

爆炸物污染土壤中 2,4-DNT 和 2,6-DNT 的生物降解中试研究

何义亮^{1,2}, Joseph B. Hughes^{1*}, Sung SooHan¹

(1. School of Civil and Environmental Engineering, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA, 30332; 2. 上海交通大学环境科学与工程学院, 上海 200240)

摘要: 设计采用包括土壤生物降解、反硝化以及循环混合系统构成的中试流程, 模拟原位生物修复工艺, 依靠污染土壤自身的生物降解过程去除 2,4-二硝基甲苯(2,4-DNT) 和 2,6-二硝基甲苯(2,6-DNT)。结果表明, 即使在温度较低的条件(8~15℃), 2,4-DNT 和 2,6-DNT 仍可以被完全去除。两者虽然属于同分异构体, 但前者的生物降解速率大大高于后者。系统可以维持自身的碱度平衡和保证无机营养供应, 无需调节或补充; 反硝化能够正常进行, 从而防止亚硝酸根在系统内积累抑制 DNT 生物降解, 但要彻底去除亚硝酸根及硝酸根, 需要外加碳源。

关键词: 土壤生物修复; 2,4-DNT; 2,6-DNT; 反硝化

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)03-0613-04

Biodegradation of 2, 4- and 2, 6-Dinitrotoluene in a Pilot-Scale System for Soil Contaminated with Explosive Compounds

HE Yi-liang^{1,2}, Joseph B. Hughes¹, Sung SooHan¹

(1. School of Civil and Environmental Engineering, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA, 30332, USA; 2. School of Environmental Science and Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: A pilot-scale system consisting of a soil biodegradation tank, a denitrification tank, and a recirculating feeding tank was designed and applied to study the biodegradation of 2,4- and 2,6-dinitrotoluene in soil contaminated with the explosives. The experimental results showed that 2,4- and 2,6-DNT can be degraded completely by native DNT degrading bacteria existing in the contaminated soil, despite water temperatures as low as 8°C to 15°C. Compared to 2,4-DNT, the biodegradation of 2,6-DNT was much slower and took much longer time. The alkalinity and nutrient needs of the bacteria were supplied by the soil with no additional amendments required. The denitrification system played an important role in preventing nitrite inhibition of DNT biodegradation, but it was necessary to supply an additional carbon source to ensure complete nitrite removal.

Key words: soil bioremediation; 2,4-DNT; 2,6-DNT; denitrification

爆炸物及其生产过程中使用和产生的各种硝基芳香族化合物, 已成为土壤和地下水污染的重要来源, 愈来愈受到各个国家的重视, 成为土壤污染修复的重要目标^[1]。

爆炸物 2,4,6-三硝基甲苯(TNT)是由甲苯经 3 步硝基化合成的, 其中间产物二硝基苯的主要同分异构体是 2,4-二硝基甲苯(2,4-DNT)以及 2,6-二硝基甲苯(2,6-DNT), 比例为 4:1。因此, 爆炸物污染土壤修复的主要去除目标为 2,4-DNT 和 2,6-DNT。近年来, 人们采用扩展的选择性富集技术已经从污染土壤或地下水中分离出了 2,4-DNT 和 2,6-DNT 降解菌^[2]。自然生物修复工艺正是利用这些微生物对污染土壤中的 DNT 进行降解。本研究模拟原位生物修复工艺, 设计采用中试规模的试验, 考察爆炸物污染土壤依靠自身的生物降解过程对 2,4-DNT 和 2,6-DNT 的去除效果。

1 材料与方法

1.1 中试试验工艺设计

2,4-DNT 和 2,6-DNT 均属于硝基芳香族化合物, 在好氧代谢过程中, 被氧化分解为 CO₂ 和 H₂O 等无机物, 同时释放出亚硝酸根。研究表明^[3], NO₂⁻ 的积累对 DNT 降解菌株有毒性。当 NO₂⁻ 浓度高于 20 mmol/L 时会对 2,4-DNT 好氧分解产生抑制。因此, 生物修复工艺设计必须考虑 NO₂⁻ 的去除, 防止 NO₂⁻ 在系统内积累。

中试试验工艺流程如图 1 所示。整个工艺系统主要包括土壤生物降解罐、反硝化罐以及水循环罐,

收稿日期: 2006-04-22; 修订日期: 2006-09-01

作者简介: 何义亮(1965~), 男, 博士研究生, 教授, 主要研究方向为水污染控制, E-mail: ylh@sjtu.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: joseph.hughes@ce.gatech.edu

另外设计有补充磷、营养盐以及外加碳源的配药和加药罐.在土壤生物降解罐、反硝化罐以及水循环罐的出口设有取样口,分别标记为 S1、S2、S3.

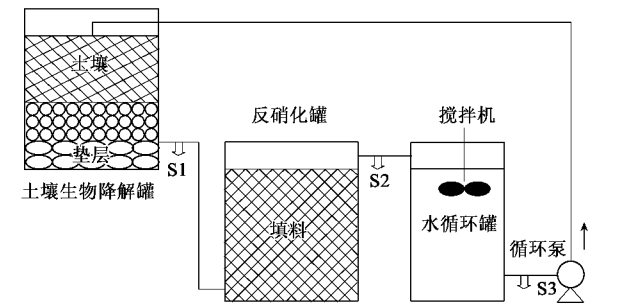


图 1 中试试验工艺流程
Fig.1 Schematic diagram of the pilot system

土壤生物降解罐直径 121.0 cm,总高度约 123.5 cm.为保证罐下部良好的透气性和出水的均匀分布,土壤生物降解罐下部装填了一定级配的沙粒垫层.从上往下的高度分布为:污染土壤 45.72 cm,1.1 mm 砂粒 15.24 cm,3.3 mm 砂粒 15.24 cm,砾石 15.24 cm.(高度系用英寸折算).土壤装填重量为 628.3 kg(湿重).上部设有穿孔的十字布水系统和与底部垫层相通的通风管.反硝化罐大小与土壤生物降解罐相同,内装不规则砾石,装填高度约 90 cm.水循环罐直径 91.4 cm,总高度 115.4 cm.顶部安装搅拌装置,用于补充系统的溶解氧.循环泵和搅拌机由时间继电器控制,定期间歇工作.

试验在美国佐治亚理工学院一室外场地进行.为了试验结果的可靠性,同时设计了 2 组相同的系统并列运行.由于 2 组系统控制条件和试验结果基本相同,本研究只对其中 1 组的试验结果进行讨论.

1.2 分析项目和方法

分析项目包括 2,4-DNT、2,6-DNT、硝酸根、亚硝酸根、溶解氧、pH 值和温度.

2,4-DNT 和 2,6-DNT 的测定采用 HPLC,并借助 GC-MS 辅助分析.HPLC 为 Water Millennium II 型,采用 Hypercarb 多孔石墨柱(5 μm × 150 mm, Thermohypersil, U.K.),流动相为乙腈:水(90:10),流速 1 mL/min.GC 为 Hewlett Packard (HP) 6890 型,柱子为 HP-5MS (30 m × 0.25 mm ID × 0.25 μm 膜).进样口温度 250℃,程序升温从 80℃到 190℃ (10 ℃/min).MS 检测器电压 1.2 kV,离子源温度 230℃,载气为氦气.

硝酸根和亚硝酸根测定采用离子色谱(Dionex IC20, Sunnyvale, CA).

溶解氧、pH 值和温度分别采用便携式测定仪在现场测定.

1.3 初期系统水循环与土壤中污染物洗出

所处理的污染土壤来自位于美国威斯康星州的某军火厂.土壤中包含 2,4-DNT、2,6-DNT 以及其他的污染物质.采用固相萃取技术,测得土壤中 2,4-DNT、2,6-DNT 的含量分别为 205.69 mg/kg ± 54.44 mg/kg 和 34.84 mg/kg ± 8.09 mg/kg(土壤为湿重).该土壤为粘土型,偏酸性.

系统启动初期,首先在水循环罐内添加约 600L 自来水,系统开始进行水循环,同时不断地向水循环罐内补充自来水,直到整个系统达到水平衡(即水循环罐内水位不再下降).总加水量约为 1 249 L.继续保持系统循环,循环流量为 378 L/d.经过大约 1 周后,系统基本趋于均匀,从 S1、S2、S3 这 3 个取样口取样分析的数据基本一致.2,4-DNT 和 2,6-DNT 的浓度分别为 11.43 mg/L 和 4.24 mg/L 左右,由于土壤偏酸性,系统循环后水的 pH 值从 7.3 左右逐步降低到 6.7 左右.这一阶段的水温基本在 4~8℃.

如果 2,4-DNT 和 2,6-DNT 在水中的浓度分别以 11.43 mg/L 和 4.24 mg/L 计,则依据总水量以及土壤投加量计算可得,污染土壤洗出的 2,4-DNT、2,6-DNT 量分别相当于 22.72 mg/kg 和 8.43 mg/kg(土壤为湿重).与固相萃取测得的数据相比,进入水中的量只占总含量的一小部分.

系统循环水中 NO₂⁻ 浓度并没有增加,基本在 0.1 mg/L 左右.说明在初始水循环期间 2,4-DNT 和 2,6-DNT 的生物降解尚未发生.

1.4 反硝化菌培养富集与反硝化罐的接种启动

考虑到自然土壤中应该富含反硝化菌,所以直接取室外土壤在培养瓶内培养富集.适量投加甲醇、亚硝酸钠、硝酸钾以及一些必要的无机营养成分.大约经过 2 周后,培养瓶内明显产气,取样检测硝酸根、亚硝酸根及总氮,也都已经非常低.显然,反硝化已稳定形成.

将大约 1 L 的富含反硝化菌的培养液倒入反硝化罐内,同时投加甲醇、硝酸钾以及一些必要的无机营养成分,进行反硝化罐的接种启动.这一阶段水温基本在 8~12℃.图 2 显示了经过 20 多 d 的培养后,反硝化罐内的硝酸根浓度逐步降低,直到测不出,而亚硝酸根经过一段时间的上升后也逐步降低,直到测不出.由于反硝化作用产生碱度,反硝化罐内 pH 有所提高,达到 7.2 左右.至此,认为完成反硝化罐的启动.

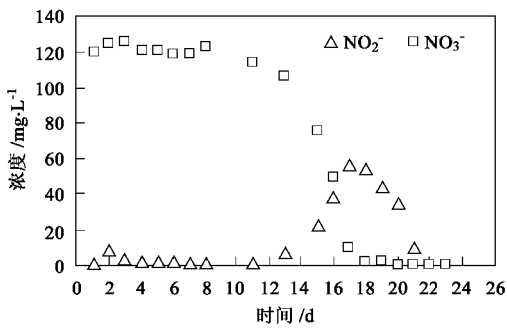


图 2 反硝化罐启动期间 NO_2^- 、 NO_3^- 浓度变化

Fig.2 Variation of NO_2^- , NO_3^- concentration during denitrification tank start-up

2 结果与讨论

完成反硝化罐的接种启动后,整个系统重新开始循环运行.考虑到土壤中含有磷以及其他营养成分,所以未启动磷及营养盐投加设备.

系统重新循环后,2,4-DNT 很快被完全降解,相对而言,2,6-DNT 则要缓慢得多.系统连续运行 2 个月,才基本被降解.这一段期间,天气转暖,水温基本在 $8 \sim 15^\circ\text{C}$.图 3 为采用 GC-MS 分别对初期循环时(a)、连续运行第 6 d(b)以及运行 2 个月(c) 的水

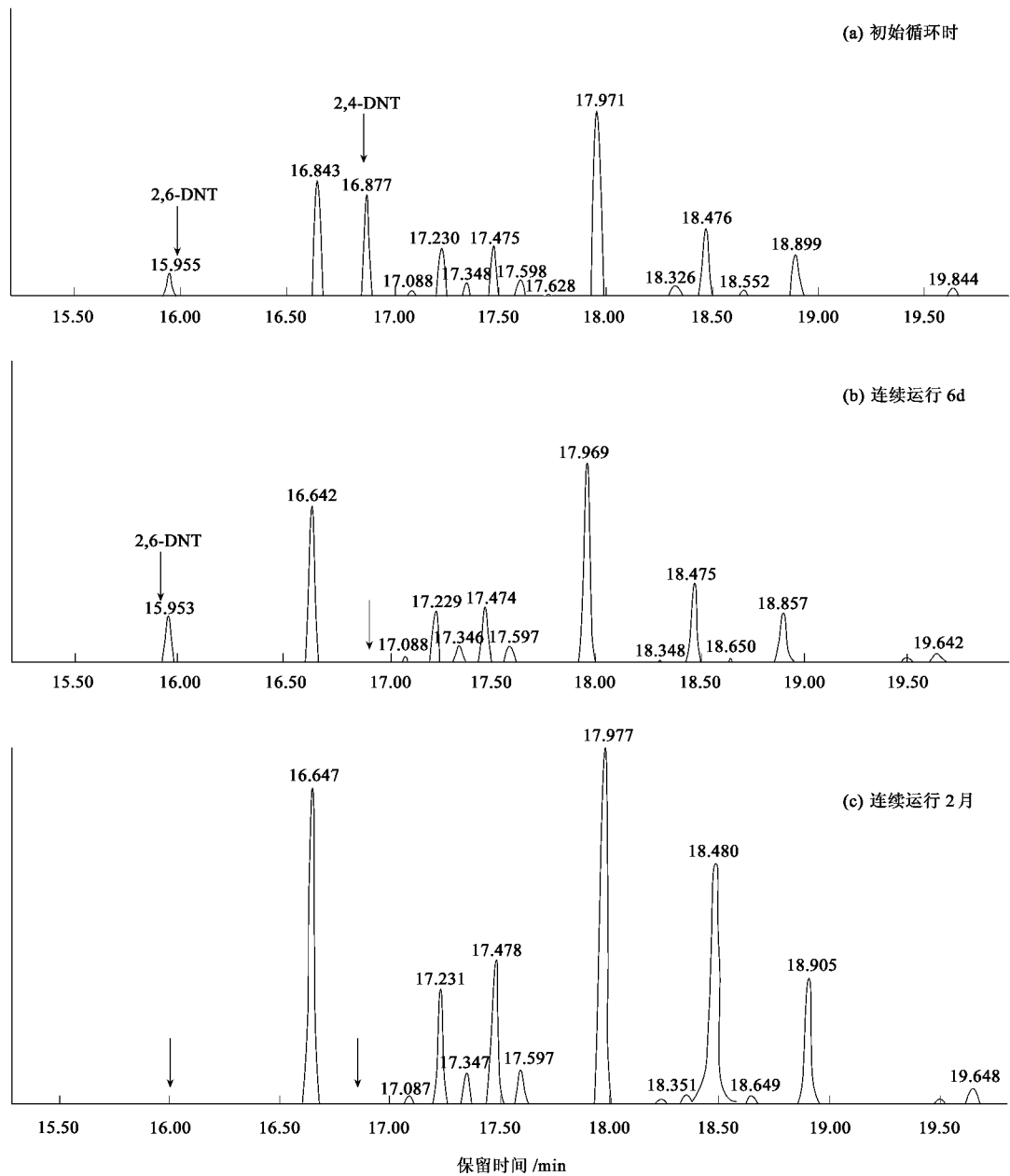


图 3 GC-MS 对 2,4-DNT 和 2,6-DNT 的分析

Fig.3 2,4-DNT and 2,6-DNT analysis by GC-MS

样进行的对比分析.

由图 3(a)可以看出,初始循环时水样中明显存在 2,4-DNT 和 2,6-DNT;连续运行第 6 d 时 2,4-DNT 便不再能够检出[图 3(b)],但 2,6-DNT 依然存在;系统连续运行 2 个月后 2,6-DNT 也不再能够检出[图 3(c)].GC-MS 分析结果同时表明,系统中还存在来自污染土壤的其他硝基芳香族化合物和有机物.这些污染物并不能被该工艺有效去除.

值得注意的是,2,4-DNT 和 2,6-DNT 虽然属于同分异构体,但它们的生物可降解性却差异很大,前者要比后者容易的多.这与许多研究者的结论是一致的^[1,4].但到目前为止,还不能很好地解释其中的原因.

图 4、5 分别显示了 S1、S2 取样口的硝酸根及亚硝酸根浓度的变化.显然,由于 2,4-DNT 和 2,6-DNT 逐步被好氧分解,释放出大量的亚硝酸根,同时在好氧条件下,亚硝酸根不稳定,又会被氧化为硝酸根.试验期间,间歇测定了反硝化罐和水循环罐内的溶解氧浓度.反硝化罐表层水的溶解氧浓度基本在 0.5 mg/L 左右,水循环罐内溶解氧浓度基本在 3.0 mg/L 左右,搅拌机工作时可达到 8.0 mg/L.逐日对系统各取样口的 pH 值进行检测,S1 基本在 6.5 左右,S2 基本在 7.5 左右,S3 基本在 8.0 左右.运行期间没有人为调节碱度.

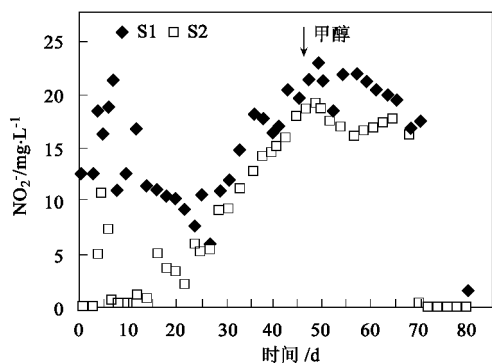


图 4 S1、S2 取样口亚硝酸根浓度的变化

Fig.4 Variation of NO_2^- concentration of S1, S2

由图 4、5 可见,在开始的近 1 个月的时间里,反硝化罐正常发挥作用,亚硝酸根和硝酸根并未积累,且浓度逐步降低.但大约从第 30 d 开始,亚硝酸根和硝酸根出现积累,浓度逐渐升高.分析原因,认为在 2,4-DNT 以及系统中其他容易被生物降解的有机物消耗掉后,反硝化菌逐步开始缺少可以利用的碳源,因而反硝化作用受到影响.基于这一分析,从第

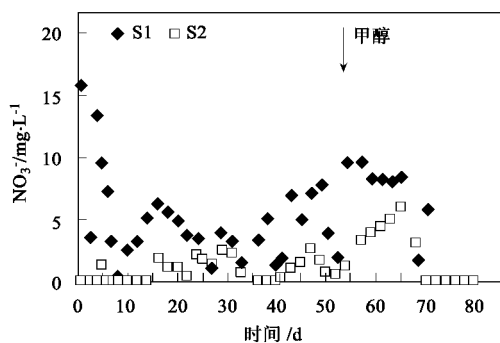


图 5 S1、S2 取样口硝酸根浓度的变化

Fig.5 Variation of NO_3^- concentration of S1, S2

45 d 开始间歇向反硝化罐内投加甲醇,大约 5 d 后亚硝酸根、硝酸根浓度不再升高,其后开始逐步下降,约 1 个月后基本被去除.

3 结论

(1)模拟原位生物修复工艺,设计采用包括土壤生物降解、反硝化以及循环混合系统构成的中试流程,能够依靠污染土壤自身的生物降解过程在水温较低的条件(8~15℃)去除 2,4-DNT 和 2,6-DNT.

(2)人工接种的反硝化工艺能够在系统内有效工作,没有出现由于亚硝酸根积累导致 2,4-DNT 的生物降解受到抑制.

(3)2,4-DNT 和 2,6-DNT 虽然属于同分异构体,但前者的生物降解速率大大高于后者.系统条件设计将受限于 2,6-DNT 的降解.

(4)系统可以维持自身的碱度平衡和保证无机营养供应,无需补充或调节;但要彻底去除硝酸根及亚硝酸根,需要补充碳源.

致谢:本研究得到美国杜邦公司的资助,特此感谢.

参考文献:

- [1] Spain J C, Hughes J B, Knackmuss H J. Biodegradation Nitroaromatic Compounds and Explosives[M]. Boca Raton, Florida: Lewis Publishers, 2000.
- [2] Nishino S F, Spain J C, Lenke H, et al. Mineralization of 2,4- and 2,6-DNT in soil slurries[J]. Environ. Sci. Technol., 1999, 33: 1060 ~ 1064.
- [3] Nishino S F, Spain J C. The effect of 2,6-Dinitrotoluene on 2,4-Dinitrotoluene degradation[A]. In: Second SETAC World Congress. Society of Environmental Toxicology and Chemistry[C]. Pensacola, Florida, 1995.
- [4] Fortuer J D, Hughes J B. Soil Column Evaluation of Factors Controlling Biodegradation of DNT in the Vadose Zone[J]. Environ. Sci. Technol., 2003, 37: 3382 ~ 3391.