

# 氧化乐果在绿化废弃物厌氧发酵过程中的降解

邵一心, 顾平道 (东华大学环境科学与工程学院, 上海 201600)

**摘要** [目的]研究厌氧消化方法促进有机磷农药降解的可行性。[方法]采用城市园林绿化废弃物作为发酵底料,同时向厌氧消化系统中滴加有机磷农药——氧化乐果,采用气象色谱仪检测发酵系统中农药的浓度。[结果]厌氧消化系统中农药的浓度越低,其降解速度越快;在厌氧消化系统负荷下,140 mg/L氧化乐果是该系统能够消解的极限。氧化乐果浓度达到60 mg/L以上时,逐渐开始出现对厌氧消化系统产沼气的抑制作用,系统的产沼气能力降低,氧化乐果浓度在100 mg/L以上时对产气造成了严重抑制。随着反应的进行,pH稳步升高,最终稳定在6.5~7.3,该pH适宜于甲烷的生长。[结论]利用城市绿化废弃物发酵降解有机磷农药是可行的。

**关键词** 绿色垃圾;厌氧发酵;有机磷农药;氧化乐果

中图分类号 S216.4 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)04-0070-03

## Experiment on Degradation of Omethoate in Green Waste Anaerobic Degradation System

SHAO Yi-xin, GU Ping-dao (College of Environment Science and Engineering, Donghua University, Shanghai 201600)

**Abstract** [Objective] To study the feasibility of anaerobic digestion to promote the degradation of organophosphorus pesticides. [Method] Platanus leaves were used as raw materials for anaerobic digestion. Omethoate was dropped into the fermentation system. Gas chromatography was used to detect the concentration of the pesticides in the fermentation system. [Result] The result showed that the lower the concentration of pesticide in anaerobic digestion system, the faster the degradation rate. Under the load of anaerobic digestion system set up by experiment, the 140 mg/L of dimethoate was the limit of this system. At the omethoate concentration of 60 mg/L, there began to appear the biogas production inhibition, and when the omethoate concentration was over 100 mg/L, the inhibition became extremely serious. With the reaction, pH steadily increased and finally stabilized at 6.5-7.3. The pH was suitable for the growth of methanogens. [Conclusion] It is feasible to use urban greening waste to ferment and degrade organophosphorus pesticides.

**Key words** Green waste; Anaerobic fermentation; Organophosphorus pesticide; Omethoate

近年来,在绿化面积不断增长的同时,园林绿化废弃物的回收利用问题逐渐凸显。现阶段园林绿化废弃物的处理主要停留在焚烧及填埋2种手段上,造成了极大的浪费,少部则分用来进行堆肥,使之转化成有机肥料<sup>[1]</sup>。然而,利用废弃物进行厌氧发酵产沼气的研究较少。在进行城市园林绿化废弃物厌氧发酵的同时,发现发酵系统中农药浓度对于发酵的产气量、产气时间等指标有影响。因此笔者探究了农药与发酵过程之间的关系,并使用气相色谱技术对发酵体系的农药含量进行检测<sup>[2-3]</sup>,研究有机磷在绿化废弃物厌氧发酵过程中的降解。

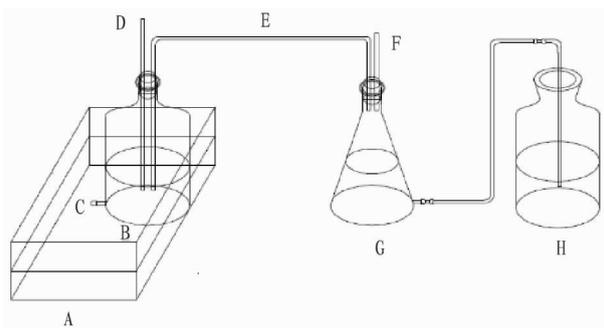
## 1 材料与方

**1.1 供试废弃物与接种物** 以上海某大学校园内常见园林作物——悬铃木(英国梧桐)树叶作为厌氧发酵底物,采用实验室中式中温厌氧发酵反应系统中驯化良好的猪粪作为厌氧发酵系统的接种物<sup>[4]</sup>。底物的总固形物(TS)含量为88.1%,挥发性固体(VS)含量为25.6%;接种物的TS含量为13.35%,VS含量为76.25%。

**1.2 试剂与仪器** 气相色谱仪:天美GC9700,检测器FID;色谱柱:TD-5,30 m×0.25 mm×0.5 μm,C18SPE柱,真空固相萃取装置,隔膜真空泵,氮吹仪,氢气发生器,空气进样器。农药标准品:中国计量科学研究院。化学试剂:NaCl,乙腈,正己烷,丙酮,乙酸乙酯,甲醇,正丁醇,所有试剂均为分析纯级别。

**1.3 试验装置** 采用自行研发的厌氧发酵系统(图1),建立批量式发酵产沼气装置,为了便于收集沼液并维持反应系统的厌氧状态,反应发生装置为特制的下口瓶,替代了从瓶

口取样的传统方式。用HH-4型恒温水浴锅为反应过程提供恒温条件,选择中温环境发酵,发酵温度为35℃<sup>[5-6]</sup>。产生的气体采用排饱和食盐水法收集。下口瓶规格为500 mL,试验开始前,将发酵底物悬铃木树叶机械粉碎至1 mm<sup>3</sup>形状碎片,随后向瓶中加入30 g发酵底物、70 g接种物及347 mL蒸馏水,使得整个厌氧发酵体系的总体积达到400 mL,TS含量为8%<sup>[7]</sup>。测量沼气中甲烷含量的仪器为进口高灵敏度甲烷二氧化碳检测器。试验中滴加的农药为市面上常见的有机磷农药氧化乐果乳油(20%)。氧化乐果量为0、20、40、60、80、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300、320 mg(每个浓度设置3个平行)。发酵系统对应滴加量及浓度见表1。



注:A. 温度计;B. 发酵罐;C. 取样口;D. 温度计;E. 导气管;F. 气体取样口;G. 集气瓶;H. 大口瓶

Note: A. thermometer; B. fermentor; C. sampling port; D. thermometer; E. trachea; F. gas sampling; G. collector; H. large bottle

图1 厌氧发酵系统反应装置

Fig. 1 Reaction device of anaerobic fermentation system

## 1.4 固相萃取操作

**1.4.1 水样预处理。**先从上口瓶瓶口取出3~4 mL沼液,放入离心机中以9 000 r/min离心30 min,目的是分离杂质。

作者简介 邵一心(1993—),男,安徽宿州人,硕士研究生,研究方向:新能源。

收稿日期 2017-11-17

表 1 农药滴加量及对应浓度

Table 1 Pesticide dosage and corresponding concentration

编号 No.	农药滴加量 Pesticide dosage mg	氧化乐果含量 Omethoate content mg	浓度 Concentration mg/L
1	0	0	0
2	20	4	10
3	40	8	20
4	60	12	30
5	80	16	40
6	100	20	50
7	120	24	60
8	140	28	70
9	160	32	80
10	180	36	90
11	200	40	100
12	220	44	110
13	240	48	120
14	260	52	130
15	280	56	140
16	300	60	150
17	320	64	160

提取上层清液 2 mL,加入缓冲液调整水样 pH 至 7~8,并加入 2% NaCl,于水样中加入 2%~3% 乙腈进行 SPE 填料活化<sup>[8]</sup>。

**1.4.2 SPE 柱活化。**常压状态下,先用 5 mL 蒸馏水洗涤 SPE 柱,再向柱中加入用 5 mL 丙酮,并保持溶液以 1 mL/min 的速度通过填料,即将抽干时再加入 5 mL 乙酸乙酯,仍保持 1 mL/min 的速度通过填料。在溶液抽干前加入少量蒸馏水保持填料湿润。

**1.4.3 样本富集。**加入蒸馏水后,在蒸馏水抽干之前加入处理好的上层清液,在小于 20 Mpa 的压力下,控制流速为 1 mL/min<sup>[9]</sup>,在填料接触空气之前加入 5 mL 蒸馏水洗涤 SPE 柱。

**1.4.4 样本洗脱。**在蒸馏水抽干前加入 5 mL 甲醇,使甲醇保持 1 mL/min 的速度通过填料,再加入 5 mL 丙酮,保持相同的速度,注意加入丙酮前避免填料接触空气。

**1.5 色谱条件** 载气:高纯氮气(纯度 >99.999%),柱流速:1 mL/min;进样口温度:280 ℃;不分流进样,分流比为 1:40;载气压力为 306.138 kPa。

柱温程序:初始温度 50 ℃,保持 1 min;以 30 ℃/min 升温至 130 ℃,保持 2 min;以 20 ℃/min 升温至 180 ℃,保持 1 min;以 20 ℃/min 升温至 240 ℃,保持 1 min;以 3 ℃/min 升温至 280 ℃,保持 1 min。

**1.6 氧化乐果标准浓度曲线绘制** 农药含量检测参照国家标准 GB 13192—91《水质 有机磷农药的测定 气相色谱法》,采用外标法定量<sup>[10]</sup>。首先将农药标准品配置成 0.1、10、40、80、120、160 mg/L 一系列浓度梯度的标准溶液,随后进行色谱分析,记录氧化乐果的保留时间,根据浓度和对应的峰面积大小绘制出标准曲线<sup>[11]</sup>。在上述色谱条件下,用气相色谱仪中检测农药标准品,并以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准浓度曲线(图 2)。回归方程为  $y = 25.214x + 2764.680$ ,相关系数  $R^2 = 0.99227$ 。

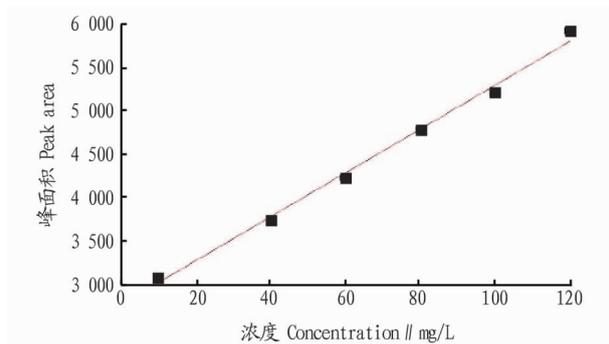


图 2 农药标准曲线

Fig.2 Standard curve of pesticide

试验启动后,于每日 18:00 准时测量收集到的厌氧发酵产气,记录甲烷和二氧化碳含量,每天收集并测量一次发酵沼液中农药浓度,并进行记录<sup>[12]</sup>。

## 2 结果与分析

**2.1 厌氧发酵系统中氧化乐果浓度的变化** 整个厌氧发酵系统总反应时间为 35 d,产气周期结束时,滴加的氧化乐果也得到了有效降解。从图 3 可以看出,氧化乐果的降解周期与滴加的浓度存在着明显的关系,10 mg/L 农药的降解只需 4 d,随着浓度的增加,降解所需的周期也增大为 8、9、11、13、15、18、19、20、22 d。试验开始进行前 10 d,浓度低于 20 mg/L 的氧化乐果已经被完全降解,试验开始 20 d 后,120 mg/L 以下浓度的农药完全被降解。而当浓度达到 130 mg/L 时,降解周期已经明显增大,尤其当初始浓度为 140 mg/L 时,经过 35 d 的产气周期,仍有少量氧化乐果未被彻底降解。由此可知,绿化废弃物厌氧发酵可以促进氧化乐果的降解,降解所需的时间与农药的浓度呈正相关关系,浓度越大,周期越长。在该试验的设计条件下,整个发酵体系可承受的负荷浓度为 140 mg/L。

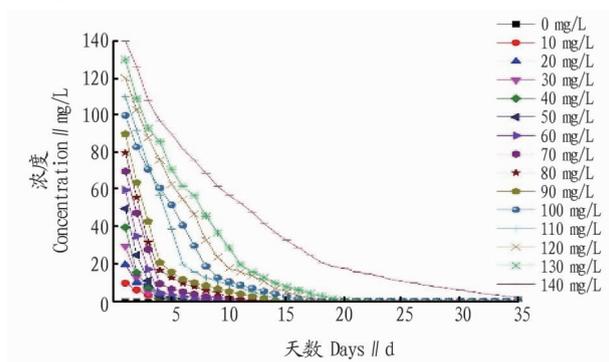


图 3 氧化乐果浓度随时间的变化

Fig.3 The change of Omethoate concentration with time

**2.2 日产气量和累计产气量** 由图 4 可知,在发酵初期,产气量虽然高,但甲烷含量低,因此发酵初期甲烷累计产气量不高,发酵进入第 5 天之后,各浓度产生的气体中甲烷含量逐渐升高,进入终期之后,甲烷含量降低。从图 4 可以看到浓度对于日产气高峰的影响,浓度为 0 mg/L 时,发酵体系在第 6 天达到日产气高峰,随着浓度的不断升高,产气高峰不断向后推移。60 mg/L 以下浓度的厌氧发酵体系中,日产气

量和未滴加农药的体系相比差别不大,并且产气高峰都集中在5~12 d,在该浓度梯度内,氧化乐果对日产气量和产气高峰并无太大影响,当浓度达到80 mg/L时,最大日产气量已降至0 mg/L的50%。80~120 mg/L时,氧化乐果已经对产气的高峰值产生了明显影响,且将产气高峰推到15 d之后。而当浓度达到130~140 mg/L时,农药的存在已经严重影响整个厌氧发酵系统的正常反应,日产气峰值仅为20 mL,而达到产气高峰的时间需要21 d,接近反应周期的末期。可以推断造成这种现象的原因可能是产甲烷菌对环境要求较高,而高浓度的氧化乐果会破坏产甲烷菌的生活环境,甚至会杀死这些细菌,从而大大降低产气性能。

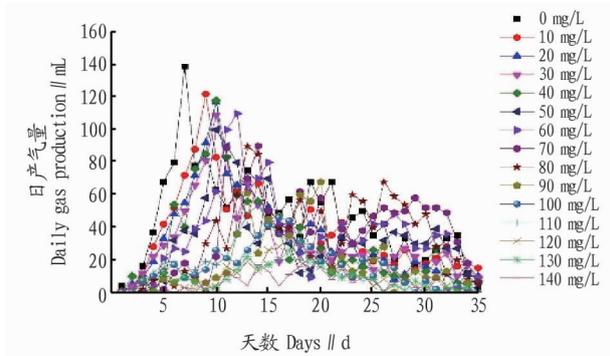


图4 氧化乐果浓度对日产气高峰的影响

Fig. 4 The effect of Omethoate concentration on the peak of daily gas production

图5反映了累计产气量随时间的变化情况,累计产气量直接受到日产气量的影响,可以看到累计产气量斜率最大的地方,也就是累计产气量增长最快的地方,正好对应图4中日产气量的高峰时段。从图5可以看出,氧化乐果的存在在一定程度上抑制了正常的厌氧发酵。产气总量大致分为3个区域,第1区域为1 600 mL,对应为未滴加农药的发酵系统,第2个区域为1 000~1 300 mL,对应的浓度为10~80 mg/L,第3个区域为200~600 mL,对应的浓度为90 mg/L,这表明高浓度的氧化乐果已经严重抑制了发酵系统的产气量。

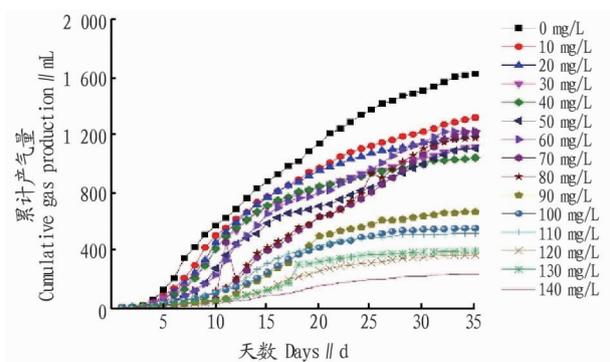


图5 氧化乐果浓度对累计产气量随时间变化的影响

Fig. 5 The effect of Omethoate concentration on the change of cumulative gas production

**2.3 甲烷含量和pH变化** 从图6可以看出,在0~90 mg/L浓度范围内,甲烷含量并无特别大的差距,农药的存在并未

对产气产生特别大的影响。然而,当农药的浓度达到120 mg/L时,甲烷含量大幅降低,仅为0 mg/L系统的50%,说明高浓度的氧化乐果会对厌氧消化系统产生的沼气质量造成持续性的影响。

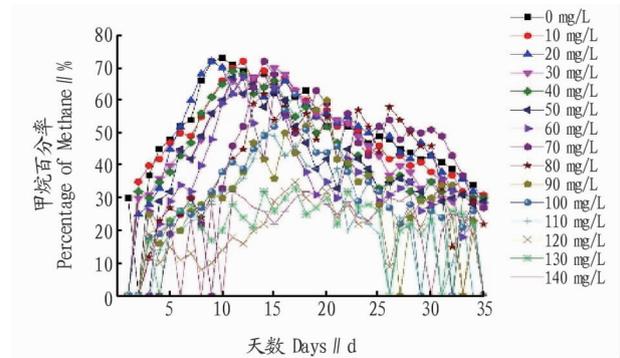


图6 氧化乐果浓度对甲烷含量变化的影响

Fig. 6 The effect of Omethoate concentration on the change of methane content

从图7可以看出,滴加农药的量越多,发酵液的初始pH越低,所有发酵系统的初始pH均低于6.2,呈酸性,其原因是氧化乐果遇水呈酸性。随着发酵的进行,pH不断上升,证明氧化乐果的性质和结构在发酵的作用下发生了改变。氧化乐果的降解使得发酵体系的pH不断恢复到6.5~7.3,此为产甲烷菌最适宜的生存环境。

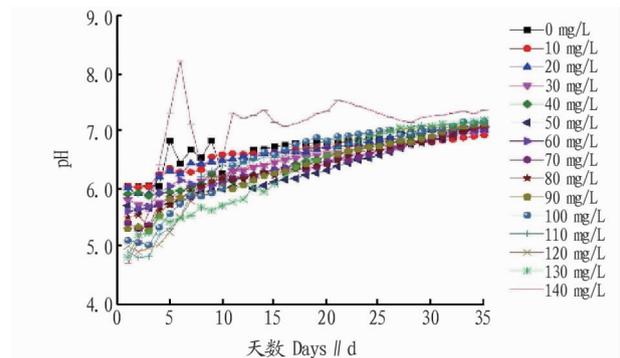


图7 氧化乐果浓度对pH变化的影响

Fig. 7 The effect of Omethoate concentration on the change of pH

### 3 结论与展望

(1) 该试验探究了有机磷农药氧化乐果在绿化废弃物厌氧发酵反应体系中的降解情况,得到如下结论:①氧化乐果可在以城市绿化废弃物为底物的厌氧发酵体系中得到有效降解,在该试验条件下,设置的所有浓度梯度的农药均被完全降解,在厌氧发酵周期的前5 d,农药的降解速率最快;②氧化乐果的存在对日产气量峰值和总产气量均有抑制作用,产气高峰的出现也会延迟;农药浓度低于80 mg/L时,影响并不明显,浓度达到90 mg/L时,产气量会受到严重影响;③氧化乐果浓度在10~100 mg/L时,甲烷含量相比于无农药的发酵系统差别不大,但在高浓度(>100 mg/L)条件下,产气质量明显受到影响;④氧化乐果溶液会使发酵液呈酸性,(下转第76页)

表4 粘红酵母 J2-75 对小鼠脏器指数的影响(n=3)

Table 4 Effects of *Rhodotorula glutinis* J2-75 on organ index of mice (n=3)

组别 Group	心脏 Heart	肝脏 Liver	脾脏 Spleen	肺脏 Lung	肾脏 Kidney
试验组④Test group ④	0.43 ± 0.02	4.26 ± 0.05	0.34 ± 0.04	0.66 ± 0.04	1.16 ± 0.02
试验组⑤Test group ⑤	0.42 ± 0.02	4.23 ± 0.10	0.29 ± 0.03	0.61 ± 0.01	1.13 ± 0.04
试验组⑥Test group ⑥	0.44 ± 0.03	4.15 ± 0.11	0.36 ± 0.04	0.60 ± 0.03	1.11 ± 0.02
对照组 Control group	0.48 ± 0.03	4.40 ± 0.15	0.32 ± 0.06	0.60 ± 0.04	1.12 ± 0.03

### 3 讨论

在小鼠毒性试验中,将3个不同浓度的胶红酵母 J6-82 和粘红酵母 J2-75 菌悬液灌服小鼠,连续灌服 14 d。在此期间,各试验组小鼠均呈健康活泼状态,无发病、死亡现象,体质量变化和饮水量正常,无病理解剖学变化;各试验组小鼠的心脏、肝脏、脾脏、肺脏和肾脏指数与对照组相比无显著差异,说明 2 株红酵母对小鼠无急性毒副作用;各试验组小鼠的淋巴细胞比率和淋巴细胞总数均显著高于对照组,说明这 2 株红酵母能够增强小鼠机体的免疫力,且粘红酵母菌 J2-75 具有更强的提高免疫力的作用。

徐占利等<sup>[14]</sup>用筛选出的胶红酵母菌株进行了急性毒性及遗传性毒性研究,采用急性经口毒性试验、Ames 试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验及小鼠精子畸形试验对胶红酵母进行安全性评价,结果表明胶红酵母菌属于安全无毒性,并且未见其遗传毒性。该试验结果亦证实了胶红酵母 J6-82 和粘红酵母 J2-75 突变菌株对小鼠无急性毒性,至于是否有遗传性毒性尚有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] CONNELL L, BARRETT A, TEMPLETON A, et al. Fungal diversity associated with an active deep sea volcano: Vailulu'u Seamount, Samoa [J]. *Geomicrobiology journal*, 2009, 26(8): 597-605.
- [2] HAGLER A N, MENDONCA-HAGLER L C. Yeasts from marine and estuarine waters with different levels of pollution in the state of rio de janeiro,

- Brazil [J]. *Applied and environmental microbiology*, 1981, 41(1): 173-178.
- [3] PRABHAKARAN N, GUPTA R. Yeasts from the sediment samples of the EEZ along the southwest coast of India [J]. *Journal of the marine biological association of India*, 1991, 33(1/2): 455-459.
- [4] YAMASATO K, GOTO S, OHWADA K, et al. Yeasts from the Pacific Ocean [J]. *Journal of general and applied microbiology*, 1974, 20(5): 289-307.
- [5] ZHANG X, HUA M X, SONG C L, et al. Occurrence and diversity of marine yeasts in Antarctica environments [J]. *Journal of ocean university of China*, 2012, 11(1): 70-74.
- [6] 叶伟庆, 吴园园, 高上吉, 等. 4 株海洋红酵母分离鉴定及其代谢产物分析 [J]. *热带作物学报*, 2013, 34(10): 2046-2050.
- [7] 孙建男, 谢为天, 刘颖, 等. 海洋红酵母的研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(4): 84-88.
- [8] ZHANG H Y, YANG Q Y, GE L L, et al. Chitin enhances biocontrol of *Rhodotorula mucilaginosa* to postharvest decay of peaches [J]. *International journal of biological macromolecules*, 2016, 88(7): 465-475.
- [9] YANG K, YANG Y Y, LI Z J, et al. Analysis on nutrition components in *Rhodotorula mucilaginosa* [J]. *Guangdong agricultural sciences*, 2014(5): 146-149, 154.
- [10] 杨世平, 吴灶和, 简纪常. 一株海洋红酵母 (*Rhodospiridium paludigenum*) 的营养组分分析 [J]. *饲料工业*, 2011, 32(10): 52-54.
- [11] 汪洋, 孔维宝, 韩锐, 等. 红酵母简介 [J]. *生物学通报*, 2015, 50(4): 15-17.
- [12] 尹安伟, 路怀灯. 海洋红酵母作为水产饲料添加剂的开发应用研究 [J]. *科学养鱼*, 2010(5): 64-65.
- [13] 孙建男, 刘影, 谢为天, 等. 雷州半岛近岸海域海洋红酵母的分离鉴定 [J]. *热带海洋学报*, 2017, 36(4): 87-92.
- [14] 徐占利, 张红印, 黄星奕. 胶红酵母的急性毒性及遗传毒性研究 [J]. *食品工业科技*, 2010(12): 303-305.

(上接第 72 页)

不利于产甲烷菌的生长,但随着发酵反应的不断进行,氧化乐果被降解,pH 稳步升高,最终会稳定在利于细菌生长的 pH 范围内。

(2) 该研究结果表明,利用城市绿化废弃物厌氧发酵降解农药的方法是可行的,该方法不仅可以处理废物,生产沼气,还可以促进农药的降解。因此,可以在以厌氧消化为主要工艺的沼气工程设置试点,进一步研究农药降解的最大负荷,观察实际效果,并推广该方法。

### 参考文献

- [1] ALI G, NITIVATTANANON V, ABBAS S, et al. Green waste to biogas: Renewable energy possibilities for Thailand's green markets [J]. *Renewable and sustainable energy reviews*, 2012, 16(7): 5423-5429.
- [2] 涂亿江. 我国农药残留快速检测技术的研究与应用现状 [J]. *农药科学与管理*, 2003, 24(4): 14-16.
- [3] 朱赫, 纪明山. 农药残留快速检测技术的最新进展 [J]. *中国农学通报*,

- 2014, 30(4): 242-250.
- [4] 陈荣艳. 新能源沼气在农村发展中的利用 [J]. *农业与技术*, 2013(9): 7.
- [5] 成官文, 朱宗强, 胡乐宁, 等. 几种常见农业有机废物产沼气研究 [C] // 第十届中国科协年会论文集(二). 北京: 中国科学技术协会学会学术部, 2008.
- [6] 孙树贵, 任广鑫, 翟宁宁, 等. 中温下 3 种落叶厌氧发酵产气量研究 [J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(19): 10164-10166.
- [7] 刘荣厚, 郝元元, 武丽娟. 温度条件对猪粪厌氧发酵沼气产气特性的影响 [J]. *可再生能源*, 2006(5): 32-35.
- [8] 高玲, 杨元, 景露, 等. 水中 13 种有机磷农药的固相萃取-气相色谱-质谱测定法 [J]. *环境与健康杂志*, 2009, 26(8): 723-725.
- [9] 刘丰茂, 钱传范, 江树人. 水中 12 种农药的固相萃取及 GC-MS 测定方法研究 [J]. *农药学报*, 2000, 2(2): 89-93.
- [10] 钟宁, 曾清如, 姜洁凌, 等. 有机磷农药的降解及其研究进展 [J]. *现代农药*, 2005, 4(6): 1-6.
- [11] 陈少华, 罗建军, 林庆胜, 等. 农药残留降解方法研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(1): 343-345.
- [12] 吉喜燕. 有机磷农药在厌氧消化系统中的降解研究 [D]. 昆明: 云南师范大学, 2016.