

# 生物沸石对吡啶、喹啉的降解与吸附作用

柏耀辉, 孙庆华, 邢瑞, 温东辉\*, 唐孝炎

(北京大学环境科学与工程学院, 北京 100871)

**摘要:**探讨了通过生物沸石的降解及吸附作用, 解决吡啶、喹啉及转化产物 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的污染问题. 结果表明, 生物沸石中的吡啶降解菌 *Shinella zoogloeoides* BC026 及喹啉降解菌 *Pseudomonas* sp. BW003 能有效去除吡啶、喹啉, 同时转化后的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 也能被天然沸石或改性沸石所吸附. 尽管改性沸石吸附能力不如天然沸石, 但其表面能更有效附着微生物, 在实际工程应用上更具前景.

**关键词:**生物沸石; 吡啶; 喹啉; 生物降解; 吸附

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)09-2143-05

## Biodegradation and Adsorption of Bio-zeolite on Pyridine and Quinoline

BAI Yao-hui, SUN Qing-hua, XING Rui, WEN Dong-hui, TANG Xiao-yan

(College of Environmental Sciences and Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

**Abstract:** The study was to explore the treatment of pyridine, quinoline and their transformation product,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , by the biodegradation and adsorption of a natural and a modified bio-zeolites. The experiment results demonstrated that the mixed bacteria on the bio-zeolites, a pyridine-degrading bacterium and a quinoline-degrading bacterium, could degrade pyridine and quinoline simultaneously. The  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  transformed from pyridine and quinoline could be adsorbed by the natural and modified zeolites. The adsorption capacity of the modified zeolite was lower than that of the natural zeolite. However, more microorganisms could attach on the surface of the modified zeolite, so the application of the modified bio-zeolite has a better prospect in actual treatment of pyridine and/or quinoline pollution.

**Key words:** bio-zeolite; pyridine; quinoline; biodegradation; adsorption

吡啶、喹啉是2种典型的氮杂环芳烃, 常存在于焦化、制药、石油等工业废水中<sup>[1,2]</sup>. 由于吡啶、喹啉自身的毒性及挥发性, 一旦排放到环境中将对生态系统及人体健康产生较大的危害. 利用特异性微生物降解废水或土壤中的吡啶、喹啉是一种行之有效的方法.

以往大多数相关研究主要针对单一污染物(吡啶或喹啉)的转化途径<sup>[2~5]</sup>及生物强化去除<sup>[6~10]</sup>. 研究表明在单基质条件下, 40%~60%的吡啶或喹啉中的氮被微生物转化生成氨氮<sup>[1,11]</sup>, 因此, 如何进一步消除氨氮污染是另一个需要解决的问题. 近年来, 沸石吸附 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的研究是一个持续性的热点<sup>[12~14]</sup>, 一些学者利用改性的沸石来达到不同的实验目的<sup>[15,16]</sup>. 本研究将特异微生物的降解作用及沸石的吸附作用相结合, 探讨吡啶、喹啉的污染去除问题, 以期为进一步的实际应用打下理论基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 天然沸石及改性沸石

天然沸石为浙江缙云的斜发沸石, 孔隙率为14.1%, 比表面积为14.4  $\text{m}^2/\text{g}$ . 改性沸石为沸石粉、

白水泥、沸石砂、淀粉及煤粉按堆体积比为24:6:30:5:3混匀, 加入羧甲基纤维素溶液, 挤压成型, 养护后于650℃焙烧2 h得到, 孔隙率为37.7%, 比表面积为16.7  $\text{m}^2/\text{g}$ .

### 1.2 吸附试验

以 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 配制氨氮溶液, 分别称取5.0 g的改性沸石和天然沸石置于杯中, 在恒温振荡培养箱中以30℃, 110 r/min的条件进行吸附试验. 试验设3次重复.

### 1.3 培养基

吡啶、喹啉降解菌的富集培养采用加入500 mg/L吡啶或喹啉的Luria-Bertani (LB)培养基<sup>[17]</sup>, 降解试验采用含吡啶或喹啉的MSM液体培养基<sup>[1]</sup>.

### 1.4 降解菌的富集

本研究所使用的菌株为由焦化废水中筛选出来的1株吡啶降解菌 *Shinella zoogloeoides* BC026<sup>[18]</sup> 及1株喹啉降解菌 *Pseudomonas* sp. BW003<sup>[19]</sup>. 在100

收稿日期: 2009-11-15; 修订日期: 2010-01-11

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2006AA06Z336)

作者简介: 柏耀辉(1977~), 男, 博士, 主要研究方向为水污染控制及环境生物技术, E-mail: baiyh@pku.edu.cn

\* 通讯联系人, E-mail: dhwen@pku.edu.cn

mL 灭菌的 LB 培养基中,加入 50  $\mu\text{L}$  吡啶或喹啉,接种 BW003 及 BC026 菌株.在 30 $^{\circ}\text{C}$ ,180 r/min 的摇床中振荡培养.将上述处于对数生长期的细菌转入 100 mL 离心管在 4 200 r/min 下离心 5 min,将得到的菌体收集并洗涤 3 次(在菌体沉淀中加入约 20 mL MSM 液体培养基,用 Vortex 充分悬浮,再离心),再转移到一定体积的无菌 MSM 液体培养基中,配制成  $D_{602}$  为 1~2 的菌悬液,并立即使用.

### 1.5 降解吸附试验

试验分 3 组,分别在含 270~310 mg/L 吡啶、喹啉的 MSM,MSM + 3.0 g 天然沸石及 MSM + 3.0 g 改性沸石中进行.取一定量 BC026 及 BW003 的菌悬液( $D_{602} = 0.1$ ),分别加入到终体积为 100 mL 的上述 3 种培养基中,封口膜密封,在 30 $^{\circ}\text{C}$ ,180 r/min 振荡培养.定时取样,样品经 0.45  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤后进行吡啶、喹啉及  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的分析测定.试验进行 3 次重复且同时设未加菌的灭菌培养基在同等条件下作为空白对照.

### 1.6 分析方法

吡啶及喹啉浓度通过高效液相色谱(日本岛津 LC10ADVP, SPD10AVP UV-Vis Detector, Diamonsil  $\text{C}_{18}$  5  $\mu\text{m}$ , 250 mm  $\times$  4.6 mm 反向色谱柱)测定.进样体积同为 10  $\mu\text{L}$ .其中吡啶浓度是以甲醇:水 = 50:50 为流动相,检测波长为 254 nm;而喹啉浓度测定是以甲醇:水 = 75:25 为流动相,检测波长为 275 nm(高浓度)及 230 nm(低浓度).流速均为 1 mL/min.  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  浓度测定方法为水杨酸-次氯酸盐光度法(GB 7481-87)<sup>[20]</sup>.

### 1.7 电镜观察

取初始及降解结束后载有生物膜天然沸石及改性沸石样品,委托中国科学院微生物研究所扫描电镜(FEI QUANTA 200, 荷兰)进行形态观察.

## 2 结果与分析

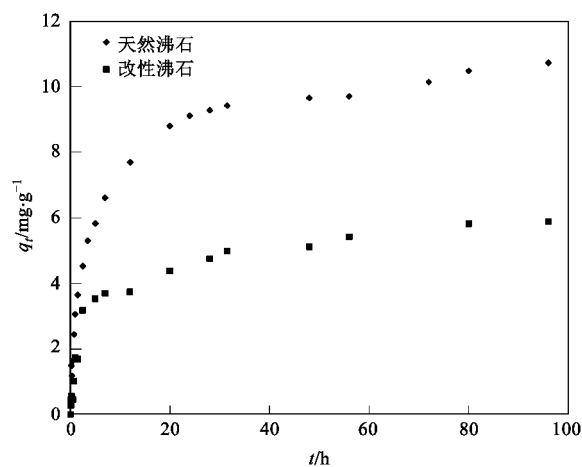
### 2.1 天然沸石及改性沸石对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的吸附

研究首先考察了天然沸石及改性沸石对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的吸附作用,结果见图 1.

结果表明,改性沸石及天然沸石在前 2 h 内吸附  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的速度都较快.此后,都逐步进入到一个慢速吸附阶段,直至最后平衡.比较发现,天然沸石的吸附能力要强于改性沸石,约是它的 1.8 倍.

### 2.2 降解吸附试验

根据实验室分离的吡啶、喹啉高效降解菌的降解特性,没有一株菌即能降解吡啶,又能降解喹啉.



图中数据点为 3 次重复试验结果的平均值,  
 $q_t$  表示  $t$  时刻的吸附量

图 1 天然沸石及改性沸石对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的吸附

Fig. 1 Adsorption of  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  by natural zeolite and modified zeolite

而选定的 2 株菌,吡啶降解菌 BC026 虽然不能降解喹啉,但能耐受一定浓度的喹啉;而喹啉降解菌 BW003 虽然不能降解吡啶,但能耐受吡啶.本研究着重探讨是否能够通过混合 2 株菌来同时降解吡啶、喹啉.另外,根据以往研究结果及上述沸石对  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  的吸附试验结果,进一步考察是否能够通过微生物的降解作用及沸石的吸附作用,解决吡啶、喹啉的复合污染问题,结果见表 1.

表 1 生物沸石对吡啶、喹啉的去除/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

| 培养基                              | MSM              | MSM + 天然沸石      | MSM + 改性沸石       |
|----------------------------------|------------------|-----------------|------------------|
| 0 h(吡啶)                          |                  | 270.0 $\pm$ 2.1 |                  |
| 12 h(吡啶)                         | 259.7 $\pm$ 1.6  | 252.5 $\pm$ 2.8 | 256.0 $\pm$ 1.4  |
| 72 h(吡啶)                         | 3.9 $\pm$ 0.1    | 2.8 $\pm$ 0.2   | 2.8 $\pm$ 0.4    |
| 0 h(喹啉)                          |                  | 310.0 $\pm$ 3.0 |                  |
| 12 h(喹啉)                         | 1.9 $\pm$ 0.3    | 5.5 $\pm$ 2.6   | 2.6 $\pm$ 0.3    |
| 72 h(喹啉)                         | 0.2 $\pm$ 0.1    | 1.8 $\pm$ 0.2   | 0.5 $\pm$ 0.1    |
| 0 h( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ )  |                  | 0               |                  |
| 12 h( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) | 8.04 $\pm$ 0.58  | 3.88 $\pm$ 0.78 | 4.50 $\pm$ 0.05  |
| 72 h( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) | 41.68 $\pm$ 2.07 | 5.10 $\pm$ 1.24 | 18.07 $\pm$ 1.32 |

结果显示,在 MSM 中,混合菌能将吡啶及喹啉有效去除. BW003 对喹啉的降解速度要比 BC026 对吡啶的降解速度要快的多. 12 h 内,99.4% 的喹啉被降解完,而只有 3.8% 的吡啶被降解完. 对于加有天然沸石及改性沸石的培养基来说,吡啶及喹啉的降解速度相差不大,这表明沸石的存在并没有干扰到微生物的降解作用. 另外,由于吡啶及喹啉在降解过

程中都会产生  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ , 经沸石的吸附作用, 大约有 87.8% 的  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  被天然沸石吸附, 约有 56.6% 的  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  被改性沸石吸附.

### 2.3 电镜观察

为了考察沸石表面是否能吸附细菌, 从而形成一层生物膜便于以后的工程应用, 将降解完的生物沸石样品进行电镜观察, 结果见图 2.

经测试, 天然沸石、改性沸石的孔隙率分别为

37.7% 和 14.1%. 这种多孔结构, 便于微生物进入孔中附着, 根据 BC026 及 BW003 的电镜结果显示, BC026 为杆菌, 大小约为  $(1.3 \sim 1.8) \mu\text{m} \times (0.5 \sim 0.6) \mu\text{m}$ , BW003 也为杆菌, 大小约为  $1.6 \mu\text{m} \times 0.5 \mu\text{m}$ . 因此, 电镜照片显示的附着微生物都是杆菌. 另外, 天然沸石跟改性沸石的微生物附着情况, 可以发现改性沸石附着的细菌数量要高于天然沸石的附着数量.

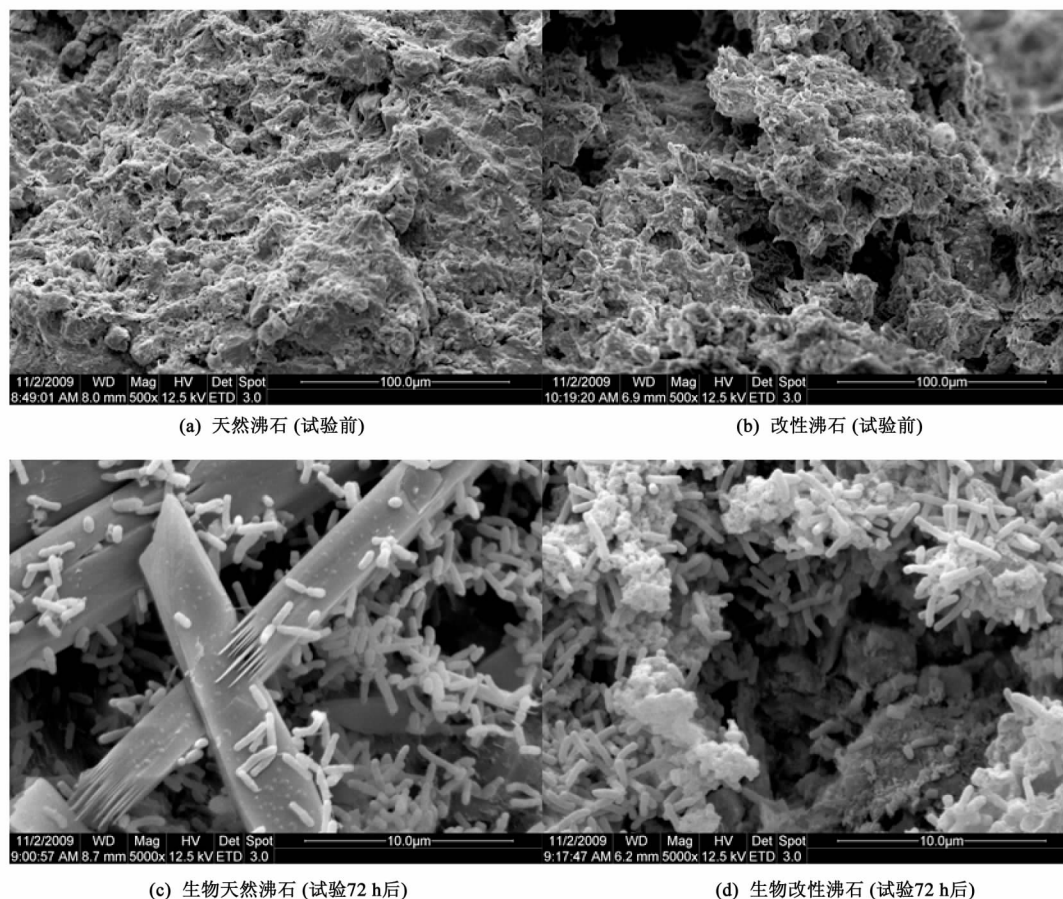


图 2 沸石及生物沸石电镜照片

Fig. 2 SEM photos of zeolites and bio-zeolites

### 3 讨论

以往对吡啶、喹啉生物降解的研究往往是独立的, 很少把这 2 种物质联系在一起研究. 事实上, 它们的杂原子氮的转化途径很相似<sup>[1,11,19]</sup>, 在实际生产中也往往产生复合污染, 例如在焦化废水和制药废水中, 吡啶和喹啉会同时存在. 因此, 研究吡啶、喹啉的共降解能更深入地掌握 2 种氮杂环芳烃化合物降解的相互关系, 并解决可能发生的复合污染问题. 本研究利用 2 株细菌来降解吡啶和喹啉, 这是由于吡啶、喹啉的生物降解途径有很大不同<sup>[21]</sup>, 至今没

有发现能同时降解吡啶、喹啉的细菌.

由于细菌降解吡啶、喹啉时都会产生  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ , 因此, 本研究将混合降解菌附着于沸石, 形成“生物沸石”, 旨在利用沸石对  $\text{NH}_4^+$  的阳离子交换特性, 将吡啶和喹啉转化释放的铵离子快速吸附于沸石, 再通过微生物作用将  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  作进一步转化. 尽管以往也有关于生物沸石的研究, 但未见将生物沸石用于吡啶、喹啉及其转化产物的报道. 此外, 在本研究中为了使沸石更好地附着微生物, 将天然沸石进行了特殊加工处理, 以少量的吸附容量损失, 获得更理想的材料孔隙结构.

采用准二级动力学模型<sup>[22]</sup>,对本试验天然沸石及改性沸石的吸附动力学过程进行拟合,准二级动力学方程见下式.模拟结果见图3,计算得到的参数见表2.

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{kq_e^2} + \frac{1}{q_e}t$$

式中,  $q_t$  为  $t$  时刻的吸附量, mg/g;  $q_e$  为平衡吸附量, mg/g;  $k$  为吸附速率常数, g/(mg·h).

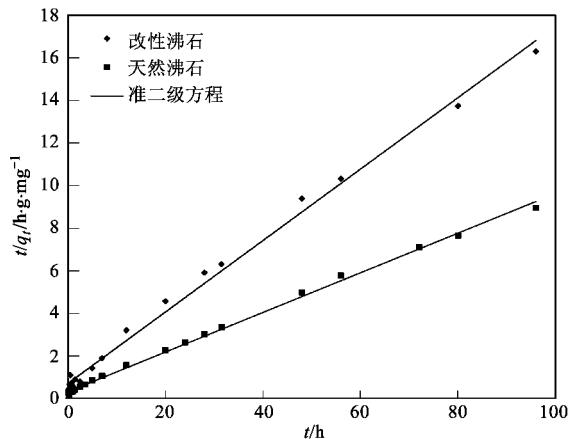


图3 沸石吸附的准二级动力学

Fig.3 Pseudo-second-order sorption kinetics of zeolites

表2 吸附的准二级动力学参数

| Table 2 Pseudo-second-order model parameters of sorption |       |       |       |
|----------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| 沸石                                                       | $q_e$ | $k$   | $R^2$ |
| 天然沸石                                                     | 10.75 | 0.028 | 0.997 |
| 改性沸石                                                     | 5.99  | 0.040 | 0.994 |

结果表明,准二级动力学方程能够较好地模拟2种沸石的吸附过程.理论上的最大吸附量与试验值吻合.由于改性沸石添加了水泥等其它物质,所以在吸附能力上比天然沸石要弱一些.

研究进一步对生物沸石的降解、吸附特性进行了探讨.根据BC026及BW003的降解特性,将这2株菌混合以降解吡啶、喹啉双污染物,结果表明2种菌没有发生明显的相互抑制作用,吡啶及喹啉都能被有效降解.与以往的试验结果对比,发现吡啶、喹啉共存时细菌对各自污染物的降解速度都要比单基质下的要慢<sup>[18,19]</sup>,说明吡啶、喹啉都是细菌潜在的“生长抑制剂”.同时试验发现喹啉的存在对吡啶的降解具有更大的抑制作用.由于吡啶、喹啉在转化过程中都产生较高浓度的 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ ,本试验发现沸石能有效去除 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ .另外,试验所投加沸石量较少,在实际应用中可适当增加沸石的用量,以达到最佳去除效果.

从电镜结果看,改性沸石能较好地附着微生物,这与它的多孔结构是分不开的,尽管改性沸石的吸附能力不如天然沸石,但是在实际工程应用中,它能更有效地防止微生物的流失,使吡啶、喹啉被更有效地去除.另外,以往有关生物沸石的研究发现,一些微生物在沸石表面的硝化作用,可以使沸石的阳离子交换能力得到再生<sup>[23]</sup>.而本实验室对BW003及BC026的深入研究表明:在合适的碳氮比条件下,它们都能进一步利用 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ <sup>[11,19]</sup>,因此,本研究的混合降解菌将同时具有再生沸石的功能.

#### 4 结论

(1)通过对天然沸石及改性沸石的吸附效果的比对试验,发现天然沸石的吸附能力要强于改性沸石,约是它的1.8倍.两者的吸附动力学都符合准二级动力学方程.

(2)生物沸石的降解吸附试验结果表明,混合菌BC026及BW003与人工及改性沸石之间没有发生明显的相互抑制作用,吡啶及喹啉都能被混合菌有效降解,同时产生的 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 也能被人工或改性沸石有效去除.

(3)电镜结果显示天然沸石及改性沸石都能附着微生物.相比之下,具有多孔结构的改性沸石能更好地附着微生物,因此在实际应用上将更具前景.

#### 参考文献:

- [1] Bai Y H, Sun Q H, Zhao C, et al. Microbial degradation and metabolic pathway of pyridine by a *Paracoccus* sp. strain BW001 [J]. Biodegradation, 2008, **19** (6):915-926.
- [2] Shukla O P. Microbial transformation of quinoline by a *Pseudomonas* sp. [J]. Appl Environ Microbiol, 1986, **51** (6): 1332-1442.
- [3] Watson G K, Cain R B. Microbial metabolism of pyridine ring - metabolic pathways of pyridine biodegradation by soil bacteria [J]. Biochem J, 1975, **146** (1):157-172.
- [4] Kilbane J J, Ranganathan R, Cleveland L, et al. Selective removal of nitrogen from quinoline and petroleum by *Pseudomonas ayucida* IGTN9m [J]. Appl Environ Microbiol, 2000, **66** (2): 688-693.
- [5] Aislabie J, Bej A K, Hurst H, et al. Microbial degradation of quinoline and methylquinolines [J]. Appl Environ Microbiol, 1990, **56** (2):345-351.
- [6] Padoley K V, Rajvaidya A S, Subbarao T V, et al. Biodegradation of pyridine in a completely mixed activated sludge process [J]. Bioresour Technol, 2006, **97** (10):1225-1236.
- [7] Sugaya K, Nakayama O, Hinata N, et al. Biodegradation of quinoline in crude oil [J]. J Chem Technol Biotechnol, 2001, **76** (6):603-611.
- [8] Rhee S K, Lee G M, Lee S T. Influence of a supplementary

- carbon source on biodegradation of pyridine by freely suspended and immobilized *Pimelobacter* sp. [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1996, **44** (6):816-822.
- [9] Wang J L, Quan X C, Han L P, *et al.* Microbial degradation of quinoline by immobilized cells of *Burkholderia pickettii* [J]. Water Res, 2002, **36** (9):2288-2296.
- [10] Fetzner S. Bacterial degradation of pyridine, indole, quinoline, and their derivatives under different redox conditions [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1998, **49** (3):237-250.
- [11] Bai Y H, Sun Q H, Zhao C, *et al.* Aerobic degradation of pyridine by a new bacterial strain, *Shinella zoogloeoides* BC026 [J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2009, **36** (11):1391-1400.
- [12] Mazeikiene A, Valentukeviciene M, Rimeika M, *et al.* Removal of nitrates and ammonium ions from water using natural sorbent zeolite (clinoptilolite) [J]. J Environ Eng Landsc Manag, 2008, **16** (1):38-44.
- [13] Karapinar N. Application of natural zeolite for phosphorus and ammonium removal from aqueous solutions [J]. J Hazard Mater, 2009, **170** (2-3):1186-1191.
- [14] Zheng H, Han L, Ma H, *et al.* Adsorption characteristics of ammonium ion by zeolite 13X [J]. J Hazard Mater, 2008, **158** (2-3):577-584.
- [15] Liang Z, Ni J R. Improving the ammonium ion uptake onto natural zeolite by using an integrated modification process [J]. J Hazard Mater, 2009, **166** (1):52-60.
- [16] Lei L C, Li X J, Zhang X W. Ammonium removal from aqueous solutions using microwave-treated natural Chinese zeolite [J]. Sep Purif Technol, 2008, **58** (3):359-366.
- [17] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南 [M]. (第三版). 北京: 科学出版社, 2002.
- [18] 孙庆华, 柏耀辉, 赵翠, 等. *Shinella zoogloeoides* BC026 对吡啶的降解特性研究 [J]. 环境科学, 2008, **29** (10):2938-2943.
- [19] 柏耀辉, 赵翠, 肖亚娜, 等. 降解喹啉的假单胞菌 BW003 菌株的分离、鉴定和降解特性 [J]. 环境科学, 2008, **29** (12):3546-3553.
- [20] 国家环境保护局. 水和废水监测分析方法 [M]. (第三版). 北京: 中国环境科学出版社, 1989.
- [21] Brockman F J, Denovan B A, Hicks R J, *et al.* Isolation and characterization of quinoline-degrading bacteria from subsurface sediments [J]. Appl Environ Microbiol, 1989, **55** (4):1029-1032.
- [22] Ho Y S. Effect of pH on lead removal from water using tree fern as the sorbent [J]. Bioresour Technol, 2005, **96** (11):1292-1296.
- [23] 温东辉. 天然沸石吸附-生物再生技术及其在滇池流域暴雨径流污染控制中的试验与机理研究 (环境博士文库) [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2003.