

生物法净化有机污染物的酶反应动力学修正

Revised Enzymatic Reaction Kinetics of Purifying Organic Pollutants by Biological Treatments

何 坚 顾国维 (污染控制与资源化研究国家重点实验室,上海同济大学 200092)

摘要 以生化法处理有机污染物的系统为讨论对象,从底物负荷影响微生物生长的角度出发,通过对有机污染物负荷与生化反应速度之间的关系分析,得出进口底物浓度的大小会影响生物反应器内微生物的量的多少,从而影响器内的生化反应速率的结论,并按照“稳态平衡”假说的设想,建立了修正的 Michaelis - Menten 公式。

关键词 酶反应动力学 生物反应器 有机污染物

Abstract The kinetics of enzymatic reaction to purify organic pollutants by biological treatments was discussed in this paper. On the basis of studying the relationships between the rate of biological reaction and the load of pollutants, a conclusion was drawn that load of the pollutants would surely influence the amounts of microbes which influenced the biochemistry reaction rate in the treatment system. Then by reference to the presumption “steady-state theory”, a revised Michaelis - Menten formula was thus established.

Key words Enzymatic Reaction Kinetics Biological Reactor Organic Pollutants

对于生化法处理有机污染物的机理,前人已经做了大量的研究并做出了一些相关解释,一般地,系统中酶反应动力学则推 Michaelis - Menten 公式为经典,该理论提出了中间产物的假说,在理论上较好地说明了生化反应速度与底物负荷之间的关系⁽¹⁾。然而该公式未能表现生化法处理有机污染物反应过程中反应器内酶的数量变化,即在实践中,微生物降解有机污染物的过程是处于动态平衡的状态,当进料中物料浓度发生变化时,会引起反应器内微生物量的变化,进而达到与进料中污染物浓度负荷相适应的微生物的量并处于平衡状态,而由静态实验得出的米氏公式没有能够反应出反应器中微生物(即其内含的酶)的量的变化。

本文从底物浓度负荷影响微生物生长的角度出发,考察进口底物浓度的大小对生物反应器内微生物的量的多少,进而讨论反应器内的生化反应速率的受影响状况,从理论上对有机污染物与生化反应速度之间的关系进行分析,旨在进一步深入理解和探讨微生物法降解有机污染物的酶反应动力学

机理及其相关细节。

1 底物浓度对酶反应速度的影响

在 20 世纪初就观察到了如图 1 所示的酶反应速度与底物浓度的关系^(1,2,3)。当底物浓度在较低范围时,酶促反应速度与底物浓度近似呈正比,是一级反应;当底物增加到一定限度时,该体系接近零级动力学,即酶促反应速度与底物浓度无关。Michaelis 和 Menten 在前人工作的基础上,积累了足够的实验证据,以“稳态平衡”为假设前提,提出了酶反应动力学的基本机理,即 Michaelis - Menten 公式,该公式经 Briggs 和 Haldane 的补充和扩展后已为生化反应酶反应动力学的经典公式之一^(2,3)。后在研究微生物法降解挥发性有机污染物时,发现生化反应速度与底物浓度之间的关系亦同于图 1 所示⁽⁴⁾,但操作过程为一些稳态的点组成,微生物的数量在底物浓度发生变化后,亦发生了变化。

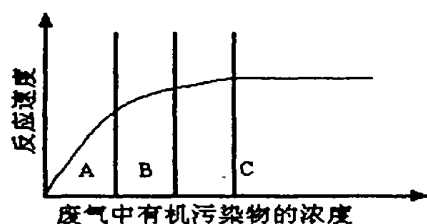


图 1 生化反应速度与底物浓度之间的关系

2 底物浓度与系统内生物量的关系^(1,5)

在生物反应器内微生物降解污染物的生化反应过程中,微生物的生长速度与底物浓度之间的关系亦类同与图 1 所示。微生物生长繁殖可以分为 6 个阶段:接种后的停滞期、加速增长期、对数增长期、减速期、静止期及衰亡期。微生物在接种培养阶段,一些能利用底物进行新陈代谢的微生物逐渐适应以底物为能源而生存下来。处于对数增长期的微生物,因为得到丰富的营养,合成新细胞物质最快,微生物数量以几何级数增长。如果环境中的营养物质大量消耗,会导致代谢产物大量积累而对微生物本身产生毒害,使微生物的生长速率下降而进入停滞期。继停滞期之后,微生物将因得不到营养利用而利用自身的营养物质进行内源呼吸,微生物体内产生大量的有毒物质增加,微生物总数减少而进入衰亡期。由上述微生物的增长阶段来看,微生物增长与环境中的底物的量是息息相关的,环境中污染物浓度的高低决定了反应器中的微生物处于何种生长阶段,所以如果进水中污染物的负荷不同,系统内的微生物的量则处于与进口污染物负荷相对应的平衡点上,系统内参与生化反应的酶的数量相应发生了变化而导致系统内的生化反应速度加快或减缓。故对图 1 所示关系曲线在低负荷的情况下呈线性变化的原因存在两种解释:一、填料上附着的微生物中的酶尚未完全饱和,随着进口水体中底物的进水负荷的增加,微生物中的酶逐渐被底物饱和,表现出生化反应速度加快;二、随着进水中底物负荷的增长,填料上附着的微生物的量亦发生增长,导致参与生化反应的酶的数量增加,在宏观上表现为生化反应速度的加快。第一种解释即为 Michaelis - Menten 理论,该理论认为底物浓度的增加,使底物与酶的碰撞几率增加,使生化反应速度加快,但这种理论是利用纯酶作实验的基础上基于“稳定平衡”假说之上而得出的,并没有考虑到

酶的数量在反应过程中的增长,然而实际工程或大多数生化过程中使用的是具有繁殖能力的微生物而非纯酶,所以实际生化反应过程中应考虑底物负荷的高低对微生物量的影响。

3 Michaelis - Menten 公式的修正

3.1 修正 Michaelis - Menten 公式的理由

如上叙述,以上对图 1 所示曲线的两种解释均有存在的合理性,至于在微生物降解有机污染物的过程中,何种因素处于主导地位,需要进一步按情况讨论,但可以认为单独用 Michaelis - Menten 理论来解释生物滴滤池法降解有机污染物的反应速度——进水负荷之间的关系图在实际应用中存在着局限,原因在于:

(1) Michaelis - Menten 理论建于纯酶作实验的基础之上,没有在负荷变化过程中考虑其对反应器内微生物量的影响;

(2) Michaelis - Menten 理论假设底物浓度比酶浓度过量很多,但由于生物法处理有机污染物的装置中污染物的浓度一般较低,这种假设不成立;特别地,对于难溶性挥发性有机污染物来说(反应多为连续性反应),主要依靠微生物的生物吸附作用将其捕获降解⁽⁶⁾,对生化反应的某个平衡点来说,系统内积累的微生物的量远大于进水水体中有机负荷的量,因而 Michaelis - Menten 公式需要修正,以更加符合实际运行的情况。

3.2 Michaelis - Menten 公式的修正⁽²⁻³⁾

从微生物吸附底物降解的现象出发,亦按照“稳态平衡”假说的设想,在如下假设基础上对 Michaelis - Menten 公式进行修正:

(1) 在系统处于稳定运行状态的情况下,认为单个活性微生物含有针对污染物的酶的数量是不变的,即系统内参加生化反应的酶的量与系统内活性微生物的量呈正比,并在生化反应过程中,如果系统内活性微生物的数量发生变化,则参加生化反应的酶的数量亦发生相应的变化,在实验中以 $[E]$ 作为系统内微生物中含有酶的浓度。

(2) 将生物(滴)滤池作为一个系统来考虑,生物(滴)滤池类似于推流装置,水体进入降解系统后,即被微生物内的酶(E)吸附降解,故在系统处于平衡状态时,有机污染物水体作为一个连续流而进入系统,系统内实际的有机污染物的量必须加上系统内原残留的酶—底物中间体的浓度(即生物滴

滤池内有机污染物的浓度为 $[(S) + (ES)]$ 。

(3) 在系统运行达到稳定状态的情况下,认为系统内底物水体吸附、脱附的量的差值(即为理论吸附量—理论脱附量)即成为酶—底物中间体 (ES) 。

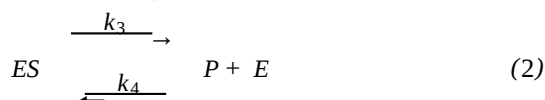
(4) 对于生物滴滤池来说,系统中溶有底物的循环液作为微生物降解底物的液相载体,(其内的底物量处于动态平衡状态,但其值远小于生物滴滤池内生物膜填料所吸附的底物的量,可由亨利定律求出)由于喷淋液循环使用,可以不计循环液中溶解底物的量,认为进出口底物负荷的差值在系统中已被去除。

则,按照“稳态平衡”假说的设想,推测微生物降解有机污染水体的反应为以下几步进行:

第一步:有机污染物被微生物吸附,并形成中间结合体 (ES) :



第二步:中间产物分解,形成产物 (P) ,释放出游离酶 (E) :



以上两步均为可逆的。它们的正反应与逆反应的速度常数分别为 k_1, k_2, k_3, k_4 。由于酶促反应的速度与酶—底物中间产物 (ES) 的形成和分解有关,所以必须先考虑 ES 的形成和分解速度。当反应达到“稳态”时:

$$k_1 \{ [E] - [ES] \} \{ [S] + [ES] \} = (k_2 + k_3) [ES]$$

$$\text{令 } \frac{k_2 + k_3}{k_1} = K_M \text{ 则}$$

$$- [ES]^2 + [ES] \{ [E] - [S] \} + [E][S] = [ES] K_M$$

由于有机污染物生化处理的工艺决定了进口水体的浓度属于中低浓度,系统在运行过程中亦处于 Michaelis - Menten 理论曲线的低浓度近似直线区,所以酶—底物中间产物 (ES) 的浓度相对于微生物浓度 (E) 和底物 (S) 来说较小,其 $[ES]^2$ 值更小,在计算中忽略不计。则有:

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M - [E] + [S]} \quad (3)$$

因为酶反应的速度 (v) 与 $[ES]$ 成正比,所以:

$$V = k_3 [ES] \quad (4)$$

将(3)式的 $[ES]$ 值代入(4)式中,得:

$$V = k_3 \frac{[E][S]}{K_M - [E] + [S]} \quad (5)$$

当底物浓度很高,使系统内有效的酶的浓度与达到系统容许的最大值、所有的酶均被底物饱和时,有反应速度 $V \rightarrow V_{\max}$,则:

$$V_{\max} = k_3 \frac{[E][S]}{K_M - [E] + [S]}$$

$$V_{\max} = k_3 \frac{[E]}{\frac{K_M}{[S]} - \frac{[E]}{[S]} + 1} = k_3 [E] \quad (6)$$

(5)除以(6),得:

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{[S]}{K_M - [E] + [S]}$$

$$\text{即: } V = V_{\max} \frac{[S]}{K_M - [E] + [S]} \quad (7)$$

以上公式中: v ——生化反应速度

$V_{\max}$ ——最大生化反应速度

$[ES]$ ——酶—底物结合中间体

$[E]$ ——微生物内参与该生化反应酶的浓度

$[S]$ ——底物的浓度

K_M 米氏常数

如(7)所示即为修正后的 Michaelis - Menten 公式。该公式可以较好地解释实际应用中底物负荷与生化反应速度之间的基本关系曲线。若将式(7)中微生物的量固定(即参加生化反应的酶的数量固定),即为 Michaelis - Menten 公式,所以式(7)是涵盖了米—门氏公式的。如图1所示,在进水底物负荷在 A 点时,系统处于稳定状态,得到一个生化反应速度 A,当系统中底物的进水负荷增大到 B 点时,系统内微生物的量增大,引起参加反应的酶的数量增大,进而使生化反应的速度加快;同时,微生物与系统内污染物质的碰撞机率增加,使单位面积微生物上附着的污染物的量增加,加快了生化反应的进行,实验表现为系统消除有机污染物的生化反应速度加快,使系统运行工况处于动态平衡点 B 处。相反类同。对于特定的微生物附着生长的填料来说,由于其自身的原因,填料内微生物的生长和进水分布的均匀性会受到一定的限制,所以随着进水中底物负荷的增长,系统因微生物的增长而

(下转第 21 页)

表 3 COD 去除效果

次数	停留时间 / h	进水 COD _{Cr}	第一次絮凝		COD _{Cr} 去除率/ %	第二次絮凝		COD _{Cr} 总去除率/ %
			投加量/ mg L ⁻¹	出水 COD _{Cr}		投加量/ mg L ⁻¹	出水 COD _{Cr}	
1	8	18340	0.25	15840	13.6	2	12191	33.5
2	8	18340	0.25	15892	13.7	2	12700	30.8
3	8	18340	0.25	15842	13.6	2	11802	35.6
4	8	18340	0.25	15822	13.7	2	11523	37.2
5	8	18340	0.25	15850	13.6	2	11031	39.9
6	8	18340	0.25	15812	13.8	2	10825	41.0

3 结论

(1)从以上实验可见,水解酸化法预处理此废水,效果较为明显,在实际应用中具有一定的可行性,比絮凝法预处理减少了运行成本,且为后序好氧-厌氧工艺出水达标提供保障。

(2)在工艺中的水解酸化池具有体积小且不用设置气、液、固三相分离器收集沼气等特点,减少气体臭味的产生。并且简化了水解池构造、降低了造价,且易于维护管理。另外,水解池对污泥具有降低功能,产生的剩余污泥量少。

(3)通过上面絮凝与水解酸化联合实验,得出该法比单独使用水解酸化法能进一步提高处理效率,但幅度不大。

1. 上海市环保局. 废水生化处理. 同济大学出版社, 2000, 52 ~ 62.

2. 耿安朝, 张洪林. 废水生物处理发展与实践. 东北大学出版社, 1997 年, 28 ~ 30.

3. 马青山, 贾瑟, 孙丽珉. 絮凝化学和絮凝剂. 中国环境科学出版社. 1988 年, 76 ~ 113.

4. [英] S. M. 斯特罗纳奇, T. 拉德 J. N. 莱斯特. 工业废水处理的厌氧消化过程. 1989, 33 ~ 38.

5. 中国化工防治技术协会. 化工废水处理技术. 化学工业出版社, 2000, 88 ~ 99, 237 ~ 238.

6. 杨军, 陆正禹, 胡纪萃, 顾夏声. 抗菌素工业废水处理技术的现状与展望. 环境科学, 1997, 18(3): 83 ~ 85.

7. 邓良伟, 彭子碧, 唐一, 黄龙志. 絮凝-厌氧-好氧处理抗菌素废水的试验研究. 环境科学, 1998, 19(6): 65 ~ 69.

8. 罗国维, 卢平, 林世光. 生物水解酸化法处理高浓度洁霉素废水的降解机理研究. 中国环境科学, 1995, 15(4): 384 ~ 288.

9. 修光利, 吴生, 金人中, 张大年. 加压上流式好氧污泥床(PUASB)法处理制药废水初探. 环境科学, 1999, 20(1), 47 ~ 49.

参 考 文 献

(上接第 15 页)

使系统发生堵塞,发生短流,微生物的利用率降低,与水体接触的微生物上的酶达到饱和状态而使该系统生化反应速度会达到一个最大值,如图 1 所示的 C 点。

4 结论

本文在观察系统内微生物的量与底物浓度负荷之间的关系的的基础上,依据微生物的生长曲线,得出进口底物负荷的大小会影响生物反应器内微生物的量的多少进而影响系统内的生化反应速率这一结论,并按照“稳定平衡”假说的设想,建立了修正 Michaelis - Menten 公式,使底物负荷与生化反应速度间的经典关系曲线图在理论上能更加完

善地得到解释。

参 考 文 献

1. 高廷耀主编. 水污染控制工程(下册). 北京:高等教育出版社, 1989. 10.

2. 沈同, 王镜岩主编. 生物化学(上册). 北京:高等教育出版社(第二版), 1990. 12.

3. 杰弗里. 佐贝主编. 曹凯鸣等译. 生物化学(上册). 上海:复旦大学出版社, 1989 年.

4. S. P. P. Ottengraf et al. Kinetics of Organic Compound Removal from Waste Gases with a Biological Filter. Biotechnology and Bio-engineering. 1983, XXV :3089.

5. 胡家骏, 周群英. 环境工程微生物学, 北京:高等教育出版社, 1988. 4.

6. 孙佩石等. 生物法净化低浓度挥发性有机废气的动力学问题探讨. 环境科学学报, 1999, 19(2): 153 ~ 158.