

缺氧条件下含氮杂环化合物吲哚和吡啶的共代谢研究

李咏梅¹, 李文书^{1,2}, 顾国维¹

(1. 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092; 2. 江苏省电力设计院, 南京 210024)

摘要:以含氮杂环化合物吲哚和吡啶为研究对象, 在传统的缺氧反硝化机理研究基础上, 通过向配制废水中加入硝酸盐氮, 研究吡啶和吲哚在缺氧条件下的共代谢作用。结果表明, 吡啶和吲哚缺氧共代谢的最佳碳氮比为 8.4~8.9 之间。硝酸还原酶适宜作用的环境条件为: 温度 28℃, pH 值 7.0~7.5。吡啶的加入有利于硝酸还原酶活性的提高, 吡啶对吲哚的缺氧降解有协同作用。在最佳碳氮比条件下, 当吲哚起始浓度为 150mg/L, 吲哚和吡啶的浓度比例为 1~10 之间时, 吲哚的降解符合零级动力学规律, 反应过程中亚硝酸盐氮基本没有积累。当吡啶和吲哚的浓度比小于 0.25 时, 随着吡啶浓度比例的提高, 硝酸还原酶活性及吲哚降解速率的增长较快; 当吡啶和吲哚的浓度比大于 0.25 时, 硝酸还原酶活性及吲哚降解速率的增长变得比较缓慢。

关键词:吲哚; 吡啶; 共代谢; 缺氧反硝化; 硝酸还原酶活性

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)02-0300-05

Cometabolic Biodegradation of Nitrogenous Heterocyclic Compounds Indole and Pyridine under Anoxic Conditions

LI Yong-mei¹, LI Wen-shu^{1,2}, GU Guo-wei¹

(1. State Key Laboratory of Pollutant Control and Resources Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Jiangsu Electric Power Design Institute, Nanjing 210004, China)

Abstract: Based on the traditional theory of denitrification under anoxic conditions, and with the addition of nitrate, experiments were conducted to investigate the cometabolic biodegradation of nitrogenous heterocyclic compounds indole and pyridine. Results show that the optimum ratio of COD to nitrate (C/N) is 8.4~8.9. Under the conditions with temperature of 28℃ and pH of 7.0~7.5, the nitrate reductase activity (NRA) is in the best state. Addition of pyridine can promote NRA and the degradation of indole. When the initial concentration of indole is 150mg/L, the concentration ratio of indole to pyridine is 1~10, and under the optimum C/N conditions, the degradation of indole meet with zero-order kinetics. There was no accumulation of nitrite during the reaction. When the concentration ratio of pyridine to indole is less than 0.25, with the increase of pyridine concentration, there is a faster augment rate for NRA and the degradation of indole than the situation when the concentration ratio of pyridine to indole is more than 0.25.

Key words: indole; pyridine; cometabolism; anoxic denitrification; nitrate reductase activity

含氮杂环化合物广泛存在于焦化、染料、化工、医药、农药等工业废水中, 对动物和人体具有致突变性和致癌性^[1,2], 并且还会对微生物产生抑制作用, 用一般的生物方法难于处理。近 20 年来随着环境科学家对有机物生物处理技术研究的深入, 发现许多原来人们认为在好氧条件下难以降解的有机物, 可以在缺氧反硝化条件下得到有效降解^[3~5]。已有研究表明^[6~8], 含氮杂环化合物在缺氧条件下表现出了较好的降解性能, 其原理是以这类化合物作为电子供体, 以硝酸盐氮为电子受体, 在反硝化细菌的作用下, 硝酸盐氮最终还原为氮气, 同时含氮杂环化合物得以降解。目前对于含氮杂环化合物在缺氧条件下的共代谢研究较少, 本文选取含氮杂环化合物中常见的吲哚和吡啶 2 种物质作为研究对象, 研究缺氧条件下 2 种物质的共代谢性质, 研究结果可为含有此类混合有机物的废水处理提供理论依据。

1 材料与方法

根据已进行的试验研究^[8,9], 吡啶在缺氧条件下的降解速率远大于其它含氮杂环化合物。例如, 在 25℃ 的室温条件下, 当吡啶浓度低于 150 mg L⁻¹ 时, 可以在 2.5h 接近完全降解^[10], 而同样条件下, 150 mg L⁻¹ 的吲哚需要 6~7h 完全降解^[11]。因此本实验选取吡啶为第一基质, 吲哚为第二基质, 在吲哚浓度固定的条件下, 通过改变吡啶的浓度, 研究两者在不同比例下的共代谢情况, 包括吲哚、吡啶的降解性质、硝酸还原酶活性的变化情况等。

1.1 废水水质及污泥驯化

收稿日期: 2005-01-11; 修订日期: 2005-04-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (50108009)

作者简介: 李咏梅 (1968~), 女, 博士, 副教授, 研究方向为污水处理与资源化, E-mail: liyongmei@mail.tongji.edu.cn

试验废水以吡啶、吡啶为碳源, NaNO_3 为氮源, 加入适量的 Mg、Ca、P 等营养物质后用自来水稀释配置。

污泥取自上海宝钢焦化厂缺氧/好氧(A/O)工艺中O段的回流污泥, 在一个高100cm、直径14cm、有效容积为6L的反应器里进行驯化。反应器置于25~28℃的恒温室内, 运行方式为间歇式。反应器配有搅拌机, 在驯化及反应过程中调节搅拌速度, 使反应器中溶解氧浓度维持在0.1mg/L以下。经过60d的驯化, 污泥达到了较稳定的性能和去除效率, 污泥浓度为3.3~3.5g/L。驯化成功后, 取适量经洗涤后的污泥置于250mL的锥形瓶中, 加入反应物质, 塞上橡皮塞, 在转速为150 r/min的摇床中进行温度、pH等环境因素的条件试验; 为了更好地接近实际工艺, 不同比例吡啶和吡啶的共代谢试验均在容积为6L的反应器中进行。固定吡啶浓度为150 mg/L, 吡啶浓度随着驯化和试验的进行不断提高, 试验中吡啶浓度分别为15、18.75、25、37.5、75、150 mg/L, 即吡啶和吡啶的比例分别为10、8、6、4、2、1共6种共基质情况。

1.2 分析方法

吡啶和吡啶用紫外分光光度法测定^[12], 根据文献[13]中的方法测定 NO_2^- -N、SS、VSS、pH等。因为用紫外分光光度法在波长为220nm和275nm测定 NO_3^- -N浓度时会受到吡啶的影响, 因此 NO_3^- -N的测定采用苯酚法^[14]。

硝酸还原酶极不稳定, 酶活性测定有一定难度。目前水溶液中硝酸还原酶活性尚无现成的测定方法, 本试验参考土壤/植物中的测定方法^[15], 通过单位时间单位质量微生物降解的硝酸盐氮的量来间接表征硝酸还原酶活性。用公式表示如下:

$$\text{硝酸还原酶活性(NRA)} = \frac{\text{硝酸盐氮浓度减少量}(\text{NO}_3^- \text{-N})}{(\text{污泥浓度 MLSS} \times \text{时间 } t)} \quad (1)$$

2 结果与讨论

2.1 适宜的碳氮比(C/N)试验

本文所指碳氮比(C/N)为 $\text{COD}/\text{NO}_x^- \text{-N}$, $\text{NO}_x^- \text{-N}$ 为 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 之和。适宜的C/N比为当水中的有机碳源全部降解完毕后, $\text{NO}_x^- \text{-N}$ 也恰好完全还原为 N_2 , 出水中几乎没有 $\text{NO}_x^- \text{-N}$ 。

根据已有的研究^[10, 11], 吡啶和吡啶适宜的C/N都为8.0左右, 为了寻找吡啶和吡啶共代谢条件下的适宜C/N, 在参考已有的研究成果基础上, 对吡啶为150 mg/L, 吡啶为15 mg/L($c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吡啶}} = 10$)的反应体系进行了不同C/N下的共代谢试验, 结果如表1所示。从表1可看出, 吡啶和吡啶浓度比在10:1时适宜的C/N为8.4。同样对吡啶和吡啶其它5种比例下($c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吡啶}} = 8、6、4、2、1$)的共代谢适宜C/N进行了试验研究, 结果其各自适宜的C/N分别为8.6、8.8、8.9、8.9、8.64, 表明不同比例下吡啶和吡啶共代谢的适宜C/N较稳定, 其值在8.4~8.9之间, 变化幅度较小。

表1 不同C/N比下吡啶、吡啶的降解情况

Table 1 Degradation of indole and pyridine under different C/N conditions

进水 C/N	进水水质/mg L ⁻¹			出水水质/mg L ⁻¹			吡啶降 解率/%	吡啶降 解率/%	
	吡啶	吡啶	硝酸根	吡啶	吡啶	亚硝酸根 ¹⁾			
11			42.38	25.58	2.18	ND	ND	82.9	85.4
10			48.12	22.16	2.43	ND	ND	85.2	83.8
9	150	15	55.13	19.36	2.16	ND	ND	87.1	85.6
8			62.03	3.4	ND	10.50	0.5	97.7	100
8.4			59.07	3.58	ND	0.46	ND	97.6	100

1) 试验过程中发现 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的积累量很小, 因此本文只对 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的降解过程进行分析

2.2 环境因素试验

2.2.1 温度影响

选取 $c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吡啶}} = 8$ 的体系作为研究对象, 用恒温计调节体系的反应温度, 研究不同温度下的共代谢性质, 结果如图1所示。

从图1可以看出当温度低于28℃时, 随着温度的升高, 硝酸还原酶活性和吡啶降解率都不断增大; 当温度高于28℃时, 硝酸还原酶活性和吡啶的降解

率并不随着温度的升高而增大。所以后续试验均在温度28℃的条件下进行。

2.2.2 pH值的影响

选取 $c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吡啶}} = 8$ 的体系作为研究对象, 用磷酸盐缓冲溶液调节起始pH值, 在28℃下做摇床试验, 结果如图2所示。在pH为7.0~7.5范围内吡啶的降解率、硝酸还原酶活性都处于较高的水平, 当pH值小于6.5或大于8.0时, 吡啶的降解率和硝酸

还原酶活性都会明显减小. 试验配水的 pH 值在 7.0 ~ 8.0 之间, 在此 pH 范围内, 硝酸还原酶活性较高, 因此试验过程中不考虑 pH 的调节.

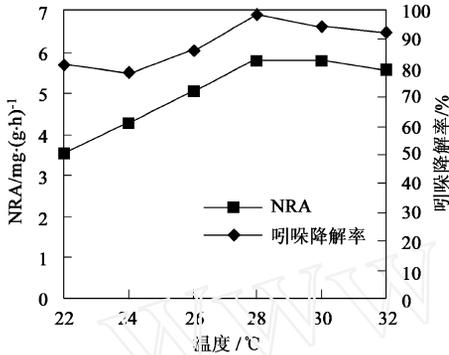


图 1 温度对吲哚降解率和硝酸还原酶活性的影响

Fig. 1 Effect of temperature on indole degradation and NRA

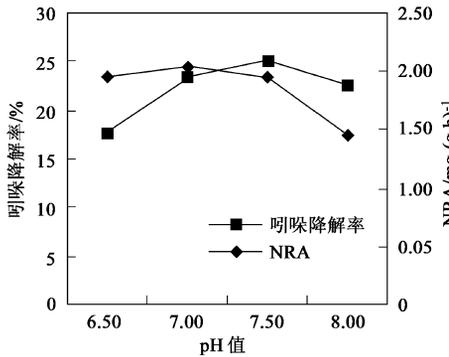


图 2 pH 值对吲哚降解率和硝酸还原酶活性的影响

Fig. 2 Effect of pH values on indole degradation and NRA

2.3 缺氧条件下的物质降解情况

2.3.1 不同比例下吲哚和吡啶的共代谢性质

在本试验中, 作为第一基质的吡啶降解速率仍然比较快, 6 种不同浓度的吡啶均在 2h 之内降解完毕, 第二基质吲哚降解性质却随着吡啶起始浓度的不同而发生了变化 (图 3), 因此本文重点对吲哚的降解性质进行了分析.

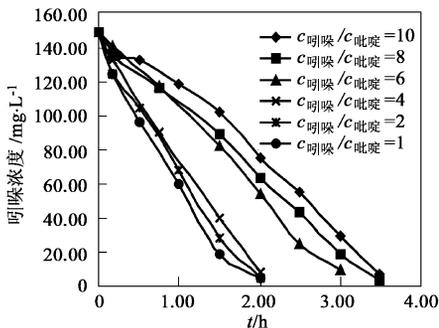


图 3 吲哚缺氧降解曲线

Fig. 3 Anoxic degradation curves of indole

从图 3 可以看出, 随着吡啶浓度的提高, 吲哚的降解速率呈增长的趋势, 说明吡啶的加入对吲哚的降解有促进作用. 进一步分析可知, 当 $c_{\text{吲哚}}/c_{\text{吡啶}}$ 分别为 10、8、6 时, 吲哚的降解趋势比较接近, 大部分吲哚在 3.5h 被降解完毕; 当 $c_{\text{吲哚}}/c_{\text{吡啶}}$ 分别为 4、2、1 时, 吲哚的降解趋势亦比较接近, 大部分吲哚在 2h 内即被降解完毕.

对各比例下的吲哚降解过程进行拟合, 结果如表 2 所示. 根据表 2 的拟合结果, 吲哚的降解过程符合零级动力学模型, 即:

$$- dS/dt = KX \quad (2)$$

其中, S 代表吲哚浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); t 代表时间 (h); K 代表吲哚降解速率常数 (h^{-1}); X 代表污泥浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

表 2 吲哚缺氧降解的动力学拟合方程式及其参数

Table 2 Kinetics equation and parameters for the anoxic degradation of indole

$c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吲哚}}$	拟合方程	K/h^{-1}	R^2
0.100	$S = -39.77t + 152.3$	0.0115	0.9849
0.125	$S = -41.59t + 147.3$	0.0121	0.9966
0.167	$S = -48.10t + 151.0$	0.0139	0.9965
0.250	$S = -69.70t + 145.4$	0.0202	0.9971
0.500	$S = -71.79t + 141.9$	0.0208	0.9886
1.000	$S = -84.33t + 143.3$	0.0244	0.9920

从吲哚降解速率常数 K 的变化来看, K 随着吡啶浓度的升高而增大, 它和吡啶与吲哚浓度比例 ($c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吲哚}}$) 之间的关系如图 4 所示. 根据图 4 的结果, $c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吲哚}}$ 在不同的范围内和 K 有良好的线性关系. 当 $c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吲哚}}$ 小于 0.25 时, 随着吡啶比例的提高, 吲哚的降解速率增长较快 ($K_1 = 0.0596$); 随着吡啶比例的不断增大, 基质浓度越来越充分, 有机物的降解受制于微生物本身的数量, 吲哚的降解速率增长就变得比较缓慢 ($K_2 = 0.0058$).

2.3.2 硝酸盐氮及硝酸还原酶活性的变化情况

硝酸盐氮的降解曲线和吲哚的降解曲线有着良好的对应关系, 从图 5 可以看出, 当 $c_{\text{吲哚}}/c_{\text{吡啶}}$ 分别为 10、8、6 时, 硝酸盐氮的降解趋势比较接近, 当吲哚在 3.5h 内降解完后, 硝酸盐氮也基本降解完毕; $c_{\text{吲哚}}/c_{\text{吡啶}}$ 分别为 4、2、1 时, 硝酸盐氮的降解趋势比较接近, 硝酸盐氮在 2h 内基本被还原完全.

对不同吡啶和吲哚浓度比例下的硝酸还原酶活性进行计算, 可得出硝酸还原酶活性与 $c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吲哚}}$ 之间的关系, 如图 6 所示. 从图 6 看出, NRA 和 $c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吲哚}}$ 在不同的范围内同样有较好的线性关系,

当吡啶所占比例较低时 ($c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吲哚}}$ 的值小于 0.25), 随着吡啶浓度的提高, NRA 增长较快 ($K_1 =$

25.355), 随着吡啶浓度的不断增大 ($c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吲哚}}$ 大于 0.25), NRA 的增长相对较慢 ($K_2 = 13.651$).

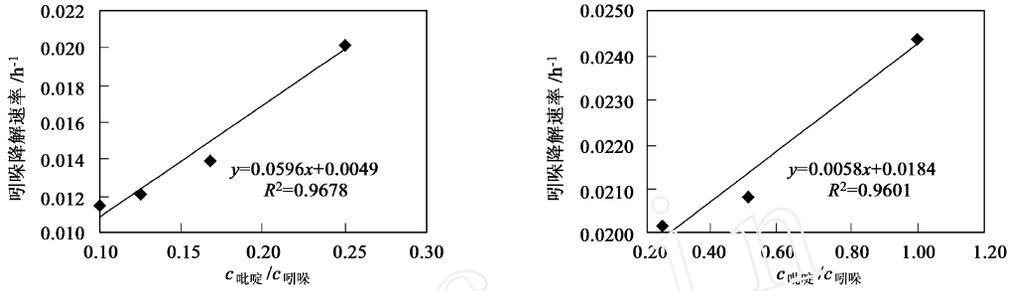


图 4 吲哚降解速率常数 K 和 $c_{\text{吡啶}}/c_{\text{吲哚}}$ 的关系

Fig. 4 Relationship between K and $c_{\text{Pyridine}}/c_{\text{Indole}}$

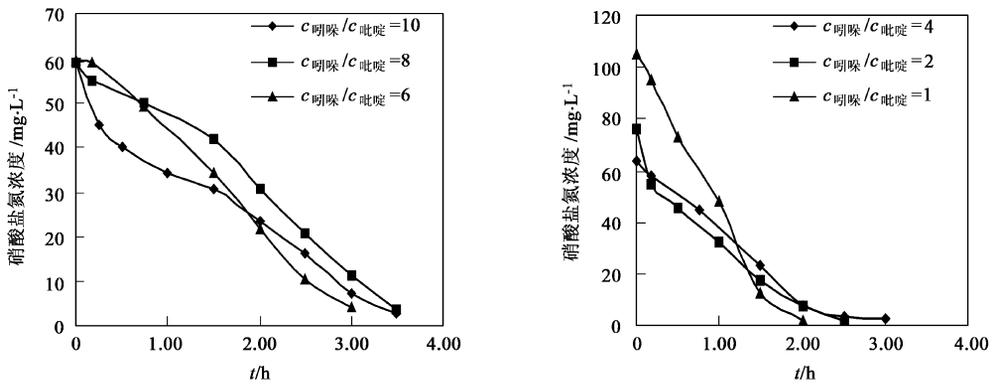


图 5 硝酸盐氮缺氧变化曲线

Fig. 5 Anoxic variation curves of $\text{NO}_3^- \text{-N}$

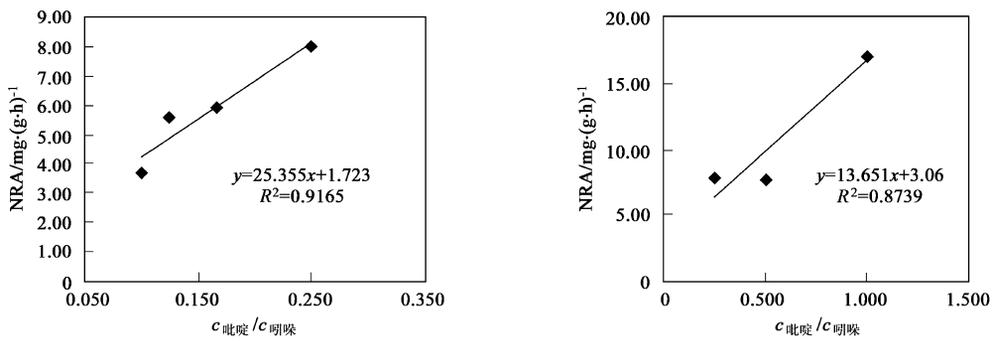


图 6 硝酸还原酶活性和吡啶/吲哚比例的关系

Fig. 6 Relationship between NRA and $c_{\text{Pyridine}}/c_{\text{Indole}}$

3 结论

(1) 碳氮比 (C/N) 对缺氧反硝化处理含氮杂环化合物有着重要的意义, 本试验中不同比例的吲哚和吡啶共代谢适宜的 C/N 值稳定在 8.4 ~ 8.9 之间.

(2) 吲哚和吡啶缺氧共代谢过程中, 硝酸还原酶活性的适宜作用条件为: pH 值 7.0 ~ 7.5, 温度 28 ; 吡啶浓度的提高有利于硝酸还原酶活性的增大.

(3) 共基质条件下, 吡啶对吲哚的缺氧降解有促进作用; 在最佳碳氮比条件下, 吲哚的缺氧降解符合

零级反应动力学规律;硝酸盐氮的降解与吲哚同步进行,反应过程中亚硝酸盐氮的积累量很小.当 $C_{\text{吡啶}}/C_{\text{吲哚}}$ 小于 0.25 时,随着吡啶浓度比例的提高,硝酸还原酶活性及吲哚降解速率的增长较快;当 $C_{\text{吡啶}}/C_{\text{吲哚}}$ 大于 0.25 时,硝酸还原酶活性及吲哚降解速率的增长比较缓慢.

参考文献:

- [1] Sims G K, Sommers L E, Konopka A. Degradation of pyridine by *Micrococcus lutens* isolated from soil[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1986, **51**(5):963~968.
- [2] Sideropoulos A S, Secht S M. Evaluation of microbial testing methods for the mutagenicity of quinoline and its derivatives[J]. *Wat. Res.*, 1984, **11**: 59~66.
- [3] Heider J, Spormann A M, Beller H R, *et al.* Anaerobic bacterial metabolism of hydrocarbons[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1999, **22**: 459~473.
- [4] Widdel F, Rabus R. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2001, **12**: 259~276.
- [5] Rockne K J, Strand S E. Anaerobic biodegradation of naphthalene, phenanthrene, and biphenyl by a denitrifying enrichment culture[J]. *Wat. Res.*, 2001, **35**: 291~299.
- [6] Fetzner S. Bacterial degradation of pyridine, indole, quinoline, and their derivatives under different redox conditions[J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1998, **49**: 237~250.
- [7] 李咏梅,赵建夫,顾国维. 含氮杂环化合物在厌氧和缺氧条件下的降解研究[J]. *上海环境科学*, 2003, **22**(2):86~88.
- [8] Li Y M, Gu G W, Zhao J F, *et al.* Anoxic degradation of nitrogenous heterocyclic compounds by acclimated activated sludge[J]. *Process Biochemistry*, 2001, **37**(1):81~86.
- [9] 李咏梅,顾国维,赵建夫. 焦化废水中几种含氮杂环化合物缺氧降解机理[J]. *同济大学学报(自然科学版)*, 2001, **29**(6):720~723.
- [10] 牛苏莲,李咏梅,周琪. 含氮杂环化合物吡啶缺氧降解过程中硝酸还原酶活性研究[J]. *上海环境科学*, 2003, **22**(12):898~902.
- [11] 马娜,李咏梅,顾国维. 含氮杂环化合物吲哚的缺氧降解性能研究[J]. *上海环境科学*, 2003, **22**(11):734~737.
- [12] 李亚新,赵晨红. 紫外分光光度法测定焦化废水的主要污染物[J]. *中国给水排水*, 2001, **17**(1):54~56.
- [13] APHA AWWA WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (18th ed.) [M]. Washington: APHA, 1992.
- [14] 刘华荣,马骏. 苯酚法测定水中硝酸盐氮[J]. *预防医学文献信息*, 2003, **9**(3):311.
- [15] 华东师范大学生物系植物生理教研组. *植物生理学实验指导* [M]. 北京:人民教育出版社,1980,173~175.