

煤热解废水中典型环状污染物的生物毒性评估方法研究

韩洪军^{1,2}, 郑梦启², 徐春艳¹, 张正文²

(1. 哈尔滨工业大学水资源国家工程研究中心有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150090;

2. 哈尔滨工业大学, 黑龙江 哈尔滨 150090)

摘 要:为探寻适宜于煤热解废水的毒性评估方法,从煤热解废水典型致毒环状污染物出发,利用 3 种废水毒性测试物种(小球藻、四膜虫、大型蚤),根据光照条件和样本色度对测试方法的影响进行研究,并对比了评估方法对实际废水的适用性。结果表明:光照和色度都会显著影响典型污染物毒性评估,建议毒性测试应在避光条件下进行,且尽量避免采用以吸光度表征的毒性测试方法;实际废水中,藻类方法因光照、色度影响无法对废水毒性准确评估,不宜采用;大型蚤毒性评估结果随厌氧、好氧、高级氧化处理工艺出水毒性单位(TU)分别为 100.87、12.13 和 8.37,敏感性、适用性最高,适宜煤热解废水毒性评估;四膜虫在好氧段 TU=6.67,与大型蚤评估结果相近,可作为好氧段评估方法。

关键词:煤热解废水;环状污染物;生物毒性评估;废水处理

中图分类号:X703

文献标志码:A

文章编号:0253-2336(2018)09-0031-06



Study on toxicity assessment methods of typical cyclic pollutants of coal pyrolysis wastewater

HAN Hongjun^{1,2}, ZHENG Mengqi², XU Chunyan¹, ZHANG Zhengwen²

(1. National Engineering Research Center of Urban Water Resources, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China;

2. Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: In order to search for a feasible toxicity assessment assay for coal pyrolysis wastewater, based on typical toxic cyclic pollutants in coal pyrolysis wastewater, three common species were applied to investigate effect of light conditions and sample color on the tests, as well as their applicability in real coal pyrolysis wastewater. The results showed, as light and color highly affected the toxicity evaluation of typical pollutants, it was suggested that the toxicity should be tested in dark conditions, and testing methods characterized by absorbance should be avoided. Finally, algae test was not suggested for toxicity evaluation of coal pyrolysis wastewater, while *Daphnia magna* (*D. magna*) was suggested for application due to the highest applicability in the real coal pyrolysis wastewater evaluation with TU was 100.87, 12.13 and 8.37 for effluent from anaerobic, aerobic, advanced oxidation process, respectively. And *Tetrahymena thermophila* (*T. thermophila*) may be an alternative toxicity test for aerobic wastewater with TU=6.67, similar to *D. magna*.

Key words: coal pyrolysis wastewater; cyclic pollutants; toxicity assessment; wastewater treatment

0 引 言

我国“富煤、贫油、少气”的能源结构和煤炭清洁利用的需求,促进了煤化工产业的高速发展^[1]。其中,煤热解工艺过程产生的废水含有大量有毒有害物质,使其发展受到严重制约^[2-3]。经过一系列

物化及生物处理后,煤热解废水中仍含有毒性物质。目前,科研人员对煤热解废水致毒特征污染物的降解仅关注常规指标变化^[4-5],无法真实反映出水毒性的变化^[6],而针对煤热解废水的毒性评估方法尚未见报导。因此,对于煤热解废水毒性评估方法的研究极其重要。首先,毒性单位(TU)评估体系能够

收稿日期:2018-05-08;责任编辑:代艳玲 DOI:10.13199/j.cnki.est.2018.09.005

基金项目:国家重点研发计划资助项目(2017YFB0602804)

作者简介:韩洪军(1955—),男,安徽蚌埠人,教授,博士生导师,博士。E-mail:han13946003379@163.com

引用格式:韩洪军,郑梦启,徐春艳,等.煤热解废水中典型环状污染物的生物毒性评估方法研究[J].煤炭科学技术,2018,46(9):31-36.

HAN Hongjun, ZHENG Mengqi, XU Chunyan, et al. Study on toxicity assessment methods of typical cyclic pollutants of coal pyrolysis wastewater [J]. Coal Science and Technology, 2018, 46(9): 31-36.

统一、准确反映废水处理全流程的生物毒性变化,因而成为国内外应用最广泛的废水毒性评估系统^[7]。同时,TU 评估体系中的推荐测试生物,四膜虫、小球藻、大型溞分布广、繁殖快、易获取,而普遍应用于各类废水的毒性评估^[8]。同时,它们分别代表不同营养级的水生生物,能够在广泛意义上表征废水毒性对水环境的影响,因而被选作本研究的受试生物。另外,对于废水生物毒性受试物种的对比分析,是选取合理评估方法的关键。测试物种对比通常是建立在对全质废水(WET)的评估基础上^[9],对水质特点不加区分地使用标准评估生物。近年来,有学者认为^[10],对于特种废水的评估方法应综合水质特性与生物特点来考虑,选择能够真实表征致毒特征污染物毒性的物种。煤热解废水成分极其复杂,难以对致毒污染物逐一研究。根据前人对煤热解废水特征污染物的研究,酚类、氮杂环和多环芳烃等典型环状污染物,是导致煤热解废水生物毒性的主要成分^[11]。结合对环状污染物降解性能和生物活性的研究^[12-13],氮杂环、多环芳烃母体被认为是主要的惰性污染物,而酚类由于羟基的作用表现出较强的反应活性。因此,笔者分别选取了煤热解废水中典型的惰性、活性环状物质作为致毒特征污染物。根据光照条件、水样色度对生物评估结果的影响,通过比较不同生物方法在实际废水的适用性进而选取适合煤热解废水毒性评估的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

小球藻、四膜虫、大型溞来自中科院武汉水生生物研究所。试验所用化合物均为分析纯(纯度 $\geq 99\%$)。煤化工实际废水取自内蒙古某煤化工工厂,水样取自厌氧塔出水、多级 AO 出水和高级氧化出水。

1.2 毒性测试方法

藻类测试方法:取培养 72 h 的小球藻液通过稀释使其在 Biotek Elx800 酶标仪 490 nm 条件下吸光度在 0.07 左右,将不同浓度的样本溶液与藻液混合,加入 96 微孔板中,最终体积为 200 μL 。每块板上样本溶液浓度至少 6 个梯度,每个浓度应设置 3 个平行样,另外需要设置控制组(只含藻液和培养液)、样本空白(不含藻液)与控制空白(仅含培养液),以减小样本变化引起的系统误差。然后将培养板置于光照培养箱中 25 $^{\circ}\text{C}$,4 000 lux 下培养 72 h。最后在酶标仪 490 nm 处测定吸光度,并按式

(1) 计算生长抑制率 μ :

$$\mu = \frac{(OD_C - OD_{BC}) - (OD_T - OD_{BT})}{OD_C - OD_{BC}}$$

式中: OD_C 、 OD_{BC} 、 OD_{BT} 分别为控制组、控制空白和样本空白吸光值; OD_T 为测试组吸光值。

四膜虫测试方法:操作步骤类似于小球藻,培养时间为 24 h,测试前通过稀释使其浓度高于 5×10^4 个/mL,最后在 450 nm 处利用酶标仪测定吸光值。

大型溞测试方法:具体试验步骤参考文献[14]。

1.3 数据统计与分析方法

采用 ChemOffice 2004 对化合物进行计算得辛醇/水分配系数。毒性结果以半数抑制浓度 EC_{50} 表示,通过 SPSS 16.0 在 95%置信区间内对物质/水样浓度和生长抑制率拟合量效(Dose-response)曲线,生成 EC_{50} 值。

2 试验结果与分析

2.1 光照对毒性测试的影响

光照条件是影响毒性测试的重要参数,可能造成测试物质的变化,进而导致生物毒性的改变。由于光照是藻类测试必需条件,主要对比了四膜虫、大型溞分别在测试全程光照与暗置条件下的物质毒性,见表 1 和图 1, EC_{50} 越高,毒性越小。表 1 中酚类视作活性物质,氮杂环和多环芳烃归为惰性化合物^[15]。

由图 1 可以看出,各环状物质毒性差异巨大,苯酚、吡啶分别代表活性物质、惰性物质的最简单结构,而表现最低毒性,大多数物质对大型溞的毒性相对高于四膜虫。光照条件下,酚类物质对 2 种生物毒性高于暗置条件。对四膜虫而言,间苯二酚光照条件下毒性变化最小,仅上升 4.80%,苯酚、对甲酚、对硝基酚分别上升 40.53%、31.88%和 23.30%,邻苯二酚和对苯二酚毒性上升幅度最高,分别为 74.89%、89.77%。而对于大型溞,3 种羟基取代酚毒性上升幅度均超过 70%。通过红外光谱检测发现,经过 24 h 光照,各测试浓度酚样品在 3 600~3 300 cm^{-1} 的吸收峰(酚羟基)均有所降低,而 1 690~1 580 cm^{-1} 处的吸收峰(苯醌基团)均有不同程度的升高,间苯二酚的上升幅度远小于其他 2 种羟基酚,红外光谱的变化验证了酚羟基向醌基的转化^[15]。有学者^[16]指出,羟基取代酚,尤其是 1,2-邻位和 1,4-对位取代具有最高的反应活性,容易转化为醌类,造成

较强的毒性,而 1,3-间位取代结构相对稳定,不易形成醌,这就解释了间苯二酚毒性低于其他的二元酚。然而,3 种羟基酚对大型溞在光照下均有极高的毒性,笔者推测是由于大型溞对电离度强的化合

物较为敏感,羟基酚均有较高的电离度而表现较高的毒性。ZHANG 等^[17]研究结果也表明电离度越高,对大型溞毒性越强。

表 1 典型环状化合物毒性
Table 1 Toxicity data of typical cyclic compounds

化合物	辛醇/水 分配系数	光照条件下 $EC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$			暗置条件下 $EC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$	
		小球藻	四膜虫	大型溞	四膜虫	大型溞
苯酚(P1)	1.64	236.81	204.58	43.41	343.98	96.77
邻苯二酚(P2)	0.91	9.91	1.18	0.21	4.70	0.70
间苯二酚(P3)	0.8	238.75	122.49	0.21	128.67	1.09
对苯二酚(P4)	0.56	8.44	7.71	0.03	75.36	1.44
对甲酚(P5)	2.13	13.94	64.93	5.87	95.32	11.21
对硝基酚(P6)	1.44	22.52	6.19	10.72	8.07	12.57
吡啶(N1)	0.70	2 023.15	1 569.55	203.17	1 547.13	208.52
喹啉(N2)	2.04	158.76	157.48	20.60	116.32	21.36
吡啶(N3)	2.13	38.93	56.84	3.54	49.99	3.82
萘(N4)	3.03	7.16	10.25	6.87	10.37	7.42
联苯(N5)	3.71	3.56	5.14	10.41	5.45	10.68
蒽(N6)	4.03	1.21	0.97	0.15	3.15	9.15

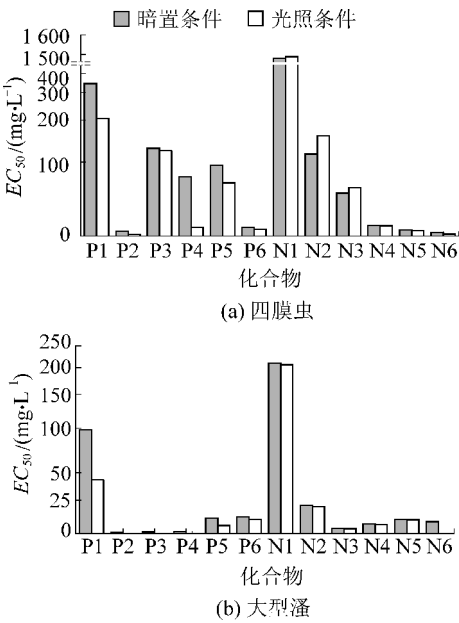


图 1 典型环状污染物在光照、暗置条件下对四膜虫和大型溞的毒性

Fig.1 Toxicity of typical cyclic pollutants on T.thermophile and D.magna under the condition of light and dark

相比于酚类,结构较稳定的氮杂环和多环芳烃毒性受光照的影响较小。其中,杂环对大型溞的毒性随光照变化幅度均小于 10%,而对四膜虫随光照反而出

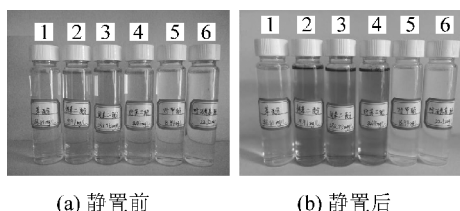
现毒性下降的趋势(图 1a),吡啶、喹啉、吡啶光照 24 h 后毒性分别下降 1.45%、35.39%和 13.7%。

由于吡啶分子均具有缺 π 电子结构,活性最低,因此对 2 种受试物种毒性变化都不大。而稠环芳烃在光照作用下,均会在一定程度上发生羟基化^[18],可生化性、电离度均升高。因此,四膜虫作为降解型微生物^[8],能够更有效地利用羟基化后的氮杂环而引起毒性下降,但大型溞由于对电离分子较为敏感而导致光致毒性升高。至于多环芳烃,类似于含氮稠环,苯环耦合后外围电子密度增大,分子空间位阻效应增强,活性降低,因而萘、联苯对于 2 种生物的毒性随光照并未产生显著变化,上升幅度均低于 10%。然而,蒽对 2 种生物的光致毒性急剧升高,对四膜虫、大型溞毒性分别上升 69.21%和 98.36%。研究发现^[19],蒽易发生光敏化和光修饰作用,激发出单线态氧,对生物的急性毒性急剧升高。而大型溞试验时间较长,且对可电离分子敏感,表现的毒性上升幅度高于四膜虫。显然,光照对于环状化合物毒性的影响较大,尤其是煤热解废水中占主导地位的酚类。

2.2 色度对毒性测试的影响

对于工业废水,高效快速的毒性检测手段主要

是比色法、分光光度法等光谱法,如藻、发光细菌等检测方法,均在一定程度上受水样色度影响。试验过程发现藻类对酚毒性测试结果随色度变化最显著。如图 2 所示,观察到藻类 EC_{50} 浓度下的各类酚颜色变化,邻苯二酚、间苯二酚和对硝基酚原水样即表现出明显的颜色,光照下静置 72 h,发现 3 种羟基酚均有不同程度的颜色加深,苯酚和对甲酚颜色基本没变。



编号 1—6 分别为苯酚、邻苯二酚、间苯二酚、对苯二酚、对甲酚和对硝基酚

图 2 小球藻 EC_{50} 浓度下的各类酚静置前及 72 h 静置后颜色

Fig.2 Color of phenols of EC_{50} concentrations to *C. vulgaris* before and after 72 h exposure

由试验结果可见,颜色变化较大的平行样品相对偏差较大。图 3 为对甲酚、间苯二酚、对硝基酚对藻的量效曲线,由于间苯二酚、对硝基酚随浓度升高颜色变化越来越明显,导致测试平行样的偏差增大,最终曲线的拟合度降低。藻类毒性测试曲线拟合度中除对硝基酚 ($R^2=0.887\ 5$)、邻苯二酚 ($R^2=$

$0.812\ 3$)、对苯二酚 ($R^2=0.804\ 7$) 外,其余均高于 0.95。研究证明,醌类结构具备的发光官能团是导致对应水样高色度的主要原因^[20],同时邻苯二酚、对苯二酚、对硝基酚均有较强的反应活性,能够在光照等作用下迅速生成醌类结构,而间苯二酚结构相对稳定,不易转化为醌,因此其色度变化相对较低,毒性测试拟合度高于其他羟基酚。

光照四膜虫试验中酚颜色变化较大,因而检测拟合度较低,相对偏差较高。苯酚、对甲酚颜色变化不明显,光照的测试结果拟合度也接近 0.999,而其他的酚类似合度均偏低。其中,3 种羟基酚的毒性在暗置条件下的相对偏差均低于 5%,而邻苯二酚、间苯二酚和对苯二酚在光照条件下的相对偏差分别为 88.98%、19.81%和 52.14%。此外,对硝基酚在光照和暗置条件下的相对偏差为 80.29%和 51.67%,对毒性测试的影响都很大。颜色的变化主要影响以光吸收为原理的测试手段,对目视计数的大型蚤方法并无显著影响。因此,暗置的大型蚤测试相对偏差在 0.54%~12.86%,光照下偏差略有升高,最高为对苯二酚相对偏差 33.33%,这可能也与酚向醌类的光转化有关^[20]。而且,对硝基酚在暗置和光照下的偏差为 1.59%和 4.48%,差距远小于四膜虫的测试结果。由于煤热解废水以酚类为主要基质^[21],色度很深且随环境条件变化显著,因此比色法等测定的毒性结果很容易引起较大误差。

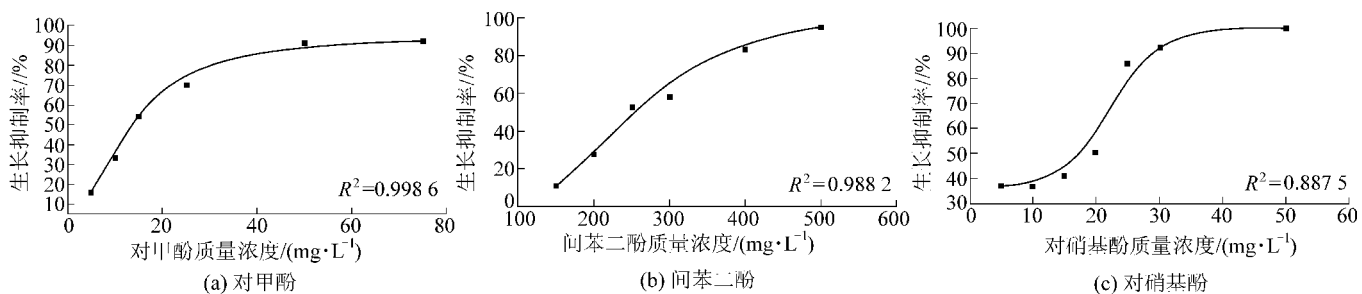


图 3 对甲酚、间苯二酚、对硝基酚对藻的量效曲线

Fig.3 Dose-response curves of p-cresol, resorcinol and p-nitrophenol to algae

2.3 实际废水毒性评估方法适用性

依据前述的影响因素,结合水质特点,对比分析了 3 种生物毒性评估方法在实际煤热解废水的应用。实际煤热解废水各项水质参数见表 2,四膜虫、大型蚤所测毒性均在暗置条件下进行,测定的毒性以 Persoone 毒性分级体系^[8]的 TU 值表示。

对于厌氧出水,由于四膜虫也是分解者,厌氧出

水可生化性较高 ($B/C=0.42$),稀释后的水样用四膜虫测定的结果有明显的低浓度刺激效应,且吸光值也有较大波动,无法得出 TU 值。而由于厌氧出水含有大量酚,大型蚤的测定结果为 $TU=100.87$,属于剧毒,毒性级别为 V 级。好氧出水的酚类显著削减,所以大型蚤测得的毒性大幅下降, $TU=12.13$,但仍显较高的急性毒性 (IV 级)。四膜虫由于可生化性降低 ($B/C=0.11$) 减弱刺激效应,且出水酚类

的下降减轻了色度的影响,因此毒性测试结果能够很好拟合量效曲线($R^2=0.998\ 7$),测得 $TU=6.67$,为低毒(Ⅲ级)。最后,高级氧化出水的可生化性再次提高($B/C=0.37$),四膜虫测试结果在废水比例较低时仍表现出较强的刺激兴奋,曲线拟合不佳($R^2=0.821\ 5$), $TU=1.75$ (Ⅱ级),毒性单位相对于好氧段下降 73.76%。大型蚤测试曲线拟合度随可生化性没有明显变化, R^2 均高于 0.99,好氧段 $TU=8.37$,毒性等级再次下降(Ⅱ级),比好氧段降低 31.00%。对于藻类而言,由于受酚类色度影响,厌氧、好氧段测得吸光值波动较大,无法选取合适的稀释倍数,因而得不出 EC_{50} 和 TU 值。高级氧化出水酚类、色度均显著降低,但曲线仍有较强波动($R^2=0.652\ 2$), $TU<0.2$,此处的波动可能与水中仍有较高的游离氮有关。综上所述,大型蚤对煤热解废水评估的适用性最高,藻类不适合煤热解废水的生物毒性评估,四膜虫可能适合在可生化性较低的好氧段使用。

表 2 实际煤热解废水各工段出水水质

Table 2 Characteristics of effluent from various process of real coal pyrolysis wastewater

出水	pH	质量浓度/($mg\cdot L^{-1}$)				B/C
		COD	BOD ₅	总酚	NIH_4^+-N	
厌氧段	6.35	1 684.13	714.32	318.90	247.30	0.42
好氧段	8.59	218.95	22.37	40.01	32.19	0.11
高级氧化	7.52	100.15	37.06	10.57	30.42	0.37

3 结 论

考察了 3 种测试物种(小球藻、四膜虫、大型蚤)对煤热解废水典型环状污染物的毒性评估,对比了光照、色度对毒性测定结果的影响。研究表明,酚类作为煤热解废水主要致毒污染物,受光照影响毒性变化最明显,其他环状污染物毒性也会受光照影响。因此,为表征废水实际毒性,测试过程应避免光。另外,酚类色度的明显变化导致了比色法等毒性评估方法偏差很大。最后,由于大型蚤毒性评估结果不受光照、色度影响,且敏感度最高,测得实际煤热解废水的厌氧、好氧、高级氧化工艺的出水毒性单位 TU 分别为 100.87、12.13 和 8.37,表现出最高的适用性。反之,藻类评估由于光照、色度、游离氮等影响,无法反映废水真实毒性,不宜采用。四膜虫可能适用于色度、可生化性较低的好氧出水毒性评估。

参考文献(References):

[1] 吴 限.煤化工废水处理技术面临的问题与技术优化研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2016.

[2] 王 伟,韩洪军,张 静,等.煤制气废水处理技术研究进展[J].化工进展,2013,32(3):681-686.

WANG Wei,HAN Hongjun,ZHANG Jing,*et al.*Progress in treatment technologies of coal gasification wastewater [J].Chemical Industry and Engineering Progress,2013,32(3):681-686.

[3] ZHAO Qian,LIU Yu.State of the art of biological processes for coal gasification wastewater treatment [J].Biotechnology Advances,2016,34(8):1442-1444.

[4] MA W,HAN Y,XU C,*et al.*Enhanced degradation of phenolic compounds in coal gasification wastewater by a novel integration of micro-electrolysis with biological reactor (MEBR) under the micro-oxygen condition [J].Bioresource Technology,2018,251:303-310.

[5] ZHU Hao,HAN Yuxing,MA Wencheng,*et al.*Removal of selected nitrogenous heterocyclic compounds in biologically pretreated coal gasification wastewater (BPCGW) using the catalytic ozonation process combined with the two-stage membrane bioreactor (MBR) [J].Bioresource Technology,2017,245:786-793.

[6] LATIF M,LICEK E.Toxicity assessment of wastewaters, river waters, and sediments in Austria using cost-effective microbiotests [J].Environment Toxicology,2004,19(4):302-309.

[7] 余若祯,穆玉峰,王海燕,等.排水综合评价中的生物毒性测试技术[J].环境科学研究,2014,27(4):390-397.

YU Ruozhen,MU Yufeng,WANG Haiyan,*et al.*Review on the aquatic organisms toxicity test in the whole effluent assessment [J].Research of Environmental Sciences,2014,27(4):390-397.

[8] PERSOONE Guido,MARSALEK Blahoslav,BLINOVA Irina,*et al.*A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters [J].Environmental Toxicology,2003,18(6):395-402.

[9] LEE Ya-Ching,WHANG Liang-Ming,MINH Huy Ngo,*et al.*Acute toxicity assessment of TFT-LCD wastewater using *Daphnia similis* and *Cyprinus carpio* [J].Process Safety and Environmental Protection,2016,103:499-506.

[10] RIZZO L.Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment [J].Water Research,2011,45(15):4311-4340.

[11] ZHUANG H,HAN H,JIA S,*et al.*Advanced treatment of biologically pretreated coal gasification wastewater using a novel anoxic moving bed biofilm reactor (ANMBBR)-biological aerated filter (BAF) system [J].Bioresource Technology,2014,157:223-230.

[12] 徐 鹏.煤气废水杂环与多环芳烃化合物生物降解及抑制性研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2016.

[13] BATTERSBY N S,WILSON V.Survey of the anaerobic biodegradation potential of organic-chemicals in digesting sludge[J].Applied and Environmental Microbiology,1989,55(2):433-439.

- [14] 刘国光,徐海娟,王莉霞,等.环境有机污染物对蚤的毒性研究[J].环境与健康杂志,2003,20(6):369-371.
LIU Guoguang, XU Haijuan, WANG Lixia, *et al.* Study on toxicity of toxic organic pollutants to *Daphnia* [J]. Journal of Environment and Health, 2003, 20(6): 369-371.
- [15] 贺润升,徐荣华,韦朝海.焦化废水生物出水溶解性有机物特性光谱表征[J].环境化学,2015,34(1):129-136.
HE Runsheng, XU Ronghua, WEI Chaohai. Spectral characterization of dissolved organic matter in bio-treated effluent of coking wastewater [J]. Environmental Chemistry, 2015, 34(1): 129-136.
- [16] BAJOT F, CRONIN M T D, ROBERTS D W, *et al.* Reactivity and aquatic toxicity of aromatic compounds transformable to quinone-type Michael acceptors [J]. SAR and QSAR in Environmental Research, 2011, 22: 51-65.
- [17] ZHANG Xujia, QIN Weichao, HE Jia, *et al.* Discrimination of excess toxicity from narcotic effect; comparison of toxicity of class-based organic chemicals to *Daphnia magna* and *Tetrahymena pyriformis* [J]. Chemosphere, 2013, 93(2): 397-407.
- [18] 常 灵.紫外辐射加速吡啶和喹啉的生物降解[D].上海:上海师范大学,2014.
- [19] 王 莹.萘醌类和多环芳烃类化合物对水生生物的急性光致毒性及 QSAR 研究[D].大连:大连理工大学,2009.
- [20] 徐春艳,韩洪军,姚 杰,等.煤化工废水处理关键问题解析及技术发展趋势[J].中国给水排水,2014(22):78-80.
XU Chunyan, HAN Hongjun, YAO Jie, *et al.* Analysis on key problems in coal gasification wastewater treatment and its technology development tendency [J]. China Water and Wastewater, 2014(22): 78-80.
- [21] 方 芳,吴 刚,韩洪军,等.我国煤化工废水处理关键工艺解析[J].水处理技术,2017,43(6):37-40.
FANG Fang, WU Gang, HAN Hongjun, *et al.* Key process analysis of wastewater treatment in coal chemical industry in China [J]. Technology of Water Treatment, 2017, 43(6): 37-40.