

2, 4 二硝基酚厌氧生物降解动力学研究

汤改凤, 余宗莲, 吴美玲, 金春姬

(中国海洋大学海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266003)

摘要: 研究了间歇试验条件下, 2, 4-二硝基酚(2, 4-DNP) 与葡萄糖共基质时的厌氧降解动力学. 结果表明: 2, 4-DNP 与葡萄糖能同时被微生物降解; 葡萄糖浓度高低对 2, 4-DNP 的降解影响不大, 而 2, 4-DNP 的存在明显影响 COD 的降解. 当 2, 4-DNP 浓度 < 225 mg/L 时, 其比降解速率随浓度增大而增大, 浓度为 225 mg/L 时比降解速率达到最大; 由于底物抑制, 当 2, 4-DNP 浓度 > 225 mg/L 时, 其比降解速率呈下降趋势. 选用 Andrews 非竞争性抑制模型描述 2, 4-DNP 厌氧降解动力学, 对实验数据进行非线性拟合, 求得模型参数 $q_{\max}$, K_s 和 K_i 分别为 3.24 mg/(h·g), 196.23 mg/L 和 165.91 mg/L, 实验数据与该动力学方程拟合较好.

关键词: 2, 4-二硝基酚; 葡萄糖; 厌氧降解动力学; 抑制模型; 共基质

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)08-1570-04

Anaerobic Degradation Kinetics of 2, 4-Dinitrophenol

TANG Gaifeng, SHE Zong-lian, WU Mei-ling, JIN Chun-ji

(Key Laboratory of Marine Environmental Science and Ecology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: With glucose as co-substrate, anaerobic degradation kinetics of 2, 4-dinitrophenol (2, 4-DNP) were investigated in batch culture. The results show that 2, 4-DNP and glucose can be degraded by the bacteria simultaneously. Although the effect of COD on 2, 4-DNP degradation was minimal, addition of 2, 4-DNP effected COD degradation obviously. The rate of 2, 4-DNP degradation increased with increasing initial 2, 4-DNP concentrations up to 225 mg/L. Further increase in initial 2, 4-DNP concentrations caused decrease in the rate of degradation because of substrate inhibition. Uncompetitive inhibition equation is proposed to describe the degradation of 2, 4-DNP. With non-linear regression technology, the kinetic model parameter $q_{\max}$, K_s and K_i are found to be 3.24 mg/(h·g), 196.23 mg/L and 165.91 mg/L respectively. The experimental data verification for the model equation is satisfactory.

Key words: 2, 4-dinitrophenol; glucose; anaerobic degradation kinetics; inhibition; co-substrate

硝基酚是工业上应用最广的有机化合物之一, 被广泛用于炸药、医药、染料、农药以及橡胶工业的生产中. 其中 2, 4-二硝基酚由于毒性较大, 在环境中非常稳定, 难被微生物降解, 且易渗入土壤表层和地下水, 被美国环境保护局列为“优先控制污染物”^[1]. 目前, 国内外已有不少文献对硝基酚厌氧毒性和降解性进行了研究, 但关于其降解动力学方面的研究, 国内外的报道很少. Tomei 曾利用 SBR 反应器中好氧活性污泥对 4-硝基酚降解动力学进行了研究, 其降解模式可用亨顿(Haldane)方程来描述^[2]. Hess 等研究了 SBR 反应器中接种 *Janthinobacterium* sp. 和 *Rhodococcus* sp. 时 2, 4-二硝基酚的降解动力学, 发现其符合 Michaelis-Menten 类型的速率降解模式^[3]. Mohammad 等在厌氧间歇实验条件下的研究表明, 4-硝基酚的降解符合竞争性抑制动力学模式^[1]. 2, 4-二硝基酚和其它几种硝基酚在厌氧处理系统中的降解动力学研究, 国内外尚无文献报道.

文献研究表明, 废水中加入易降解有机质(如葡

萄糖等)可提高难降解有机物的生物降解性^[4], 实际废水中常含有一定量易降解有机物, 所以本文研究了用葡萄糖作共基质时 2, 4-二硝基酚的厌氧降解动力学, 确定了降解动力学模式及模型参数, 可为此类废水处理工程的设计和运行提供参考.

1 材料与方法

1.1 实验材料

厌氧污泥取自本实验室 ABR 反应器第 3 隔室, 该反应器以葡萄糖为碳源连续正常运行 18 个月, 其化学需氧量(COD)去除率达到 99% 以上. 所取厌氧污泥的 VSS/SS 比值为 0.780.

营养母液每 1 L 含: NH_4Cl , 170 g; KH_2PO_4 , 37 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 8 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 9 g^[5].

微量元素母液每 1 L 含: $\text{FeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,

收稿日期: 2005-07-14; 修订日期: 2005-09-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(40272108)

作者简介: 汤改凤(1980~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制.

2 000 mg; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2 000 mg; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 500 mg; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 30 mg; ZnCl_2 , 50 mg; H_3BO_3 , 50 mg; $(\text{NH}_4)_6\text{M}_2\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 90 mg; $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 50 mg; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 50 mg; EDTA, 1 000 mg; 36% HCl, 1 mL^[5].

1.2 实验方法

实验所用反应瓶为 600 mL 医用盐水瓶, 有效容积 450 mL. 反应瓶中接种厌氧污泥, 使最终 VSS 为 4.25 g/L 左右, 并加入 5 000 mg/L NaHCO_3 调节 pH 值和碱度, 保证 pH 在 7.0~7.5. 为确定 2, 4-

DNP 降解动力学及不同浓度 2, 4-DNP 对 COD 降解的影响, 在 1 批反应瓶中分别投加不同浓度的 2, 4-DNP 和相同浓度的葡萄糖, 混合后 COD 浓度约为 3 500 mg/L, 2, 4-DNP 浓度为 0.5、10、15、25、35、60、85、110、155、225 和 280 mg/L. 为确定不同初始葡萄糖浓度对 2, 4-DNP 降解的影响, 在另一批反应瓶中投加不同浓度 2, 4-DNP 和不同浓度葡萄糖, 混合后反应瓶中 2, 4-DNP 和 COD 的浓度见表 1. 反应瓶中每 1 L 混合液加入营养母液和微量元素母液各 2 mL. 每种浓度 2, 4-DNP 做 2 个平行样实验.

表 1 2, 4-DNP 浓度和不同葡萄糖投加量时的 COD 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

Table 1 Initial concentration of 2, 4-dinitrophenol and COD in the mixture/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

2, 4-DNP	0.0	0.0	0.0	3.5	3.5	3.5	14.0	14.0	14.0	35.0	35.0	35.0
COD	1 200	5 000	7 000	1 200	5 000	7 000	1 200	5 000	7 000	1 200	5 000	7 000

加完污泥和药品后, 将反应瓶放入恒温水浴振荡器中, 持续摇动并保持中温条件($35\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$)进行培养, 每隔一定时间取泥水混合样经离心分离后, 保留上清液测定 COD 和 2, 4-DNP 浓度.

1.3 分析方法

COD 的测定采用美国公共卫生协会 (APHA) 5220D 封闭回流分光光度法; 污泥浓度 (VSS) 测定采用重量法; pH 值采用 PHS-2C 型精密酸度计测定.

2, 4-DNP 的分析采用高效液相色谱仪, 系统控制器型号为 SCL-10A *vp*, 紫外检测器型号 SPD-M10A *vp*, 泵型号 LC-10A *vp*; 色谱柱为 *vp*-ODS 型, 柱长 150 mm, 直径 4.6 mm; 测定波长为 270 nm; 流动相为甲醇和乙酸铵缓冲液 (体积比为 3:2), 流速 0.8 mL/min.

2 结果与讨论

2.1 2, 4-DNP 存在下有机物的降解

图 1 是不同 2, 4-DNP 浓度 (0~280.0 mg/L) 时有机物在 72 h 内的降解情况.

从图 1 可知, 2, 4-DNP 浓度越高, 有机物的降解速度越慢. 2, 4-DNP 浓度 $\leq 25\text{ mg/L}$ 时, 反应时间在 32 h 内有机物几乎成线性降解, COD 去除率可达 87% 以上; 当 $25\text{ mg/L} < 2, 4\text{-DNP 浓度} \leq 85\text{ mg/L}$ 时, 反应时间为 72 h 时有机物可降至同一水平; 2, 4-DNP 浓度 $> 85\text{ mg/L}$ 时, 有机物的降解受到明显抑制, 其中浓度为 224 mg/L 和 280 mg/L 的反应瓶, 24 h 后有机物几乎不再降解, COD 去除率分别只有 22% 和 17%.

图 2 为不同初始 2, 4-DNP 浓度和不同初始葡萄糖投加量时, COD 浓度随时间的变化. 2, 4-DNP 浓度为 0 mg/L 时 COD 浓度随时间基本呈直线下降, 初始 COD 浓度越高直线斜率越大, 初始 COD 浓

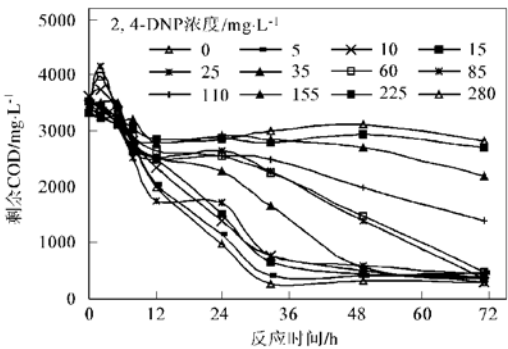


图 1 不同 2, 4-DNP 浓度时 COD 随时间的变化

Fig. 1 Relationship between residual COD and reaction time at different initial 2, 4-DNP concentration

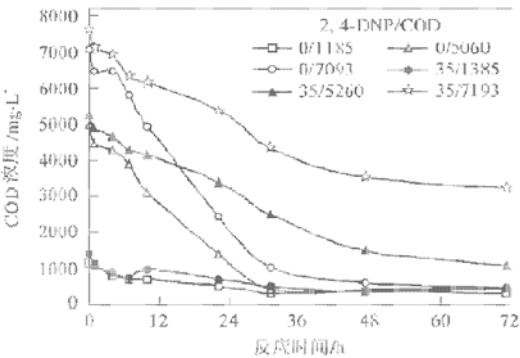


图 2 不同初始 2, 4-DNP 和葡萄糖浓度时 COD 随时间的变化

Fig. 2 Relationship between COD at different initial concentration and reaction time with 2, 4-DNP

度为1 185 mg/L、5 060 mg/L和7 093 mg/L的反应瓶中,到31h时COD去除率可分别达到70.6%、91.9%和85.4%。2,4-DNP初始浓度为35 mg/L时,初始COD浓度由低到高的3个反应瓶中,反应时间为31h时,COD去除率分别为47.2%、52.6%和39.9%。从COD去除率可知,2,4-DNP浓度相同、葡萄糖初始投加量不同时,有机物的降解程度不一样,这说明有机物的降解受葡萄糖初始浓度的影响。

2.2 2,4-DNP的代谢及厌氧降解动力学

2.2.1 2,4-DNP的代谢

反应瓶中混合液COD为3 500mg/L左右时(葡萄糖投加量相同),2,4-DNP能快速降解,并且2,4-DNP浓度越大其降至同一程度需要的时间越长。当2,4-DNP浓度 ≤ 25 mg/L,反应开始12h后其浓度即可降至0.5 mg/L以下;当25 mg/L $<$ 2,4-DNP浓度 ≤ 110 mg/L,反应开始24h后其浓度可降至0.5 mg/L以下;当110 mg/L $<$ 2,4-DNP浓度 ≤ 225 mg/L,其浓度欲降至同一水平反应时间需达48h;当2,4-DNP浓度为280 mg/L时,反应时间长达72h才可降至0.5 mg/L以下。

葡萄糖浓度不同(对应的反应瓶中COD浓度不同)2,4-DNP初始浓度为35 mg/L时,2,4-DNP浓度随时间的变化如图3所示。由图3可知,葡萄糖浓度高低对2,4-DNP降解影响不大。由于本实验所用污泥未经驯化,反应初期2,4-DNP的毒性对微生物活性造成抑制,使2,4-DNP的生物降解时间滞后,反应开始后7h内主要通过污泥的吸附作用使2,4-DNP浓度降低,反应开始后7h到10h之间,由于微生物已适应2,4-DNP,2,4-DNP的降解速率达到最大,反应开始后22h时2,4-DNP完全降解。2,4-DNP初始浓度为3.5 mg/L和14.0 mg/L时,呈现类似的降解规律。

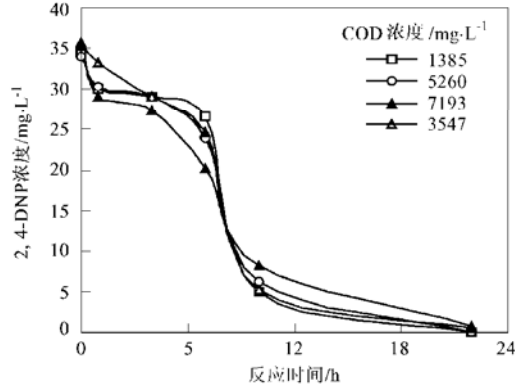


图3 不同初始COD对2,4-DNP降解的影响
Fig. 3 Effect of initial COD on 2,4-DNP degradation

2.2.2 2,4-DNP厌氧降解动力学

由于2,4-DNP对微生物有一定的毒性,当浓度达到一定值时会对降解过程产生抑制。当2,4-DNP浓度 < 225 mg/L时,其比降解速率随初始浓度的增大而增大,当浓度为225 mg/L时比降解速率达到最大,为1.09 mg/(h·g);当2,4-DNP浓度 > 225 mg/L时,其比降解速率呈减小趋势,当2,4-DNP浓度为280 mg/L时,其比降解速率只有最大比降解速率的0.79倍。Andrews抑制方程常用来描述有基质或有产物抑制时微生物生长和基质降解动力学过程^[6,7]。所以本研究选择由Andrews提出的一种最常见的非竞争性底物抑制模型^[8],来模拟2,4-DNP的降解动力学过程。Andrews模型如下式所示:

$$q = \frac{q_{\max}}{1 + K_s/S + S/K_i}$$

式中, q 为2,4-DNP比降解速率[mg/(h·g)]; S 为2,4-DNP初始浓度(mg/L); $q_{\max}$ 为最大比降解速率[mg/(h·g)]; K_s 和 K_i 分别为底物饱和常数和底物抑制常数(mg/L)。为确定2,4-DNP降解动力学参数,在初始COD为3 500mg/L左右时,求出了不同2,4-DNP初始浓度所对应的动力学实验数据,如表2所示。

表2 2,4-DNP降解动力学数据			
Table 2 Data of 2,4-DNP degradation kinetics			
2,4-DNP 浓度 /mg·L ⁻¹	2,4-DNP 负荷 /mg·(L·g) ⁻¹	q 实验值 /mg·(h·g) ⁻¹	q 计算值 /mg·(h·g) ⁻¹
5.29	3.22	0.09	0.10
9.13	4.82	0.25	0.17
15.90	11.87	0.27	0.28
26.91	12.04	0.41	0.42
35.83	15.31	0.62	0.54
61.29	32.76	0.61	0.73
86.65	49.18	0.82	0.86
109.89	57.09	0.99	0.94
157.65	85.33	1.01	1.00
223.86	116.93	1.09	1.00
280.22	186.58	0.87	0.96

选用数学工具软件origin 7.0,用上述公式对表2中实验数据进行非线性拟合,求得模型参数 $q_{\max}$ 为3.24 mg/(h·g); K_s 和 K_i 值分别为196.23 mg/L和165.91 mg/L。根据拟合结果,相关系数为0.9646,模型参数 $q_{\max}$ 、 K_s 和 K_i 置信度均为0.99;动力学模型曲线与实验点的拟合情况见图4;可知

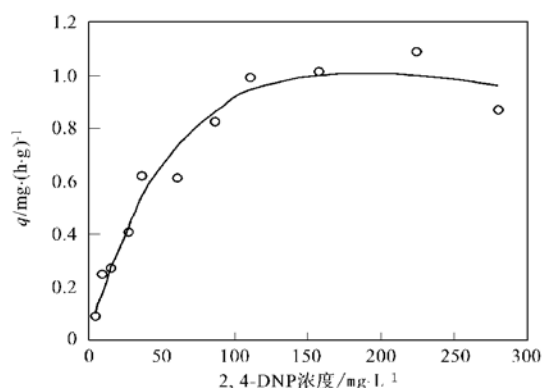


图 4 2,4-DNP 降解动力学方程曲线与实验点的拟合

Fig. 4 Experimental data simulation to the 2,4-DNP degradation kinetics equation

实验点与模型拟合良好。

3 结论

(1) 2,4-DNP 与葡萄糖共存时, 厌氧微生物能够利用两者进行代谢分解, 葡萄糖浓度高低对于 2,4-DNP 降解的影响很小, 而 2,4-DNP 的存在明显影响了微生物对葡萄糖的降解。

(2) 以葡萄糖作为共基质, 当 2,4-DNP 浓度 < 225 mg/L 时, 其比降解速率随 2,4-DNP 初始浓度增大而增大, 当 2,4-DNP 浓度为 225 mg/L 时比降解速率达到最大; 2,4-DNP 浓度 > 225 mg/L 时, 其比降解速率呈下降趋势。2,4-DNP 降解动力学过程符合常见的底物抑制规律, 用 Andrews 非竞争性抑制

模型来描述, 运用数学软件对实验数据进行非线性拟合, 求得模型参数 $q_{\max}$ 为 3.24 mg/(h·g); K_s 和 K_i 分别为 196.23 mg/L 和 165.91 mg/L, 实验数据与模型拟合良好。

参考文献:

- [1] Mohammad R Haghighi Poteh, Sanjoy K Bhattacharya, Mingbo Qu. Effects of nitrophenols on acetate utilizing methanogenic systems[J]. Wat. Res., 1995, 29(2): 391~399.
- [2] Tomei M C, Annesini M C, Bussolletti S. 4-nitrophenol biodegradation in a sequencing batch reactor: kinetic study and effect of filling time[J]. Water Research, 2004, 38(2): 375~384.
- [3] Hess T F, John Silverstein, Steven K Schmidt. Effect of glucose on 2,4-dinitrophenol degradation kinetics in sequencing batch reactors[J]. Water Environ. Res., 1993, 65(1): 73~81.
- [4] 杨晓奕, 蒋展鹏, 师绍琪, 等. 乙二胺四乙酸(EDTA)生物降解特性[J]. 环境科学, 2001, 22(2): 41~45.
- [5] 贺延龄. 废水的厌氧生物处理[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998. 541~542.
- [6] Kus F, Wiesmann U. Degradation kinetics of acetate and propionate by immobilized anaerobic mixed cultures[J]. Wat. Res., 1995, 29(6): 1437~1443.
- [7] Oliver J Hao, Michael H Kim, Eric A Seagren, et al. Kinetics of phenol and chlorophenol utilization by *Acinetobacter* species. Chemosphere, 2002, 46(6): 797~807.
- [8] 顾夏声. 废水生物处理数学模式[M]. 第二版. 北京: 清华大学出版社, 1997. 61~63.