1) 在一定浓度范围内, *p*-NP 废水可通过好氧生化法进行处理. 当 *p*-NP 浓度大于 $125\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 表现出对微生物的抑制作用; 而当 *p*-NP 浓度高于 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 微生物的处理效果不理想. (2) 微生物浓度低于 $2.75\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, *p*-NP 的平均降解速率与微生物浓度之间呈正相关关系, 但进一步增大微生物浓度, 对 *p*-NP 平均降解速率的促进不明显. (3) 处理过程中向废水中投加适量的葡萄糖, 有利于 *p*-NP 的微生物降解, 但投量过多, 由于底物竞争关系, 使 *p*-NP 的降解受到抑制. (4) pH 值和温度对 *p*-NP 的微生物降解具有较大影响, 在 pH 值为 7.0~8.0, 温度为 20~35℃范围内, 微生物降解能力最强.

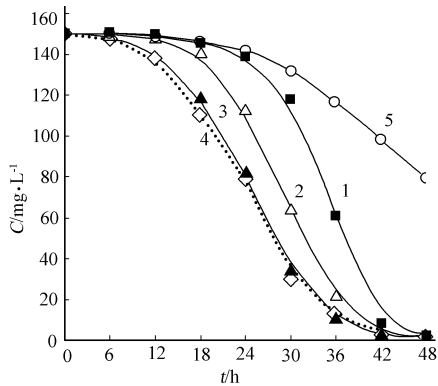


图 6 温度影响曲线

参 考 文 献

- 1 刘洪禄, 张爱茜. 氧化亚铜光催化降解对硝基苯酚[J]. 环境化学, 2004, 23(5): 490~494
- 2 陈宝梁, 朱利中. 阴/阳离子有机膨润土吸附水中对硝基苯酚的性能及机理研究[J]. 浙江大学学报(理学版), 2002, 29(3): 317~323
- 3 陈世年. 焦化废水活性污泥中微生物生态学研究[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 1994, 15(2): 217~219
- 4 郭坤梅, 邓友军. 紫外分光光度法测定对硝基苯酚的适宜条件的探讨[J]. 环境污染与防治, 1998, 20(1): 47~49
- 5 王建龙, 文湘华. 现代环境生物技术[M]. 北京: 清华大学出版社, 2001. 287~300
- 6 Haby P A, Crowley D E. Biodegradation of 3-chlorobenzoate as affected by rhizodeposition and selected carbon substrates[J]. J Environ Quality, 1996, 25(2): 304~310

Study on the Properties of Microbial Degradation of *p*-Nitrophenol

Zhou Zuoming Jing Guohua

(College of Material Science and Engineering, Huaqiao University, 362021, Quanzhou, China)

Abstract The effect of the initial concentration of *p*-nitrophenol, biomass inoculation, the adding amount of glucose, pH and temperature on the degradation of *p*-nitrophenol by the cultivated microorganisms were investigated in the flask culture experiments. The results showed that substrate inhibition appeared when the concentration of *p*-nitrobenzopheol was higher than $125\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, and the bio degradation was suppressed when *p*-nitrophenol concentration reached $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The maximal degradation rate was achieved when the biomass inoculation was more than $2.75\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ with an initial *p*-nitrophenol concentration of $150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The bio degradation of *p*-nitrophenol could be accelerated with the addition of certain amount of glucose (less than $0.55\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$). The bio reduction could be achieved efficiently in the temperature range of 25~35℃ and a pH range of 7.0~8.0.

Keywords *p*-nitrophenol, wastewater treatment, bio degradation, cultivated microorganism