

李海翔,徐晓茵,梁郡,等.2012.氢基质自养微生物还原降解水中对氯硝基苯的研究[J].环境科学学报,32(10):2394-2401

Li H X, Xu X Y, Liang J, et al. 2012. Study on reductive degradation of *para*-chloronitrobenzene in water by autohydrogenotrophic microorganisms[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 32(10):2394-2401

氢基质自养微生物还原降解水中对氯硝基苯的研究

李海翔^{1,2,*}, 徐晓茵², 梁郡², 夏四清²

1. 桂林理工大学环境科学与工程学院, 桂林 541004

2. 同济大学环境科学与工程学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092

收稿日期:2011-12-09

修回日期:2012-01-13

录用日期:2012-01-20

摘要:将中空纤维膜微孔曝气和生物膜工艺结合设计出一种新型的水处理工艺——氢基质生物膜反应器(MBfR),其中,中空纤维膜为自养微生物的生长载体,还可作为扩散装置使氢气均匀扩散至生物膜中。同时,对氢基质自养微生物还原降解水中对氯硝基苯(*p*-CNB)的可行性、还原机理和去除效果进行了研究,并分析了共存的硝酸盐(NO_3^- -N)和硫酸盐(SO_4^{2-})对*p*-CNB还原产生的影响。结果表明,MBfR生物膜中氢自养微生物能有效利用氢气为电子供体生物转化*p*-CNB,其中,*p*-CNB经硝基还原生成对氯苯胺(*p*-CAN),*p*-CAN再通过还原脱氯生成低毒的终产物苯胺(AN)。经过长期运行,MBfR对进水 $500\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2000\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的*p*-CNB具有稳定高效的生物降解性能,*p*-CNB去除率和去除通量最高达到96.9%和 $0.056\ \text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ 。通过投加 NO_3^- -N和 SO_4^{2-} 发现,*p*-CNB还原速率随 NO_3^- -N和 SO_4^{2-} 浓度升高而降低,表明*p*-CNB还原受到 NO_3^- -N和 SO_4^{2-} 的抑制。 NO_3^- -N和 SO_4^{2-} 对*p*-CNB还原产生的抑制主要与对电子供体(氢气)的强烈竞争和还原产物对脱氯微生物的毒性有关。电子通量分析进一步表明,反硝化或 SO_4^{2-} 还原消耗更多的电子,当氢气利用率受限制时将*p*-CNB还原产生强烈的电子供体竞争性抑制。

关键词:氢基质自养微生物;氢基质生物膜反应器;生物还原;对氯硝基苯

文章编号:0253-2468(2012)10-2394-08

中图分类号:X703

文献标识码:A

Study on reductive degradation of *para*-chloronitrobenzene in water by autohydrogenotrophic microorganisms

LI Haixiang^{1,2,*}, XU Xiaoyin², LIANG Jun², XIA Siqing²

1. College of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541004

2. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092

Received 9 December 2011;

received in revised form 13 January 2012;

accepted 20 January 2012

Abstract: Hydrogen-based membrane biofilm reactor (MBfR) that combines hollow fiber aeration and biofilm process is a novel water treatment technology, in which the hollow fibers serves as a growth-support medium for autohydrogenotrophic microorganisms and as a diffusion unit to supply hydrogen gas to the biofilm without bubble formation. The feasibility, reduction mechanism and performance of *para*-chloronitrobenzene (*p*-CNB) degradation, and the effects of nitrate (NO_3^- -N) and sulfate (SO_4^{2-}) on *p*-CNB degradation were systemically investigated. The results showed that *p*-CNB can be firstly reduced to *para*-chloraniline (*p*-CAN) and subsequently dechlorinated to aniline (AN) by the biofilm with hydrogen as an electron donor. The MBfR could achieve a maximum removal percentage of 96.9% and removal *p*-CNB flux of $0.056\ \text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ when the influent *p*-CNB concentrations were $500\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $2000\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Bioreduction of *p*-CNB declined with the increasing influent concentrations of nitrate and sulfate, and this indicated that *p*-CNB bioreduction was inhibited by denitrification and sulfate reduction. The inhibition on *p*-CNB caused by nitrate or sulfate was mainly attributed to the competition for hydrogen as the electron donor and the toxicity of denitrification or sulfate reduction byproducts for dechlorinating bacteria. Analysis of electron-equivalent fluxes further revealed the strong hydrogen competition inhibition on *p*-CNB bioreduction when the hydrogen availability was limited for denitrification or sulfate reduction consuming more electrons.

Keywords: autohydrogenotrophic microorganisms; hydrogen-based membrane biofilm reactor; bioreduction; *para*-chloronitrobenzene (*p*-CNB)

基金项目: 国家自然科学基金(No. 50978190);国家高技术研究发展计划(No. 2009AA062902)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 50978190) and the National High Technology Research and Development Program of China (No. 2009AA062902)

作者简介: 李海翔(1984—),男,讲师,E-mail: lihaixiang0627@163.com; * 通讯作者(责任作者)

Biography: LI Haixiang (1984—), male, lecturer, E-mail: lihaixiang0627@163.com; * **Corresponding author**

1 引言 (Introduction)

氯代硝基苯 (Chloronitrobenzenes) 是一类含氯含硝基的芳香烃化合物, 被广泛用作医药、染料和农药生产的中间体, 而且我国是世界上邻、对氯硝基苯产量和消费最大的国家之一 (梁诚, 2010). 氯代硝基苯苯环上同时具有硝基和氯原子, 由于两者的吸电子特性导致其很难被微生物降解, 故环境中存在的氯代硝基苯一般归类为持久性有机污染物 (Park *et al.*, 1999; Wu *et al.*, 2006). 对氯硝基苯 (*p*-CNB) 是氯代硝基苯中毒性最大的异构体, 能引起人类和哺乳动物的高铁血红蛋白症并具有致癌作用 (Weisburger *et al.*, 1978). 近年来, 我国地表水中已广泛检测到 *p*-CNB 的存在, 且靠近一些化工厂附近的湖泊或河流中的 *p*-CNB 浓度达到 $0.01 \sim 3.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (申献辰等, 1997; 徐根良等, 1999; 孙润泰等, 2002; 张丽萍等, 2007). 我国对地表水和饮用水中 *p*-CNB 的浓度已做出严格规定, 两种情形下的标准限值分别为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (Shen *et al.*, 2008).

目前, 国内外对硝基苯和氯代苯类有机物的生物降解已有较多报道 (李明堂等, 2010; 马溪平等, 2010), 但对 *p*-CNB 的生物降解研究极少. 在好氧条件下 *p*-CNB 苯环裂解较为困难, 而在厌氧或还原条件下则相对容易被微生物还原为无毒或低毒的产物. 研究表明, 厌氧条件下微生物能利用电子供体使氯代硝基苯发生还原性转化, 即硝基还原和还原脱氯作用, 产生低毒和易生化降解的苯胺类 (Heijman *et al.*, 1993; Susarla *et al.*, 1996). 氢气作为一种无毒、廉价、无二次污染的无机电子供体, 已经广泛运用于修复氯代苯类污染的地下水工程中 (Deweerd *et al.*, 1991). 因此, 微生物利用氢气作为电子供体生物还原 *p*-CNB 是一种潜在可行的去除途径.

氢基质生物膜反应器 (MBfR) 是一种将微孔中空纤维膜曝气和生物膜技术结合起来的新颖水处理工艺, 它利用中空纤维膜为自养微生物的生长载体, 同时利用微孔使氢气均匀扩散至生物膜中 (Ergas *et al.*, 2001; Nerenberg *et al.*, 2004; Xia *et al.*, 2009). 与传统的外源供氢相比, 该反应器中氢气在生物膜中传质的主要推动力为生物膜中生物还原过程耗氢而形成的浓度梯度, 并可强化气液

传质, 提高氢气利用效率, 避免反应器因氢气积累而发生爆炸的危险 (Lee *et al.*, 2002; Nerenberg *et al.*, 2004; Rittmann, 2006). 这种新型生物膜反应器能有效去除饮用水或地下水中的氧化性物质 (Nerenberg *et al.*, 2004). 因此, 本文利用氢基质生物膜反应器对 *p*-CNB 的生物降解展开研究, 系统考察氢自养微生物降解 *p*-CNB 的还原机理、影响因素及氢气可利用率竞争关系, 以期为 *p*-CNB 的去除研究提供新思路, 同时也为更有效地去除污水或饮用水中含有的氯代硝基苯类化合物提供理论依据和数据支持.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 氢基质生物膜反应器

本研究所用装置为连续搅拌式氢基质生物膜反应器 (CS-MBfR), 具体如图 1 所示. 反应器主体由有机玻璃筒体、磁力搅拌装置、进出水及供氢管路系统组成. 反应器底部和上部分别设置进水口和出水口. 进水通过蠕动泵从底部进水口泵入, 出水通过上部出水口靠重力流出反应器. 出水管线上设置气体取样口, 目的是收集出水中逸出的氢气. 有机玻璃筒体内含两束中空纤维膜组件, 分别固定在筒体的两个末端, 作为生物膜的附着载体和氢气扩散装置. 底部的磁力搅拌装置能产生足够的螺旋剪切力, 使反应器中的液体保持混合均匀的状态. 反应器膜组件采用的中空纤维膜为疏水性 PVC 材质, 具有微小膜孔和较大的比表面积. 反应器的物理特征参数见表 1.

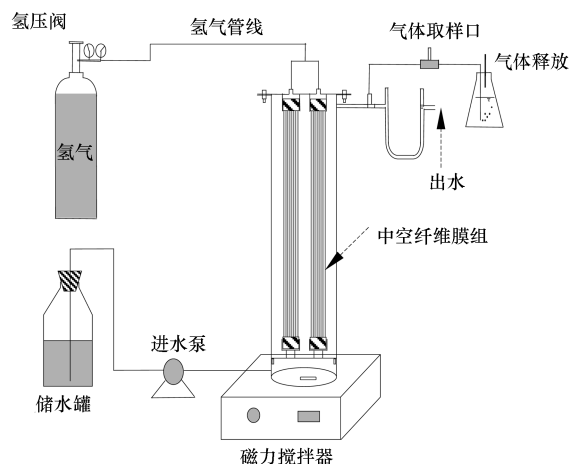


图 1 连续搅拌式氢基质生物膜反应器示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the lab-scale CS-MBfR

表1 氢基质生物膜反应器的物理特征参数

Table 1 Physical characteristics of the MBfR system

参数	单位	数值
反应器高	cm	24
反应器内径	cm	7
中空纤维膜根数	根	132
膜内径	cm	0.085
膜外径	cm	0.15
膜表面积	cm ²	990
比表面积	m ⁻²	113.1
空隙率		95.8%
进水流量	mL·min ⁻¹	2
反应器有效容积	cm ³	625
水力停留时间	h	5.2

2.2 模拟配水

实验用水为人工配水,其中以 NaHCO₃ 为无机碳源,NaNO₃为无机氮源,同时含有营养元素以满足微生物生长代谢.模拟配水具体成分及浓度见表2.

表2 模拟配水营养成分

Table 2 Composition of the feed medium

大量元素	浓度 /(mg·L ⁻¹)	微量元素	浓度 /(mg·L ⁻¹)
NaNO ₃	6	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.013
KH ₂ PO ₄	128	H ₃ BO ₃	0.038
MgSO ₄ ·7H ₂ O	200	CuCl ₂ ·2H ₂ O	0.001
FeSO ₄ ·7H ₂ O	1	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.004
NaHCO ₃	80	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.004
Na ₂ HPO ₄	434	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025
CaCl ₂ ·2H ₂ O	1	NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.001
		Na ₂ SeO ₃	0.004

表3 MBfR 还原降解 p-CNB 的实验运行条件

Table 3 Experimental conditions of p-CNB degradation in the MBfR

时间 /d	进水 p-CNB /(μg·L ⁻¹)	进水 NO ₃ ⁻ -N /(mg·L ⁻¹)	进水 SO ₄ ²⁻ /(mg·L ⁻¹)	氢气压力 /MPa
1 ~ 30	500	5	—	0.04
31 ~ 75	2000	5	—	0.04
76 ~ 110	2000	20	—	0.04
111 ~ 140	2000	20	50	0.04

2.5 分析方法

水样中 NO₃⁻-N、NO₂⁻-N、SO₄²⁻ 和 Cl⁻ 浓度采用离子色谱法测定(戴安 ICS-1000, AS-19 分析柱). 溶解性硫化物(S²⁻)采用对氨基二甲基苯胺分光光度法检测. 对氯硝基苯(p-CNB)、对氯苯胺(p-CAN)和

当进行正式实验时,添加目标污染物质来模拟特种污染水样. 模拟实验用水贮存在 10 L 的棕色玻璃瓶中,进水前通入氮气以去除进水中的溶解氧. 模拟进水中的 KH₂PO₄ + Na₂HPO₄ 作为缓冲介质,以保持进水 pH 值在 7.2 左右,并防止还原过程中 pH 值过度升高.

2.3 MBfR 启动与驯化

反应器中接种污泥为取自实验室另一处理硝酸盐(NO₃⁻-N)废水的氢基质生物膜反应器膜表面的生物膜(Xia *et al.*, 2009). 收集的生物膜与无菌水混合后,高速离心 10 min(7000 g, 4 °C),经悬浮分离后接种至反应器中开始挂膜. 保持氢气压力 0.04 MPa,进水 NO₃⁻-N 浓度 5 mg·L⁻¹(以 N 计),进水流量 1.2 mL·min⁻¹,以培养生物膜. 经过一段时间驯化后,反硝化速率稳定且出水 NO₃⁻-N 浓度为零,膜组件外表面聚集一层黄褐色的生物固体,此时认为反应器挂膜完成.

2.4 MBfR 还原降解 p-CNB 的运行条件

反应器挂膜后,进水流量调成 2.0 mL·min⁻¹,正式进入 p-CNB 还原降解阶段. 进水中添加 p-CNB 的浓度为 500 μg·L⁻¹,NO₃⁻-N 浓度为 5 mg·L⁻¹,pH 为 7.2,维持氢气压力为 0.04 MPa. 当 p-CNB 还原速率达到稳定后,提高进水 p-CNB 浓度至 2000 μg·L⁻¹,其它运行参数不变. 当 p-CNB 还原和反硝化速率再次达到稳定状态,分别在不同阶段提高进水 NO₃⁻-N 浓度至 20 mg·L⁻¹和添加硫酸盐(SO₄²⁻, 50 mg·L⁻¹),以此考察 NO₃⁻-N 和 SO₄²⁻ 对 p-CNB 还原的影响. 各运行阶段的条件及参数见表 3.

苯胺(AN)均通过高效液相色谱法测定(HPLC, Agilent 1200). HPLC 测定参数如下,分析柱: Polaris C18(5 μm, 4.6 mm × 250 mm, 25 °C); 流动相: 乙腈/水 = 60/40(V/V); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测器: 紫外检测(254 nm). HPLC 对 p-CNB、p-CAN 和 AN

的检测限分别为 16.8、11.3 和 27.4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。出水中溶解性氢气浓度根据顶空法和亨利系数间接测定 (Tchobanoglous *et al.*, 1991)。采集 5 mL 水样密封至已用氮气排空的 20 mL 血清瓶中, 上机测试前手动轻摇 2 min 让液体中溶解的氢气释放至顶空中。顶空中的氢气体积浓度采用气相色谱-质谱联用仪 (Shimadzu GC 14-B) 测定。

3 结果与讨论 (Results and discussion)

3.1 反应器内自养微生物对 *p*-CNB 的还原降解

经过反应器初期挂膜后, 正式进入 *p*-CNB 还原降解实验阶段 (共运行 140 d), 具体实验结果见图 2。运行初期, 反应器进水 *p*-CNB 浓度为 500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (表面负荷 0.015 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$), NO_3^- -N 浓度为 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 氢气压力为 0.04 MPa。由于反应器反硝化效果良好, 出水中 NO_3^- -N 无法检出, 同时也无 NO_2^- -N 积累。*p*-CNB 被投加至进水后迅速降解, 3 d 内 *p*-CNB 浓度降低至 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下。随运行时间延长, *p*-CNB 不断被生物降解, 出水浓度持续降低, 至 30 d 时 *p*-CNB 浓度为 21 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 去除率高达 95.8% (去除通量为 0.014 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$)。伴随着 *p*-CNB 浓度降低, 出水中不断检测出 *p*-CAN 存在, 且出水 *p*-CAN 浓度呈先升高后降低的趋势 (第 10 d 时为最高 111

$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 结果表明, *p*-CNB 已被微生物还原生成 *p*-CAN。从第 10 d 起, 出水 *p*-CAN 浓度不断降低, 且出水 AN 浓度明显地增加, 结果证实 *p*-CAN 的降解产物为 AN。经过 30 d 的运行, 反应器对 *p*-CNB 还原降解速率达到稳定状态。

为进一步考察 *p*-CNB 表面负荷对反应器降解性能的影响, 第 31 d 时提高进水 *p*-CNB 浓度至 2000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (表面负荷 0.058 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$)。从图 2 可以看出, 提高进水负荷之后, *p*-CNB 仍有较大的还原速率, 经过 3 d 的运行, 至 34 d 时出水 *p*-CNB 浓度降低至 371 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 此时出水 *p*-CAN 和 AN 浓度分别为 245 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 61 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。随着反应器运行, 出水 *p*-CAN 和 AN 浓度呈现与前一阶段相似的变化趋势, 但 *p*-CAN 和 AN 浓度增加或降低的幅度更大, 可能与进水 *p*-CNB 浓度明显升高有关。运行至 75 d 时, 反应器出水 *p*-CNB 浓度逐步稳定至 63 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (去除通量 0.056 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$, 去除率 96.9%), 还原速率为 8.91 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$, 高于第 30 d 时的还原速率 2.20 $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$, 说明反应器对 2000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 *p*-CNB 仍有较好的降解性能。上述结果表明, 在给定的运行条件下, 提高进水 *p*-CNB 负荷至 0.058 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ 对反应器的运行性能并无明显影响, 也说明反应器对较高浓度 *p*-CNB 有一定的去除潜力。

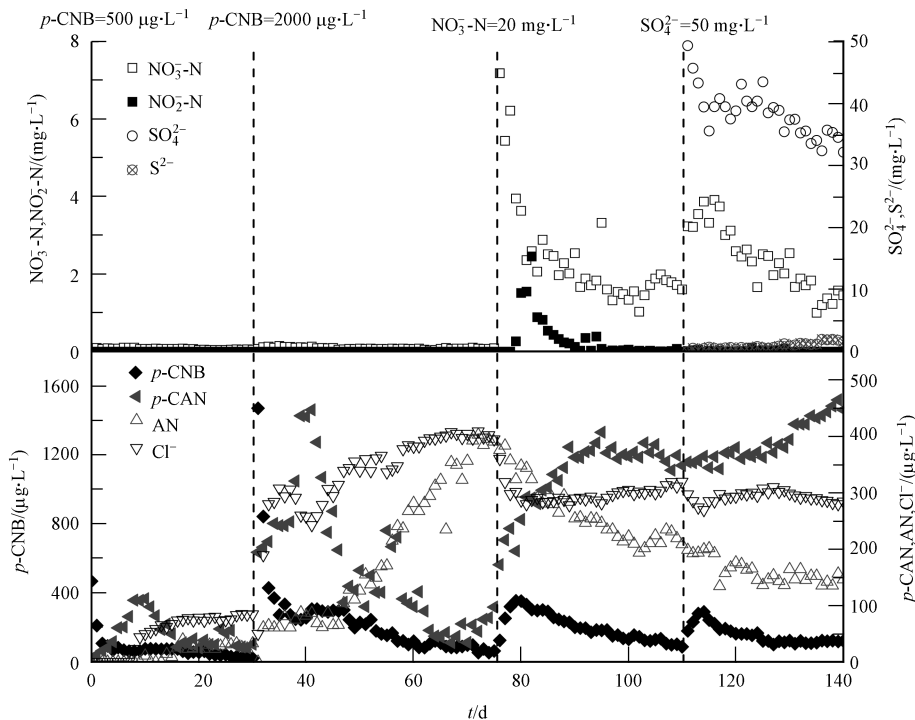


图 2 反应器出水中 NO_3^- -N、 NO_2^- -N、 SO_4^{2-} 、 S^{2-} 、*p*-CNB、*p*-CAN、AN 和 Cl^- 的浓度变化

Fig. 2 Effluent concentrations of NO_3^- -N, NO_2^- -N, SO_4^{2-} , S^{2-} , *p*-CNB, *p*-CAN, AN and Cl^- in the MBfR

第 76 d 时,进水 NO_3^- -N 浓度由 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加至 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,其它运行条件与前一阶段保持一致.从图 3 可以看出, NO_3^- -N 投加以后被迅速转化成 NO_2^- -N,并伴随有 NO_2^- -N 的积累过程.本阶段运行后期,出水 NO_3^- -N 浓度基本降低至 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下,且 NO_2^- -N 浓度无法检出.提高进水 NO_3^- -N 浓度,出水 p -CNB 浓度有一上升趋势(由 $125 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 增大至 $353 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$),表明 NO_3^- -N 浓度增加对 p -CNB 还原成 p -CAN 有抑制作用.还可以看出,出水 p -CAN 浓度持续上升,继而表明 p -CAN 降解速率亦受到 NO_3^- -N 的影响.出水 Cl^- 和 AN 浓度的变化趋势也间接表明 p -CAN 的还原降解受到 NO_3^- -N 抑制.第 111 d 时,进水中投加 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SO_4^{2-} , NO_3^- -N 浓度仍保持 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,其它运行条件不变.可以看出,投加 SO_4^{2-} 之后, p -CNB、 p -CAN 和 AN 的变化趋势与增大进水 NO_3^- -N 浓度时的变化趋势相似.值得注意的是, NO_3^- -N 和 SO_4^{2-} 的双重抑制对 p -CAN 还原成 AN 的影响更加明显,即 p -CAN 浓度持续上升和 AN 浓度进一步降低,而对 p -CNB 还原成 p -CAN 的影响相对平缓.综上所述, NO_3^- -N 和 SO_4^{2-} 的还原对 p -CNB 还原降解具有抑制作用.

3.2 p -CNB 的生物转化机理

当 p -CNB 投加至反应器进水中以后,自养微生物利用氢气(电子供体)和 p -CNB(电子受体)进行呼吸作用,使 p -CNB 被逐步生物还原成 AN(图 3).实验进行中, p -CAN 作为中间产物被检测出揭示了苯环上的硝基还原是 p -CNB 还原转化过程中的第一步反应. p -CAN 进一步通过对位还原脱氯的途径使苯环上的氯原子被取代,生成终产物 AN 并释放出 Cl^- .出水中检测到 AN 和 Cl^- 的存在,则证明 p -CAN 的还原脱氯反应在硝基还原后进行.可以得出结论,MBfR 生物膜中的 p -CNB 生物还原包括硝基还原和还原脱氯两种转化途径(图 3). p -CNB 苯环上的硝基和氯原子具有的吸电子特性导致 p -CNB 在好氧条件下很难被降解,因此,厌氧或还原条件下对 p -CNB 的生物转化是一种可行的去除途径(Wu *et al.*, 2006).早期关于氯代硝基苯类化合物的生物降解研究指出,硝基还原和还原脱氯产生易生物降解和低毒性的苯胺类是氯代硝基苯生物转化或矿化的重要途径(Heijman *et al.*, 1993; Katsivela *et al.*, 1999; Susarla *et al.*, 1996).本研究表明, p -CNB 生物转化成 AN 这一结论与前期报道的结果相一致.虽然 p -CNB 生物转化产物 p -CAN 和

AN 仍具有一定毒性,但相对于 p -CNB 毒性已经大大减低(Weisburger *et al.*, 1978).因此, p -CNB 的还原转化途径不仅达到脱毒(减低毒性)的目的,且能提高 p -CNB 的可生化降解性.

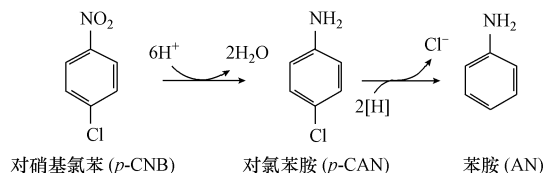


图 3 对氯硝基苯的生物转化途径

Fig. 3 The proposed biotransformation pathway of p -CNBB

3.3 硝酸盐和硫酸盐对 p -CNBB 还原影响分析

NO_3^- 和 SO_4^{2-} 是地下水或地表水中常见的氧化性污染物(电子受体).在厌氧或还原条件下,当有氢气作为电子供体时,自养微生物能利用 NO_3^- 和 SO_4^{2-} 进行反硝化和 SO_4^{2-} 还原作用,因此, NO_3^- 和 SO_4^{2-} 被认为是还原过程中潜在的电子供体竞争者(Nerenberg *et al.*, 2004).也有研究表明,反硝化和 SO_4^{2-} 还原过程中产生的中间产物(如 NO_2^- 、 N_2O 、 S^{2-} 、 HS^-)对氯代有机物的还原脱氯作用有抑制效应(Nelson *et al.*, 2010; Tas *et al.*, 2008; 2010).由于 NO_3^- 和 SO_4^{2-} 是 p -CNBB 生物还原降解的潜在抑制因子,因此,有必要进一步考察 NO_3^- 和 SO_4^{2-} 对 p -CNBB 还原产生的影响.

如图 2 所示,进水 NO_3^- -N 浓度提高至 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以后,出水 p -CNBB 浓度有明显的上升($76 \sim 80 \text{ d}$),去除通量由 $0.054 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ 降低至 $0.048 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$,去除率由 93.8% 降低至 82.4% .而整个阶段($76 \sim 110 \text{ d}$),出水 p -CAN 浓度有明显的上升趋势,出水 AN 浓度也持续降低.通过测定增加 NO_3^- -N 浓度前后 5 d 出水氢气浓度发现, $71 \sim 81 \text{ d}$ 出水中氢气浓度由 $125 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低至 $56 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 4a).由此可见,由于反硝化作用增强,氢气消耗量相应增加,导致液相中氢气可利用率限制水平升高,致使反硝化对 p -CNBB 还原产生电子供体竞争性抑制.反硝化过程中产生的中间产物积累可能对还原脱氯微生物产生毒性作用.Nelson 等(2010)研究发现,当液相中 N_2O 浓度高于 $4.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对四氯乙烯(PCE)还原脱氯作用有明显地抑制.Tas 和 Pavlostathis(2008)报道指出,五氯胺(PCA)的序列还原脱氯受到 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- -N 抑制,同时伴随有明显的 NO_2^- -N 积累过程.本实验中, NO_2^- -N 积累

过程中 p -CAN 浓度升高速率较快; 而 NO_2^- -N 被完全降解之后, p -CAN 浓度变化趋于平缓甚至降低. 综上所述, NO_3^- -N 对 p -CNB 生物还原的影响包含两种机制, 即电子供体的竞争性抑制和反硝化中间产物的毒性效应.

SO_4^{2-} 还原对 p -CNB 还原可能产生类似于反硝化抑制效应的影响. 从图 2 可以看出, 投加 SO_4^{2-} 之后, p -CNB 浓度有一短暂的上升过程, p -CAN 浓度持续升高, 且 AN 浓度继续降低. 出水中氢气浓度由未投加 SO_4^{2-} 时的 $46 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低至第 120 d 时的 $23 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (投加 SO_4^{2-} 后 10 d), 具体如图 4b 所示. 由此说明, 进水中 SO_4^{2-} 还原消耗的氢气量增大导致出水氢气浓度降低, 继而对 p -CNB 还原产生电子供体的竞争. SO_4^{2-} 还原产物 S^{2-} 的出水浓度也随反应器运行时间延长而增加, 至反应结束时浓度为 $1.59 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. S^{2-} 浓度的升高或积累对还原脱氯也有一定的抑制影响 (Nelson *et al.*, 2010). 本研究中, p -CAN 还原成 AN 的速率明显降低则揭示了 SO_4^{2-} 还原不仅消耗更多的氢气而且还原产物对还原脱氯微生物产生毒性.

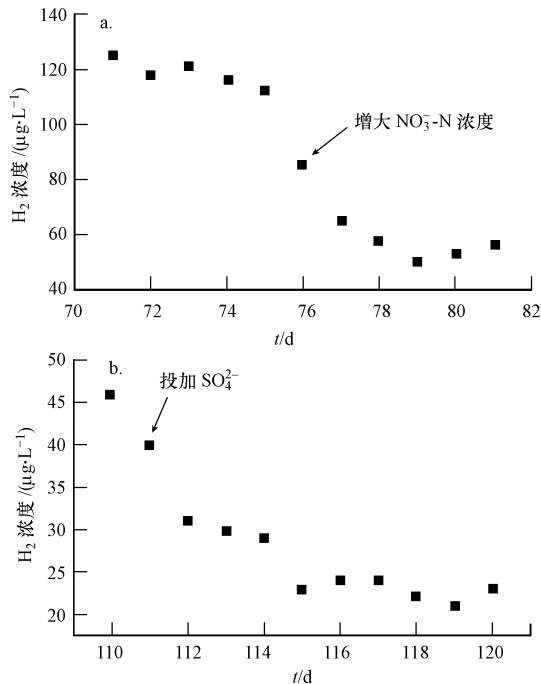


图 4 进水 NO_3^- -N 浓度增加前后 (a) 和投加 SO_4^{2-} 后 (b) 出水中溶解性氢气的浓度变化趋势

Fig. 4 Change of the effluent H_2 concentrations (a) before and after increasing NO_3^- -N concentration, and (b) after adding SO_4^{2-} in the influent

3.4 生物膜利用氢气通量分析

微生物利用氢气化为电子供体还原氧化性污染物 (电子受体) 的过程实质是生物膜中电子转移的过程. 计算生物膜利用氢气时电子转移的当量通量可以更准确地分析污染物对氢气的利用及它们相互之间的竞争关系, 其计算方法为用污染物的去除通量除以底物电子换算因子 (Chung *et al.*, 2007). 底物电子换算因子的概念是单位电子能够还原的目标污染物的质量, 其计算方法为污染物的相对分子量除以电子转移数量 (化合价之差). 去除通量反映了污染物的直接还原能力, 其数值在很大程度上受到污染物本身相对分子量的影响, 而除以换算因子的目的在于消除这一影响, 使得当量电子通量这一概念能够更加真实客观地反应出各种污染物的电子竞争能力. 当量电子通量 (E_{eq}) 的计算公式如下:

$$E_{\text{eq}} = \frac{J}{\text{EW}_s} = \frac{Q \times (S_i - S_e)}{A \times \text{EW}_s} \quad (1)$$

式中, E_{eq} 为当量电子通量 ($\text{e}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$), J 为生物膜中电子受体的去除通量 ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$), Q 为进水流量 ($\text{m}^3\cdot\text{d}^{-1}$), S_i 和 S_e 分别为电子受体的进、出水浓度 ($\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$), A 为生物膜表面积 (m^2), EW_s 为底物电子换算因子. 根据电子受体的完全反应, 各电子受体的 EW_s 分别为: $26.3 \text{g}\cdot\text{e}^{-1}$ (p -CNB)、 $63.8 \text{g}\cdot\text{e}^{-1}$ (p -CAN)、 $2.8 \text{g}\cdot\text{e}^{-1}$ (NO_3^- -N) 和 $12 \text{g}\cdot\text{e}^{-1}$ (SO_4^{2-}).

表 4 列出了四个阶段最后 3 d 的 p -CNB、 NO_3^- -N 和 SO_4^{2-} 还原过程中的平均当量电子通量及其分配情况. 从表中可以看出, NO_3^- -N 还原成 N_2 消耗了绝大多数的电子 (80.76% ~ 98.67%), SO_4^{2-} 还原次之 (18.16%), 且两者共占总电子通量的 99% 以上 (138 ~ 140 d), 而 p -CNB 还原成 p -CAN 和 p -CAN 还原脱氯成 AN 的过程消耗的电子均很低 (远远小于 NO_3^- -N 或 SO_4^{2-}). 结果表明, 生物膜中氢气的消耗量很大程度上取决于反硝化和 SO_4^{2-} 还原, 而不取决于 p -CNB 还原. 由此可见, 生物膜中反硝化和 SO_4^{2-} 还原对电子供体的竞争能力强于 p -CNB 还原, 尤其反硝化竞争能力更强. 此结果进一步解释了提高进水 NO_3^- -N 和 SO_4^{2-} 浓度会导致出水氢气浓度的降低, 以及出水中 p -CNB 和 p -CAN 浓度的明显升高 (图 2). Chung 和 Rittmann (2007) 及 Chung 等 (2008) 利用 MBfR 生物降解三氯甲烷 (CF) 和亚硝基二甲基苯胺 (NDMA) 实验中均发现反硝化和 SO_4^{2-} 还原共占有大多数的电子通量分配, 分别达到

89.1% ~ 98.5% 和 99.4% ~ 99.8%, 对目标污染物的还原有较大的影响. 通过比较, 在同一反应体系且氢气可利用率受限制的情况下, 水中共存的 NO_3^- -N 和 SO_4^{2-} 对 *p*-CNB 的竞争影响必须关注.

因此, 在实际应用过程中, 为了保证较高的去除效果, 除降低进水负荷外, 保证氢气的供应量充足 (氢气压力合理) 也是一重要措施.

表 4 生物膜中 *p*-CNB、*p*-CAN、 NO_3^- -N 和 SO_4^{2-} 还原消耗的当量电子通量及其分配

Table 4 Electron-equivalent fluxes and distributions of *p*-CNB, *p*-CAN, NO_3^- -N, and SO_4^{2-} reductions in the biofilm

时间/d	当量电子通量/($\text{e}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$)				电子通量分配			
	<i>p</i> -CNB	<i>p</i> -CAN	NO_3^- -N	SO_4^{2-}	<i>p</i> -CNB	<i>p</i> -CAN	NO_3^- -N	SO_4^{2-}
28 ~ 30	0.0005	0.0002	0.0512	—	1.02%	0.31%	98.67%	—
73 ~ 75	0.0021	0.0007	0.0509	—	3.98%	1.25%	94.78%	—
108 ~ 110	0.0021	0.0005	0.1905	—	1.09%	0.28%	98.63%	—
138 ~ 140	0.0021	0.0005	0.1921	0.0432	0.87%	0.21%	80.76%	18.16%

4 结论 (Conclusions)

1) MBfR 生物膜中氢基质自养微生物能够利用氢气为电子供体有效还原降解水中的 *p*-CNB. *p*-CNB 经过硝基还原生成中间产物 *p*-CAN, 再通过还原脱氯作用生成 AN. 通过微生物的逐步还原转化达到对 *p*-CNB 降解或毒性降低的目的.

2) MBfR 对 *p*-CNB 有较大的去除潜力, 当进水 *p*-CNB 浓度为 $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 均有较高的去除率和去除通量, 其中, 稳定阶段的去除率和去除通量最高达到 96.9% 和 $0.056 \text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$.

3) 水中共存的 NO_3^- -N 和 SO_4^{2-} 将对 *p*-CNB 生物还原产生抑制效应. 反硝化和 SO_4^{2-} 还原消耗更多的氢气导致对 *p*-CNB 还原产生电子供体的竞争性抑制. 此外, 反硝化和 SO_4^{2-} 还原产物对还原脱氯微生物有毒性, 继而抑制 *p*-CAN 脱氯生成 AN 的过程.

4) 电子通量分析表明, 反硝化和 SO_4^{2-} 还原占有大多数的当量电子通量. 污染物的还原情况与其在电子竞争中的优势相关, 与电子供体量紧密相关的氢气压力将成为 MBfR 的重要参数之一.

责任作者简介: 李海翔 (1984—), 男, 博士, 讲师, 主要研究方向为水污染控制及资源化. E-mail: lihaixiang0627@163.com.

参考文献 (References):

Chung J, Rittmann B E. 2007. Bio-reductive dechlorination of 1,1,1-trichloroethane and chloroform using a hydrogen-based membrane biofilm reactor [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 97(1): 52-60
 Chung J, Ahn C H, Chen Z, *et al.* 2008. Bio-reduction of N-

nitrosodimethylamine (NDMA) using a hydrogen-based membrane biofilm reactor [J]. *Chemosphere*, 70(3): 516-520
 Deweerdt K A, Concannon F, Sulita J M. 1991. Relationship between hydrogen consumption, dehalogenation and the reduction of sulfur oxyanions by Desulfomonile tiedjei [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(7): 1929-1934
 Ergas S J, Reuss A F. 2001. Hydrogenotrophic denitrification of drinking water using a hollow fiber membrane bioreactor [J]. *Journal of Water Supply: Research & Technology*, 50(3): 161-171
 Heijman C G, Hollinger C, Claus M A, *et al.* 1993. Abiotic reduction of 4-chloronitrobenzene to 4-chloroaniline in a dissimilatory iron-reducing enrichment culture [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(12): 4350-4353
 Katsivela E, Wray V, Pieper D H, *et al.* 1999. Initial reactions in the biodegradation of 1-chloro-4-nitrobenzene by a newly isolated bacterium, strain LW1 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(4): 1405-1412
 Lee K C, Rittmann B E. 2002. Applying a novel autohydrogenotrophic hollow-fiber membrane biofilm reactor for denitrification of drinking water [J]. *Water Research*, 36(8): 2040-2052
 李明堂, 徐镜波, 卢振兰, 等. 2010. 两株细菌对邻氯硝基苯的协同降解 [J]. *环境科学学报*, 30(6): 1138-1143
 Li M T, Xu J B, Lu Z L, *et al.* 2010. Synergistic degradation of o -chloronitrobenzene by two strains of bacteria [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 30(6): 1138-1143 (in Chinese)
 梁诚. 2010. 硝基氯化苯生产、市场与发展 [J]. *精细化工原料及中间体*, 9: 38-40
 Liang C. 2010. Production, market and development of nitrochlorobenzene [J]. *Fine Chemical Industrial Raw Materials & Intermediates*, 9: 38-40 (in Chinese)
 马溪平, 李银萍, 徐成斌. 2010. 低温条件下硝基苯降解菌的筛选及鉴定 [J]. *环境科学学报*, 30(9): 1793-1797
 Ma X P, Li Y P, Xu C B. 2010. Isolation and identification of a nitrobenzene-degrading strain at low temperature [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 30(9): 1793-1797 (in Chinese)
 Nelson D K, Hozalski R M, Clapp L W, *et al.* 2010. Effect of nitrate and sulfate on dechlorination by a mixed hydrogen-fed culture [J].

- Bioremediation Journal, 6(3): 225-236
- Nerenberg R, Rittmann B E. 2004. Hydrogen-based, hollow-fiber membrane biofilm reactor for reduction of perchlorate and other oxidized contaminants [J]. Water Science & Technology, 49(11/12): 223-230
- Park H S, Lim S J, Chang Y K, *et al.* 1999. Degradation of chloronitrobenzenes by a coculture of *Pseudomonas putida* and a *Rhodococcus sp.* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 65(3): 1083-1091
- Rittmann B E. 2006. The membrane biofilm reactor: the natural partnership of membranes and biofilm [J]. Water Science & Technology, 53(3): 219-226
- Shen J M, Chen Z L, Xu Z Z, *et al.* 2008. Kinetics and mechanism of degradation of *p*-chloronitrobenzene in water by ozonation [J]. Journal of Hazardous Materials, 152(3): 1325-1331
- 申献辰, 冯惠华, 王凤荣, 等. 1997. 黄河中游对硝基氯苯传输迁移转化模拟[J]. 水科学进展, 8(3): 264-269
- Shen X C, Feng H H, Wang F R, *et al.* 1997. Water quality simulation of 4-nitrochlorobenzene in the Middle Yellow River [J]. Advances in Water Science, 8(3): 264-269 (in Chinese)
- 孙润泰, 陈敏, 于波, 等. 2002. 气相色谱法测定水源水中硝基氯苯类化合物结果分析[J]. 中国卫生工程学, 1(3): 149
- Sun R T, Chen M, Yu B, *et al.* 2002. Analysis of chloronitrobenzenes compounds in untreated water by gas chromatographic [J]. China Journal of Public Health Engineering, 1(3): 149 (in Chinese)
- Susarla S, Masunaga S, Yonezawa Y. 1996. Transformations of chloronitrobenzenes in anaerobic sediment [J]. Chemosphere, 32(5): 967-977
- Tas D O, Pavlostathis S G. 2008. Effect of nitrate reduction on the microbial reductive transformation of pentachloronitrobenzene [J]. Environmental Science & Technology, 42(9): 3234-3240
- Wu J F, Jiang C Y, Wang B J, *et al.* 2006. Novel partial reductive pathway for 4-chloronitrobenzene and nitrobenzene degradation in *Comamonas sp.* strain CNB-1 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 72(3): 1759-1765
- Weisburger E K, Russfield A B, Homburger F, *et al.* 1978. Testing of twenty-one environmental aromatic amines or derivatives for long-term toxicity or carcinogenicity [J]. Journal of Environmental Pathology and Toxicology, 2(2): 325-356
- 徐根良, 徐秀珠. 1999. 环境中痕量特殊有机污染物的高效液相色谱测定[J]. 浙江大学学报(工学版), 33(3): 323-326
- Xu G L, Xu X Z. 1999. Determination of trace organic pollutants in the environment by high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Zhejiang University, 33(3): 323-326 (in Chinese)
- Xia S Q, Zhang Y H, Zhong F H. 2009. A continuous stirred hydrogen-based polyvinyl chloride membrane biofilm reactor for the treatment of nitrate contaminated drinking water [J]. Bioresource Technology, 100(24): 6223-6228
- 张丽萍, 张占恩. 2007. 吹扫捕集-GC-MS 测定废水中的硝基氯苯[J]. 环境污染与防治, 29(4): 306-308
- Zhang L P, Zhang Z N. 2007. Determination of nitrochlorobenzene in water and wastewater by purge and trap-gas chromatography-mass spectrometry[J]. Environmental Pollution & Control, 29(4): 306-308 (in Chinese)