

水体中氯酚类污染物的生物降解性研究进展

王晓东¹, 张光辉¹, 顾平¹, 孙红晔²

(1 天津大学 环境科学与工程学院, 天津 300072; 2 中冶京诚工程技术有限公司, 北京 100176)

摘 要: 从具有降解氯酚类化合物能力的微生物筛选, 氯酚类化合物的好氧、厌氧和共代谢降解, 以及处理含氯酚废水采用现代生物技术等方面, 综述了研究和工程应用的进展情况, 介绍了氯酚类化合物在不同条件下的降解途径。

关键词: 氯酚; 脱氯; 生物降解; 生物技术

中图分类号: X703.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1000-4602(2008)16-0017-05

Research Progress in Biodegradation of Chlorophenols in Water

WANG Xiao-dong¹, ZHANG Guang-hui¹, GU Ping¹, SUN Hong-ye²

(1. School of Environment Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. MCC Capital Engineering and Research Incorporation Limited, Beijing 100176, China)

Abstract: The progresses in research and engineering applications are summarized in terms of the screening of microorganisms capable of degrading chlorophenols, the aerobic, anaerobic and cometabolic degradation of chlorophenols, the modern biotechnology used for treatment of chlorophenol-containing wastewater and so on. The pathway to degrade chlorophenols under different conditions is introduced.

Key words: chlorophenols; dechlorination; biodegradation; biotechnology

氯酚类化合物是应用广泛、具有环境毒性的难降解有机物。自 20 世纪 30 年代以来, 氯酚类化合物被广泛用作木材防腐剂、防锈剂、杀菌剂和除草剂等, 在亚洲、非洲和南美洲还用于血吸虫病的防治, 其中 2,4-二氯酚和 2,4,5-三氯酚大量用于农药 (2,4-D 和 2,4,5-T) 的生产, 因此在许多工业化国家氯酚化合物的生产规模非常庞大。另外, 酚在饮用水的加氯消毒处理中可能产生氯酚及其衍生物。同时, 2-氯酚、2,4-二氯酚、2,4,6-三氯酚和五氯酚都是毒性很高且难生物降解的化合物, 大多数具有致畸、致癌、致突变效应。美国 EPA 在 1977 年提出的 65 类 129 种优先控制污染物中包括了 11 种酚, 2-氯酚、2,4,6-三氯酚、2,4-二氯酚、对氯间甲氯酚、五氯酚均在其中。氯酚类化合物的大量使用, 使得大量氯酚类污染物进入了环境^[1]。近年来科学研究还发现, 很多氯酚类化合物具有酷似天

然激素的功能, 在其对人体造成的各种危害中尤以遗传性疾病和癌症备受关注。因此, 清除环境中的该类化合物是人类面临的一大挑战。

1 具有降解氯酚类化合物能力的微生物

人们早就发现微生物对自然界中有机物的循环起着重要作用。随着工农业的快速发展, 进入环境中的合成物质越来越多, 其中许多有机物对微生物有抑制甚至杀灭作用。但是经过长期的接触驯化, 有些微生物能通过自然变种或形成诱导酶, 具备了新的代谢功能, 从而能降解或部分转化这些化合物。

氯酚类化合物进入环境已有几十年, 在长期的接触驯化过程中, 微生物的遗传变异和质粒传递特性使很多微生物具备了降解或部分降解氯酚类化合物的能力。迄今为止, 许多研究人员已从土壤或水体底泥中获得了这些微生物, 并已分离出具有降解氯酚类化合物能力的多种纯培养微生物菌株^[2]。

2 氯酚类化合物的生物降解

2.1 生物脱氯机制

不同种类的微生物由于其降解污染物的生化机制不同,使得氯酚类化合物的降解途径多样化,但脱氯是氯酚类化合物降解的关键步骤。在氯酚的生物脱氯过程中有两种基本的脱氯机制,第一种是氧化脱氯,即芳香环被氧化并脱去氯取代基的过程;第二种是还原脱氯,化合物得到电子的同时,氢原子取代氯原子,并且释放出氯离子。

① 氧化脱氯

氯酚氧化脱氯是指芳香环被氧化并脱去氯取代基的过程。根据脱氯发生的先后,氯酚的好氧降解主要分为两种途径^[3]:第一种是先开环后脱氯的儿茶酚途径;第二种是先脱氯后开环的氢醌途径。

先开环后脱氯:低取代氯酚(主要是单氯酚和二氯酚)在好氧条件下的微生物降解主要是先开环后脱氯的脱氯降解方式。儿茶酚是此降解途径中的第一个中间体。以 2,4-二氯酚的降解为例^[4],在假单胞菌属好氧培养中,2,4-二氯酚首先在单氧化酶作用下发生邻位氧化,生成 3,5-二氯代儿茶酚;然后在 1,2-双加氧酶的作用下发生邻位裂解,开环生成 2,4-氯代顺,顺-粘糖酸,在内酯化过程中释放出氯离子,并被氧化成马来酰基乙酸,而后进入三羧酸循环。

除此一般情况,人们还发现低取代氯酚的好氧菌降解存在着一些特殊路径,例如 4-氯酚在 *Arthrobacter ureafaciens* 菌株的培养中先脱氯生成 1,4-氢醌,然后转化为偏苯三酚,再在偏苯三酚双加氧酶的作用下开环裂解^[5]。偏苯三酚双加氧酶是此降解路径中的关键酶。

先脱氯后开环:对于含 3~5 个取代基的多氯酚,在好氧条件下的微生物降解通常采用氢醌途径,即先脱氯后开环^[3]。经研究发现,在好氧条件下对五氯酚降解效果最好的菌株属分枝杆菌属和鞘氨醇单胞菌属。五氯酚在 *Sphingomonas chlorophenolica* ATCC 39723 菌好氧培养中的降解路径:首先,在单加氧酶的作用下,五氯酚发生对位羟基化,生成 2,3,5,6-四氯代氢醌,然后在还原脱氯酶的作用下,连续脱去两个氯离子,生成 2,6-二氯-1,4-氢醌。该物质在双加氧酶的作用下,继续脱去一个氯离子,同时邻位开环裂解生成 2-氯-马来酰基乙酸,最后进入三羧酸循环完全氧化降解。

② 厌氧脱氯

还原脱氯是指氯酚类化合物在得到电子的同时去掉一个氯取代基并释放一个氯离子的过程。这种脱氯机制多发生在厌氧和缺氧条件下,是氯代酚类化合物生物降解的重要途径。因为氯原子强烈的吸电子性使芳环上电子云密度降低,在好氧条件下氧化酶很难从苯环上获取电子而发生氧化反应。当氯原子的取代个数越多时,苯环上的电子云密度就越低,氧化就越困难,可生化降解性就越差。相反,在厌氧或缺氧条件下,环境的氧化还原电位较低,电子云密度较低的苯环在酶作用下很容易受到还原剂的亲核攻击,氯原子就很容易被亲核取代,显示出较好的厌氧生物降解性。许多在好氧条件下难于降解的化合物在厌氧条件下变得容易降解。高氯代酚由于苯环上电子云密度低,在厌氧条件下还原脱氯反应比低氯代酚更易进行。

由于五氯酚应用的广泛性和相对易于厌氧降解,在氯酚类化合物中对五氯酚的厌氧降解研究最多^[6]。五氯酚的还原脱氯通常需要电子供体基质的存在。在混合微生物厌氧培养中的五氯酚还原脱氯过程中很难分清是一种共代谢作用(即氯酚作为电子供体,提供细胞生长的碳源和能源)还是以氯酚作为最终电子受体以支持微生物生长的卤代氧化(halorespiration)作用^[7]。在五氯酚的还原脱氯过程中,厌氧微生物在氧化简单电子供体基质过程中,使用五氯酚作为电子受体以支持微生物生长的机理已经被证明。卤代氧化作用使五氯酚邻位脱氯形成 3,4,5-三氯酚亦已被反应动力学研究所证实。迄今为止,只发现三个菌属的纯培养厌氧微生物(*Desulfitobacterium*, *Desulfovibrio* 和 *Anaeromyxobacter*)具有卤代氧化作用。

2.2 共基质条件下的氯酚生物降解

从氯代酚进入环境后所处的系统来看,它不是单一存在的,而是由多种有机物、多种微生物等组成的复杂系统。在这一系统中,多种组分共存并且相互作用,包括基质间对酶的竞争与非竞争作用、共代谢作用、微生物对基质的协同作用等。因此用单一基质条件下的生物降解性结论来描述多种基质共存时化合物的降解性能难免“失真”。

Quan X-C 等人^[8]在气升式填料床反应器中,以具有降解 2,4-二氯酚能力的节杆菌属微生物育种,研究了苯酚作为共存基质条件下的 2,4-二氯

酚的降解情况。在反应器连续运行期间,2,4-二氯酚的容积负荷为 29.72~32.23 mg/(L·d),苯酚的容积负荷为 325.56~602.79 mg/(L·d)。结果发现,随着苯酚容积负荷的增加,对 2,4-二氯酚的去除率由 100%降低为 87.9%,而对苯酚的去除率始终保持在 99.6%。为了提高主要基质(2,4-二氯酚)的降解率,必须合理地控制相对更易降解的苯酚共存基质的容积负荷在适当的水平。

李萍等^[9]以苯酚、葡萄糖作为五氯酚的共代谢基质,考察了其在加速活性污泥驯化进程方面的作用,结果表明:葡萄糖可以增强活性污泥中微生物对五氯酚的适应能力,加快驯化进程并提高对五氯酚的降解速率;而苯酚的毒性可能与五氯酚相互叠加,从而延滞了活性污泥的驯化进程。

3 氯酚类废水生物处理技术

氯酚类化合物的生物降解过程中最重要的限速步骤是氯取代基的去除,即脱氯。现有处理氯酚的技术主要有好氧生物处理、厌氧生物处理、厌氧与好氧联合生物处理及培育高效菌株等。

3.1 好氧生物处理技术

活性污泥法以其经济、高效成为目前应用最广泛的处理氯酚类化合物的好氧生物处理技术,而处理效率的高低是由微生物的特性决定的。一些研究者已经证实,在好氧条件下微生物生长以氯酚类化合物为碳源和能源,可成功地降解氯酚浓度达 100~1 200 mg/L 的工业废水^[10]。Fialova 等人^[11]培养了一种新型优势降解菌株(*Candida maltosa*),其降解氯酚的浓度可达到 1 700 mg/L。2005 年 Jiang 等人^[12]从酵母菌中分离了菌株 *C. tropicalis*,其降解苯酚的最大浓度高达 2 000 mg/L。

细胞生长动力学是评价微生物降解潜能的一个重要指标,以往的很多研究都是基于单一基质在低浓度下的 Monod 或 Haldane 模型建立的细胞增长行为模式,而实际处理的废水通常含有两种以上的基质,其生物降解体系更为复杂。较高浓度基质的毒副作用可能会抑制另一基质的微生物降解活性。Jiang 等人研究了纯培养微生物 *C. tropicalis* 在苯酚和 4-氯酚双基质条件下的细胞生长和降解动力学。研究发现,低浓度的苯酚能够增强 *C. tropicalis* 对 4-氯酚的生物降解能力;苯酚优先于 4-氯酚发生生物氧化作用,为微生物生长提供单一碳源和能源。当苯酚浓度在 100~160 mg/L 范围内,*C. tropi-*

calis 能够使浓度为 420 mg/L 的 4-氯酚完全降解,超过了单一基质下的最大浓度(350 mg/L)。当 4-氯酚浓度 >120 mg/L 时,会严重抑制微生物对浓度 >1 800 mg/L 的苯酚的降解。

3.2 厌氧生物处理技术

大量的五氯酚生物降解研究主要围绕着厌氧过程和厌氧反应器展开。还原脱氯作用是最常见和最有效的代谢方式。五氯酚厌氧降解的途径是首先脱氯生成四氯酚、三氯酚、二氯酚和一氯酚。在脱氯时,反应可能出现在所有位置的氯取代基上,即反应在邻位、对位和间位的氯代基上都能进行。因此,五氯酚还原脱氯的中间产物可能很多,代谢途径变得比较复杂。但是,五氯酚完全脱氯后的产物是苯酚^[6]。苯酚能被有些产乙酸菌降解为乙酸,也可能被进一步转化为苯甲酸,然后由产乙酸菌转化为乙酸,乙酸最终被产甲烷菌进一步转化成甲烷和 CO₂。

厌氧反应器也常应用于低取代氯酚的降解。有三组研究人员对 2,4-二氯酚与易生物降解的基质共存情况下的 UASB 反应器中的降解情况进行了评价^[13]。其中 Sponza 和 Ulukoy 等人^[14,15]以糖蜜作为电子供体,当 2,4-二氯酚的容积负荷为 144 g/(m³·d) 时,其去除率为 78.7%。Collins 等人^[16]研究了 2,4,6-三氯酚在乙醇和挥发性脂肪酸作电子供体的颗粒污泥膨胀床(EGSB)-厌氧生物膜组合反应器中的降解。随着容积负荷的增加,2,4,6-三氯酚的去除率逐渐增大。当容积负荷为 25 g/(m³·d) 时,去除率达到 100%。生物膜法的 2,4,6-三氯酚比降解活性在 15、37 °C 时分别为 5.3、8.5 mg/(gVSS·d)。

厌氧装置的成功运行有赖于颗粒污泥的形成。颗粒污泥的核心是构建各类微生物共存的生态体系,它受微生物本身特性、废水水质以及反应器运行工艺参数的影响。徐向阳等研究了工业有机废水(啤酒糖化废水和有机酸发酵废水)和五氯酚共存条件下,EGSB 反应器中厌氧污泥的颗粒化过程。试验发现,作为共基质的工业有机废水的种类影响运行前期反应器的性能、污泥颗粒化进程、污泥脱氯活性与产甲烷优势菌等。相比而言,糖化废水更有利于颗粒污泥的形成。反应器的运行性能随污泥颗粒化进程而得到改善。对 COD、五氯酚去除性能的影响仅发生在运行过程前阶段,后期则不明显。在颗粒污泥成熟阶段(60~120 d),糖化废水 COD 的

容积负荷为 $4\,240\sim4\,880\text{ g}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$,五氯酚的容积负荷为 $58.2\sim107.2\text{ g}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$,五氯酚去除率达到 100%;当采用柠檬酸发酵废水时,COD的容积负荷为 $4\,220\sim6\,210\text{ g}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$,五氯酚的容积负荷为 $57.4\sim103.8\text{ g}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$,五氯酚去除率也达到 100%。两种不同的工业废水作为共存基质驯化的颗粒污泥表现降解五氯酚的活性相近,但分析中间产物时发现,作为共基质的有机废水种类影响颗粒污泥脱氯降解五氯酚的位点。糖化废水驯化的污泥具有较强的邻、间位脱氯活性,而对位脱氯活性较低;有机酸发酵废水驯化的污泥具有同时进行邻、间、对位脱氯的活性,使五氯酚最终降解为苯酚。

3.3 厌氧—好氧联合处理技术

从难降解有机物进入天然环境方面来看,受到好氧和厌氧环境的交替作用,分散于自然水体中的有机物亦是如此。因此,人们采用好氧与厌氧多种组合工艺强化这一过程。特别是对于在单一处理条件下呈现难生物降解性能的氯代酚,研究其在厌氧—好氧交替处理时的生物降解性就更具有实际意义。

A tuanya等人^[17]利用升流式厌氧污泥床 UASB 和好氧悬浮生长式反应器 (ASG)组合工艺处理人工配制含酚废水 (COD 浓度为 $250\sim500\text{ mg/L}$, 2,4-二氯酚浓度为 $50\sim100\text{ mg/L}$),以葡萄糖为共存基质,在有机负荷为 $180\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 、HRT为 26.4 h 的条件下,组合工艺对 2,4-二氯酚和 COD 的去除率分别达到 86%和 95%,而平行试验条件下单级工艺 UASB 和 ASG 对 2,4-二氯酚的去除率分别为 52%和 78%。可见,利用厌氧—好氧组合工艺处理氯代酚类化合物可以取得更好的降解效果。

A menante等人^[18]成功地采用厌氧—好氧组合工艺处理浓度为 13 mg/L 的 2,4,6-三氯酚废水。研究发现,在厌氧阶段 2,4,6-三氯酚以甲酸、乙酸和琥珀酸的组合酸为电子供体,不可逆还原脱氯产生 2,4-二氯酚和 4-氯酚,之后在好氧反应器中得到完全降解。

3.4 高效菌株技术

近年来,对具有高效降解能力的菌株进行分离,研究其形态特征,以获得特殊降解能力的菌株的方法得到了广泛深入的研究。

Kharoune等^[19]从市政活性污泥中提取了对 2,4,6-三氯酚具有优势降解能力的 6 个菌株,分属于

Sphingomonas paucimobilis、*Burkholderia cepacia*、*Chryseomonas luteol*和 *Vibrio metschnikovii*。它们以 2,4,6-三氯酚作为唯一的碳源和能源。经过一定时期的驯化培养,微生物的降解能力得到很大提升,比降解速率达到 $34\text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。跟踪目标物质在降解过程中的可溶性 COD、 Cl^- 浓度和 DO 等数据,与理论值进行比较,可证实 2,4,6-三氯酚在试验条件下完全脱氯和矿化。在 2,4,6-三氯酚浓度 $\leq 400\text{ mg/L}$ 时,微生物活性不会受到抑制。当 2,4,6-三氯酚浓度 $\leq 200\text{ mg/L}$ 时,测得微生物最大比增长速率为 0.01 h^{-1} 。根据 Haldane抑制动力学模型,得出所培养的优势菌株的抑制常数 K_i 值为 610 mg/L 。

3.5 固定化微生物技术

固定化微生物技术用化学或物理的方法将游离细胞定位于材料的限定空间中,具有生物浓度易控、菌体对外界因素的抵抗力增强、降解能力提高的优势,近年来已成为国内外的研究热点。

A menante等人分别将白腐真菌 (*Phanerochaete chrysosporium*)包埋于硅胶载体和软木颗粒中进行填充床反应器试验,并和利用游离菌体的序批式发酵罐进行比较。结果表明:处理浓度为 500 mg/L 的 2-氯酚废水,固定化细胞降解率远远高于游离细胞。固定化细胞可将 80%~94%的 2-氯酚降解成二氧化碳、水和无机氯。叶鹏等^[20]采用化学键合法将辣根过氧化物酶固定在聚丙烯酰胺载体上,发现酶活性可保持较长时间,并可反复用于催化去除五氯酚。将固定酶装入反应柱制成酶柱,可多次反复催化五氯酚的反应,固定化微生物技术效果明显好于直接投加。

4 结论

① 研究表明,好氧微生物技术和厌氧微生物技术都能够实现对氯酚类化合物的完全降解,但厌氧微生物还原脱氯和脱氯产物的好氧菌氧化之间具有明显的互补作用,采用厌氧—好氧联合工艺处理含氯酚废水具有良好的应用前景。

② 优势培养菌或基因工程菌以其对纯物质的强降解能力,正引起各国研究人员的关注。随着固定化生物技术的不断完善,特别是优势工程菌和载体材料的完美结合,借助于高效的生物反应器,通过生物降解作用去除环境中的氯酚类污染物,将在工业上得到广泛应用。

参考文献:

- [1] Erkan Sahinkaya, Filiz B Dilek Biodegradation of 4 - chlorophenol by acclimated and unacclimated activated sludge - Evaluation of biokinetic coefficients[J]. Environ Res, 2005, 99 (2): 243 - 252
- [2] 杨志峰,刘静玲. 环境科学概论 [M]. 北京:高等教育出版社, 2004
- [3] Solyanikova I P, Golovleva L A. Bacterial degradation of chlorophenols: pathways, biochemistry and genetic aspects [J]. J Environ Sci Health Part B, 2004, 39 (3): 333 - 351.
- [4] Finkel'shtein Z I, Baskunov B P, Golovlev E L, et al Dependence of the conversion of chlorophenols by rhodococci on the number and position of chlorine atoms in the aromatic ring[J]. Microbiol, 2000, 69 (1): 40 - 47.
- [5] Nordin K, Unell M, Jansson J K. Novel 4 - chlorophenol degradation gene cluster and degradation route via hydroxyquinol in *Arthrobacter chlorophenolicus* A6[J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71 (11): 6538 - 6544
- [6] Tartakovsky B, Levesque M J, Dumortier R, et al Biodegradation of pentachlorophenol in a continuous anaerobic reactor augmented with *Desulfotobacterium frappieri* PCP21[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65 (10): 4357 - 4362
- [7] Lanthier M, Juteau P, Lepine F, et al *Desulfotobacterium hafniense* is present in a high proportion within the biofilms of a high-performance pentachlorophenol-degrading, methanogenic fixed-film reactor[J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71 (2): 1058 - 1065
- [8] Xiangchun Quan, Hanchang Shi, Yongning Zhang Biodegradation of 2, 4 - dichlorophenol and phenol in an airlift inner-loop bioreactor immobilized with *Achromobacter* sp. [J]. Sep Purif Technol, 2004, 34 (1 - 3): 97 - 103
- [9] 李萍,刘俊新. 共代谢基质驯化活性污泥降解五氯酚 [J]. 中国给水排水, 2004, 20 (6): 35 - 37.
- [10] Alexieva Z, Gerginova M, Zlateva P, et al Comparison of growth kinetics and phenol metabolizing enzymes of *Trichosporon cutaneum* R57 and mutants with modified degradation abilities [J]. Enzyme Microb Technol, 2004, 34 (3 - 4): 242 - 247.
- [11] Fialova A, Boschke E, Bley T. Rapid monitoring of the biodegradation of phenol-like compounds by the yeast *Candida maltosa* using BOD measurements[J]. Int Biodeterior Biodegrad, 2004, 54 (1): 69 - 76
- [12] Jiang Y, Wen J P, Lan L, et al Biodegradation of phenol and 4 - chlorophenol by the yeast *Candida tropicalis* [J]. Biodegrad, 2007, 18 (6): 719 - 729.
- [13] Kennedy K J, Ning Z, Fernandes L. Modeling simultaneous removal of primary substrates and chlorinated phenols in upflow anaerobic sludge blanket reactors [J]. Can J Civil Eng, 2001, 28 (6): 910 - 921.
- [14] Sponza D T, Ulukoy A E. Treatment of 2, 4 - dichlorophenol (DCP) in a sequential anaerobic (upflow anaerobic sludge blanket) aerobic (completely stirred tank) reactor system [J]. Process Biochem, 2005, 40 (11): 3419 - 3428.
- [15] Ning Z, Kennedy K J, Fernandes L. Anaerobic degradation kinetics of 2, 4 - dichlorophenol (2, 4 - DCP) with linear sorption [J]. Water Sci Technol, 1997, 35 (2 - 3): 67 - 75.
- [16] Collins G, Foy C, McHugh S, et al Anaerobic treatment of 2, 4, 6 - trichlorophenol in an expanded granular sludge bed - anaerobic filter (EGSB - AF) bioreactor at 15 °C[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2005, 53 (1): 167 - 178.
- [17] Atuanya E I, Purohit H J, Chakrabarti T. Anaerobic and aerobic biodegradation of chlorophenols using UASB and ASG bioreactors [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2000, 16 (1): 95 - 98.
- [18] Amenante P M, Kafkewitz D, Lewandowski G A, et al Anaerobic-aerobic treatment of halogenated phenolic compounds[J]. Water Res, 1999, 33 (3): 681 - 692.
- [19] Kharoune L, Kharoune M, Lebeault J M. Aerobic degradation of 2, 4, 6 - trichlorophenol by a microbial consortium - selection and characterization of microbial consortium [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2002, 59 (1): 112 - 117.
- [20] 叶鹏,张剑波,陈嵩. 固定化辣根过氧化物酶催化去除五氯酚 [J]. 北京大学学报, 2005, 41 (6): 918 - 925.

电话: (022) 27405059

E - mail: guping@tju.edu.cn

责任作者:顾平

收稿日期: 2008 - 05 - 16