

中华人民共和国国家标准

GB/T 21816—2008

化学品 固有生物降解性 赞恩-惠伦斯试验

Chemicals—Inherent biodegradability—Zahn-Wellens test



080927000241

2008-05-12 发布

2008-09-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

2008年10月17日上午
发布

前 言

本标准等同采用经济合作与发展组织(OECD)化学品测试导则 No. 302B(1992 年)《赞恩-惠伦斯试验》(英文版)。

本标准做了下列编辑性修改：

——将计量单位改为我国法定计量单位。

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准负责起草单位：环境保护部化学品登记中心。

本标准参加起草单位：环境保护部南京环境科学研究所、沈阳化工研究院安全评价中心、上海市检测中心。

本标准主要起草人：刘纯新、卢玲、聂晶磊、刘济宁、石利利、侯松颀、赵华清。

化学品 固有生物降解性 赞恩-惠伦斯试验

1 范围

本标准规定了化学品固有生物降解性赞恩-惠伦斯试验的方法概述、试验准备、试验程序、质量保证与质量控制、数据与报告。

本标准适用于测定可溶于水的(水中质量浓度不低于 50 mg/L,以 DOC 计)、非挥发的、无强吸附性的、不因溶液发泡而损失的、对试验浓度下对微生物无抑制作用的化学品的固有生物降解性。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

固有生物降解性 inherent biodegradability

最佳试验条件下,受试物长时间与接种物接触表现出的生物降解潜力。

2.2

初级生物降解 primary biodegradation

受试物在生物作用下化学结构发生变化致使特性丧失的过程。

2.3

总有机碳 total organic carbon; TOC

试验介质(包括溶液和悬浮液)中有机碳的总量。

2.4

溶解性有机碳 dissolved organic carbon; DOC

溶液中有机碳的含量,通常指通过 0.45 μm 滤膜过滤后液体中的有机碳含量,或经 4 000 r/min 转速离心 15 min 后上清液中的有机碳含量。

2.5

化学需氧量 chemical oxygen demand; COD

在强酸并加热条件下,一定量的重铬酸盐氧化水样中还原性物质所消耗氧化剂的量,可表示为每毫克受试物消耗的氧气毫克数(mg/mg)。

3 受试物信息

- a) 有机碳含量;
- b) 水中溶解度;
- c) 蒸气压;
- d) 发泡性;
- e) 微生物毒性;
- f) 吸附性;
- g) 结构式。

4 方法概述

4.1 原理

含有受试物的试验培养基加入一定量的接种物,于 $20^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$ 在散射光或黑暗中对试验溶液搅拌、曝气培养 28 d。间隔一定时间采样,测定样品中 DOC 或 COD 含量,生物降解率用 DOC 或 COD 的去除率表示(经空白值校正后)。将受试物的生物降解率对相对应的时间点绘图,即为生物降解曲线。若受试物发生生物化学反应,需采用化学方法分析受试物初级生物降解性。

4.2 参比物

为了检测活性污泥的活性,每次试验都需要平行设置含已知生物降解性的物质作参比物。本标准推荐乙二醇、二甘醇、十二烷基硫酸盐或苯胺(新蒸馏得到的)作为参比物,若使用该参比物,这些物质在 14 d 内 DOC 或 COD 去除率应不低于 70%。

5 试验准备

5.1 设备

- 玻璃圆柱形容器(1 L~5 L),每个都带有由惰性材料制成的搅拌器,要求搅棒在容器底部以上 5 cm~10 cm 处旋转(也可以用带 7 cm~10 cm 长搅棒的磁力搅拌器代替)。除搅拌器外,还须在容器底部以上 1 cm 处接一根内径为 2 mm~4 mm 的玻璃管,用以导入空气;
- 一个供压缩空气通过的棉质滤网和一个盛有水的洗瓶,或者是一个传送无尘、无油和无有机杂质的空气通气泵;
- 离心机(离心力高于 1 000 g);
- pH 计、溶解氧测定仪和滤膜(孔径 $0.2\ \mu\text{m} \sim 0.45\ \mu\text{m}$);
- DOC 测定仪或 COD 测定仪。

5.2 接种物

可以由正常运转的污水处理厂(出水中 BOD 低于 $25\ \text{mg/L}$)采集新鲜活性污泥样品,用培养基或自来水冲洗两遍。1 000 g 离心 3 min~5 min 或静置将活性污泥进行分离。在特殊情况下,为了得到尽可能多样化的菌种,可将不同来源(如其他污水处理厂、土壤浸出液、河水等)得到的样品进行混合,并按上述方法处理。污泥样品要在采样后 6 h 之内使用,否则需要将其溶于培养基中曝气直至使用,用参比物来检验污泥的活性。

5.3 试验用水

使用去除毒性物质(如 Cu^{2+})的高纯度去离子水或蒸馏水,为了降低空白值,水中所含有机碳应较低,每组系列试验使用一批水。

5.4 培养基

5.4.1 试验培养基贮备液

用分析纯试剂制备下列贮备液:

- 磷酸缓冲液:称取 8.50 g 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)、21.75 g 磷酸氢二钾(K_2HPO_4)、33.40 g 二水合磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)和 0.5 g 氯化铵(NH_4Cl),用水溶解,定容至 1 L, pH 值为 7.4。
- 氯化钙溶液:称取 27.50 g 无水氯化钙(CaCl_2)或 36.40 g 二水合氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),用水溶解,定容至 1 L。
- 硫酸镁溶液:称取 22.50 g 七水合硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$),用水溶解,定容至 1 L。
- 氯化铁溶液:称取 0.25 g 六水合氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$),用水溶解,定容至 1 L。加入 0.05 mL 浓盐酸或 0.4 g/L EDTA 二钠盐缓冲溶液保存。

上述贮备液中如果出现沉淀,则需重新配制。

5.4.2 试验培养基的制备

取 5.4.1 中磷酸缓冲液 10 mL 与 800 mL 试验用水混合,再分别加入氯化钙溶液、硫酸镁溶液和氯化铁溶液各 1 mL,定容至 1 L。

6 试验程序

6.1 组别设计

通常,试验中需要设置下列组别:

- a) 含受试物和接种物的试验组;
- b) 仅含接种物的接种物空白对照组;
- c) 含参比物和接种物的程序对照组。

6.2 试验操作

试验开始前,应用适当的方法确定受试物在试验浓度下对活性污泥的抑制作用。如果发现有抑制作用,则应降低受试物浓度直至不会产生抑制效应的水平。

向试验容器中加入 500 mL 培养基、适量的受试物和接种物,保证内含物含有 DOC 50 mg/L~100 mg/L 或 COD 100 mg/L~1 000 mg/L 和 200 mg/L~1 000 mg/L 接种物(干重),接种物和受试物(如 DOC)的比率控制在 2.5:1~4:1 范围内,根据测试需要用试验培养基定容到 1 L~5 L。同时设置一个或两个仅含接种物和培养基的空白对照。同时,在每个试验中设置一个用参照物代替受试物的程序控制平行。如果需要获得非生物降解方面的数据,则要准备灭过菌的、未接种的受试物溶液。将试验瓶放在 20℃~25℃ 散射光或黑暗中,用纯净、潮湿的空气对悬浮液曝气、必要时进行搅拌以确保试验悬浮液中的污泥不沉淀,培养 28 d。试验期间,确保试验溶液溶解氧浓度不低于 1 mg/L,按一定时间间隔检测 pH 值,必要时用 NaOH 或 H₂SO₄ 调节 pH 值至 6.5~8.0。

在试验开始后 3 h±0.5 h 后采样确定活性污泥对受试物的吸附情况,在第 1 天到第 27 天期间,至少采样 4 次;若降解过程在第 28 天前达到稳定,则在试验结束的最后两天取样,否则在第 27 天和第 28 天采样。取样体积取决于所使用碳分析仪的类型,为了描绘稳定期或是否存在驯化过程,必须额外增加采样次数。

6.3 驯化

如果达到驯化状态(见附录 A 图 A.2),则需以较短的时间间隔(如每天)进行 DOC 或 COD 分析。如果在试验的最后一天达到驯化状态,则需延长试验时间。

如需更多地了解已驯化污泥的行为,可将该污泥重新暴露于受试物中,即停止搅拌和曝气,使活性污泥沉淀,舍弃上清液,注入试验培养基至原来的体积,搅拌 15 min,然后再重复一次上述操作。也可以用离心代替沉淀来分离活性污泥。用经过上述处理的污泥重新进行试验,如果已处理污泥的量达不到 0.2 g/L~1 g/L(干重)的要求,可向其中加入新鲜污泥。

6.4 分析方法

对采集的污泥悬浮液样品(包括试验组、空白对照组和程序控制组)进行过滤,舍弃前 5 mL 滤液。过滤时应使用认真清洗过的滤纸或滤膜,同时必须确保所用滤纸或滤膜既不释放也不吸附有机化合物。如果不能确定,则应将滤膜用约 60℃ 的去离子水或蒸馏水冲洗 3 次,去除可溶性有机物,净化的滤膜可置于水中保存。通过离心或其他合适的分离技术对难过滤的污泥进行分离。

用适当的方法对过滤或分离后的样品进行 DOC 或 COD 测定,重复 2 次。初级生物降解性需采用特异方法(如紫外光谱法)分析受试物。若样品不能在采样当天进行分析,样品可在 2℃~4℃ 下保存 48 h 或在 -18℃ 可保存较长时间,但建议不要长时间保存。

7 质量保证与质量控制

7.1 14 d 内参比物的去除率达到 70% 或者试验悬浮中 DOC 或 COD 在每天、每周逐步地去除(这表明生物降解的发生),即说明试验是有效的。

7.2 DOC测定范围通常为0.5 mg/L~1 mg/L(以C计)、COD测定一般为15 mg/L(以O₂计)。

8 数据与报告

8.1 数据处理

由式(1)计算 t 时刻的生物降解率:

$$D_t = \left(1 - \frac{c_t - c_B}{c_A - c_{BA}}\right) \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

D_t ——时刻 t 的生物降解率,以%表示;

c_A ——3 h±0.5 h培养期后,试验悬浮液中DOC或COD值,单位为毫克每升(mg/L);

c_t ——时刻 t 试验悬浮液中DOC或COD平均值,单位为毫克每升(mg/L);

c_{BA} ——3 h±0.5 h培养期后,空白对照中DOC或COD平均值,单位为毫克每升(mg/L);

c_B ——时刻 t 空白对照中DOC或COD平均值,单位为毫克每升(mg/L)。

参比物生物降解率的计算方法同上。绘出生物降解过程曲线图(如附录A),在数据表中记录所有结果。

在某些情况下,试验开始后的3 h内发生完全或很明显的降解,空白对照和试验溶液的差别意外地小,这表明物理化学吸附在起一定的作用。在这种情况下,可以将开始后3 h的值、从加入受试物的量计算得到的初始值及接种物加入前的测定值进行比较,以获得额外的信息。如果要知道生物降解(或部分降解)和吸附之间的准确区别,需做进一步的试验,较为适宜的是用悬浮的已驯化的污泥做接种物进行呼吸快速生物降解试验。

受试物的降解率很低甚至为零时,可能是由于受试物对微生物存在抑制作用,此时应通过试验浓度下的微生物毒性试验来排除这种可能性。

8.2 结果报告

试验报告应包括以下内容:

a) 受试物

——物质的物理属性,以及相关的物理化学特性;

——受试物鉴别数据。

b) 接种物

——来源;

——浓度;

——驯化情况。

c) 试验条件

——分析方法;

——程序控制和控制所用的化合物;

——程序改变的原因及解释说明。

d) 结果

——生物降解曲线;

——毒性评价;

——静态试验某天后的固有生物降解性(在28 d试验结束时或不满28 d已经达到完全降解时的生物降解程度);

——活性污泥吸附情况(试验开始3 h第一次采样时测定的DOC或COD结果与根据受试物加入量计算得到DOC或COD之间的显著差异);

——从生物降解曲线上确定的驯化期(d)、降解期(d)和某天后达到的降解终点。

e) 结果讨论。

附录 A
(资料性附录)
生物降解示例

生物降解和污泥驯化示例分别见图 A.1 和图 A.2。

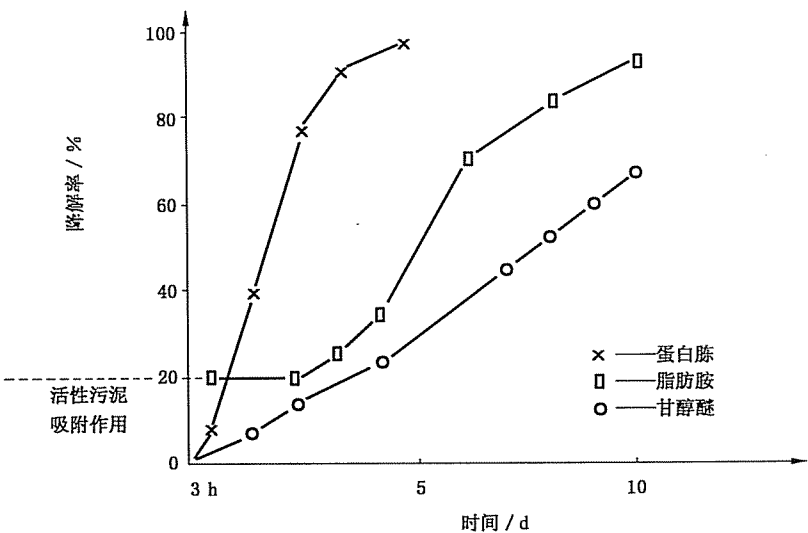


图 A.1 生物降解曲线示例

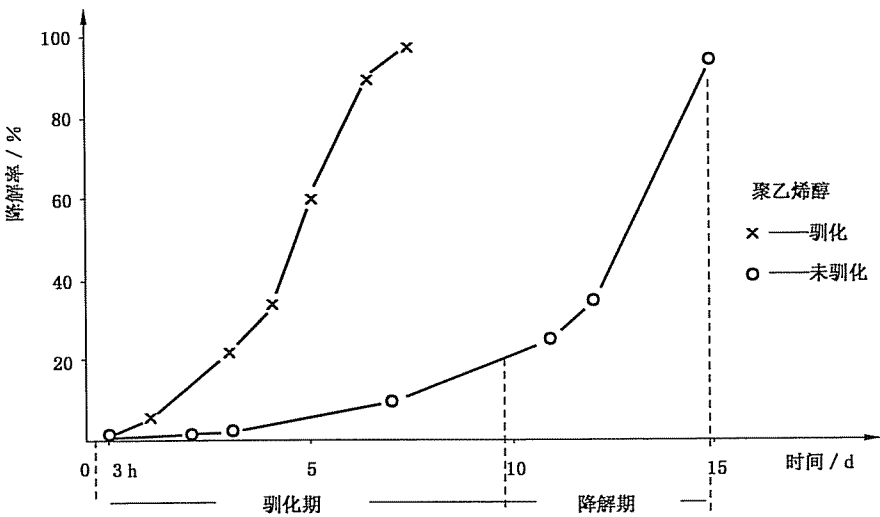


图 A.2 污泥驯化示例

参 考 文 献

- [1] Zahn R. and Welens H. (1974). Ein einfaches Verfahren zur Prüfung der biologischen Abbaubarkeit von Produkten and Abwasserinhaltsstoffen. Chemiker Zeitung 98, 228-232.
 - [2] Schefer W. and Wälchli O. (1980). Prüfung der biologischen Eliminierbarkeit organisch-chemischer Abwasser-Inhaltstoffen. Z. Wasser-and Abwasserforschung 13, 205-209.
 - [3] Reynolds, L. et al (1987). Evaluation of the toxicity of substances to be assessed for biodegradability. Chemosphere 16,2259.
 - [4] DIN 38409, Teil 3: 1983 Bestimmung des gelösten organischen Kohlenstoffgehaltes (DOC).
 - [5] ISO 6060:1986 Water Quality-Determination of Chemical Oxygen Demand.
 - [6] OECD (1984). Test Guideline 209, Paris.
 - [7] ISO 8192:1986 Water Quality-Test for inhibition of oxygen consumption by activated sludge.
-