# 基于自由态浓度测量研究烷基酚和双酚A的 活性污泥降解动力学

# 沈钢黄俊余刚\*

(清华大学环境科学与工程系,北京 100084.\*联系人, E-mail: yg-den@tsinghua.edu.cn)

摘要 建立了测定活性污泥中两种烷基酚(叔辛基酚、壬基酚)和双酚 A 自由态浓度的"损耗可忽略"固相 微萃取(nd-SPME)方法,利用该方法研究了在实际污水处理厂浓度水平下,活性污泥好氧生物降解烷基酚 和双酚 A 的降解动力学.结果表明,叔辛基酚、壬基酚和双酚 A 基于总浓度的表观降解速率常数分别为 0.02,0.01 和 0.03 h<sup>-1</sup>,半衰期分别为 34.9,54.3 和 22.3 h; 而 3 种污染物基于 nd-SPME 测得的自由态浓度 的降解速率常数则分别为 0.74,0.60 和 1.03 h<sup>-1</sup>,半衰期分别为 0.9,1.2 和 0.7 h. 两者之间的差异表明,尽管自由态的烷基酚和双酚 A 可以很快被活性污泥好氧生物降解,但由于污染物不能从活性污泥上快速脱 附而导致整体的表观降解速率大大减缓,从污泥上的脱附是活性污泥去除烷基酚和双酚 A 的限速步骤.

关键词 烷基酚 双酚 A 固相微萃取 好氧生物降解

烷基酚和双酚 A 是两类重要的环境内分泌干扰 物,在我国被大量使用<sup>[1,2]</sup>.伴随其生产和使用过程, 相当数量的烷基酚和双酚 A 进入城市污水处理厂<sup>[3,4]</sup>.

活性污泥法是应用广泛的污水生物处理工艺, 研究烷基酚和双酚 A 在活性污泥中的降解动力学对 于研究它们在污水处理过程中的去除效果有着重要 意义. 这方面已有的研究存在两点不足: 首先, 由于 分析能力的限制,实验采取的浓度往往远高于实际 污水处理厂中的浓度<sup>[5,6]</sup>.浓度的不符合会导致微生 物利用基质的方式变化,研究结果很可能无法反映 实际污水处理厂的情况. 其次, 大多数研究都假设体 系中所有的化合物(不管是自由态还是吸附态的)都 能同样程度地被微生物利用、采用总浓度的变化来 表征化合物的降解过程. 事实上有研究指出, 在存在 大量有机质的情况下, 吸附在有机质上的化合物是 不能被微生物利用的,只有自由态的化合物才能被 微生物利用<sup>[7]</sup>. 微量有机物首先从有机质上脱附下来 变成自由态, 然后被微生物降解. 因此, 仅考察总浓 度(吸附态+自由态)的变化而得到的其实是表观降解 速率常数, 该常数受微生物活性以外的条件(尤其是 吸附质的情况)的影响很大.

目前测量自由态浓度的方法主要有3大类:常规 方法(平衡透析、超滤、高速离心等)、色谱方法(尺寸 排阻色谱、反相色谱、亲和色谱等)、蛋白沉淀法,以 及损耗可忽略测量-固相微萃取法(nd-SPME).其中, nd-SPME法操作简便,几乎不破坏原有平衡状态,方 便后续的色谱检测,具有明显的优势<sup>[8]</sup>.目前, nd-SPME在环境领域主要用于腐殖酸、底泥或土壤存 在条件下憎水性污染物和药物的自由态浓度测定, 关于活性污泥存在条件下的应用尚未见报道<sup>[9,10]</sup>.

本研究针对现有研究的两点不足,在与实际污 水处理厂相近的浓度水平上(µg/L 量级),建立烷基酚 和双酚 A 自由态浓度的 nd-SPME 测量方法,开展区 分吸附态和自由态的目标物质活性污泥生物降解动 力学研究,希望能够获得烷基酚和双酚 A 在接近实 际污水处理厂条件下的脱附-生物降解过程动力学.

1 材料与方法

() 仪器和药品. 壬基酚(4-NP,不同支链结构的混合物)和叔辛基酚(4-t-OP)购自东京化成公司. 双酚A(BPA)购自 Sigma-Aldrich 公司. 固相微萃取 (SPME)手柄和聚丙烯酸酯(PA)探针购自 Supelco 公司. 探针长 1 cm,涂层外径为 140 μm,内径为 55 μm. 在 使用之前,所有的探针都在气相色谱/质谱联用仪 (GC/MS)进样口 300 的氦气氛围下活化 2 h. 采样后 的探针直接插入 GC/MS 进样口进行分析,所采用的 GC/MS型号为 Finnigan Trace DSQ,色谱柱为 DB-5MS 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm).进样口温

国家自然科学基金资助项目(批准号: 50625823, 50538090)

<sup>2006-12-18</sup> 收稿, 2007-05-22 接受

<sup>© 1994-2009</sup> China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net www.scichina.com

度 280 ,探针在其中解析 5 min; 在这 5 min 中采用不 分流, 5 min 后拔出探针,改为分流模式.载气为氦气, 流量为 1 mL/min.升温程序为:初始温度 40 ,保持 4 min; 20 /min 升温到 180 ,保持 1 min; 2 /min 升 温到 245 ,保持 2 min; 20 /min 升温到 280 ,保持 12 min.离子源温度为 280 ,传输线温度为 260 .采 用选择离子扫描(SIM)模式,内标法定量.

() nd-SPME 方法研究. 双酚 A 和各种烷基酚 溶于 pH 7.4 的磷酸二氢钠盐缓冲溶液中(磷酸二氢钠 浓度 0.1 mol/L), 使各化合物浓度为 50 ug/L. 取该标 准溶液 35 mL 置于 40 mL 的小烧杯中(所有的实验均 使用统一规格的烧杯,以保证固相微萃取条件的相 同). 在烧杯中放入磁力搅拌子, 用特氟隆(Teflon)膜 密封, 然后将其置于磁力搅拌仪上, 转速为 2000 r/min. 将整个装置放于生化培养箱中,以使温度保持在 20 . 将 SPME 探针穿过 Teflon 膜浸入溶液, 同时开始计时. 待一定时间后取出 SPME 探针,将其插入 GC/MS 进样 口进行分析. 在此之前, 将标样溶于正己烷溶液, 配 成不同浓度的溶液,用来对不同采样时间下探针上 吸附的化合物质量进行定量. SPME 探针的体积为 0.521 µL, 根据吸附的质量和探针的体积可以得到探 针上化合物的浓度. 根据同一时刻溶液中的浓度可以 得到吸附动力学.

())分配系数测定实验.为了进行后续限速步 骤的判别,必须先测定在活性污泥灭活情况下,烷基 酚和双酚 A 在吸附态和自由态之间的分配系数 f<sub>oc</sub>. 先将污泥加入前面所述的缓冲溶液,使其浓度与污 水处理厂实际浓度类似.然后加入叠氮化钠,使其最 终浓度为 0.1 mol/L,用来对活性污泥进行灭活,防止 在实验过程中将化合物降解.将污泥完全混合后,准 确量取 35 mL放入 40 mL小烧杯中.在小烧杯中加入 一定数量的标样,使其最终浓度分别为 20,40,80, 120 和 160 μg/L.将这些加了标样的泥水混合物在 20 生化培养箱中混合 24 h,以保证化合物在水相和 污泥相之间达到吸附平衡.下面的操作同()节所述. 化合物的分配系数用式(5)来进行计算.

() 生物降解动力学实验. 生物降解采用间歇 式实验, 方法如 Nyholm 等人<sup>[11]</sup>所述. 研究证明该方 法可以模拟有机物在μg/L浓度级别的实际活性污泥 体系中的生物降解. 活性污泥取自北京某污水处理 厂的曝气池好氧段, 适当加入壬基酚和叔辛基酚标 样(水溶液), 使其最终浓度在 50~60 μg/L. 实际污水 中双酚A的浓度已经可以满足实验检测的要求,不加入标样.实验过程如下:取 0.5 L 泥水混合搅拌,在恒温生化培养箱中振荡,反应温度为20 .在一定的时间间歇,立刻加入叠氮化钠终止反应,取 35 mL 泥水混合物按照前述方法测定自由态化合物浓度,同时将剩下的泥水混合物用正己烷进行液液萃取,测定全部化合物浓度.液液萃取按照 Jin 等人<sup>[12]</sup>的方法进行,同时进行对照实验.将活性污泥先用叠氮化钠灭活,其他条件与降解实验一致,发现在灭活条件下烷基酚和双酚 A 浓度的降低可以忽略.

2 结果与讨论

## 2.1 烷基酚和双酚 A 在 SPME 探针上的吸附动力学

在进行"污泥脱附-生物降解"动力学实验时,准 确测量反应体系中化合物的自由态浓度,要求测量 过程不会破坏化合物的吸附平衡.我们采用 nd-SPME方法测量自由态浓度.在使用该方法时,尽管 被 SPME 探针吸附的化合物的量很少,事实上仍然会 造成原来平衡的改变.如果这种改变保持在极小的 一个范围,则可以认为没有破坏原来的平衡.Heringa 等人<sup>[8]</sup>进行了很多关于应用 nd-SPME 进行自由态测 量的研究,提出了保证不破坏吸附-平衡的条件是

$$k_1 V_f / k_2 V_a << 1.$$
 (1)

同时,在固相微萃取以后,被探针吸附的自由态 化合物的量与体系中全部化合物的量的比要尽可能 的小(在测量过程中极小部分化合物被探针吸附,称 为"损耗"),二者之比表示为*C*<sub>SPME,</sub>*V*<sub>f</sub> / *C*<sub>free</sub>*V*<sub>a</sub>.

在满足损耗可忽略的条件下,探针上的化合物 浓度为

$$C_{\text{SPME},t} = \frac{k_1}{k_2} C_{\text{free},0} (1 - e^{-k_2 t}), \qquad (2)$$

以上  $k_1$  和  $k_2$  分别表示化合物在探针上的吸附和脱附 常数,  $V_f$  表示探针体积,  $V_a$  表示溶液体积.  $C_{SPME,t}$  表示 t 时刻探针上化合物的浓度,  $C_{free,0}$  表示化合物的初始 自由态浓度.

表1是实验数据根据式(2)拟和的结果. 各个化合物的  $k_1V_f/k_2V_a$ 均满足远小于1的要求, 表明在标样中(无污泥情况下)和有污泥的体系中, 化合物在探针上的吸附动力学一致, 标样可以用于有污泥体系的定量.在 SPME 测定过程中, 吸附到探针上的化合物只占总量的 0.2%至1.2%左右, 不会破坏水中化合物在自由态与吸附态的平衡. 该方法可以用于后续动力学研究.

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net 1510 www.scichina.com

第52卷第13期 2007年7月 🏘 🖗 🧸 🛔

表 1 污染物与探针的吸附动力学相关参数

	叔辛基酚	壬基酚	双酚 A
探针吸附常数/min	75.00	138.56	34.79
探针脱附常数/min	0.09	0.12	0.15
$k_1 V_{\rm f}/k_2 V_{\rm a}$	0.0124	0.0178	0.0034
相关系数 r <sup>2</sup>	0.99	0.99	0.99
$lg K_{SPME}$	2.92	3.08	2.36
吸附到探针上的比例	0.74%	1.24%	0.27%

#### 2.2 "污泥脱附-生物降解"动力学

(1) 生物降解速率常数和表观降解速率常数. Artola-Garicano 等人<sup>[13]</sup>建立了脱附-生物降解过程的动力学方程,在 t 时刻,整个体系总浓度变化为

$$\frac{\mathrm{d}C_{\mathrm{total}}}{\mathrm{d}t} = -k_{\mathrm{total}}C_{\mathrm{total}},\tag{3}$$

或者表达为

$$\frac{\mathrm{d}C_{\mathrm{total}}}{\mathrm{d}t} = -k_{\mathrm{bio}}C_{\mathrm{free}}\frac{V_{\mathrm{free}}}{V_{\mathrm{total}}} \approx -k_{\mathrm{bio}}C_{\mathrm{free}}.$$
 (4)

在任意时刻,自由态浓度与总浓度之间存在比 例关系:

$$f_{\rm X} = \frac{C_{\rm free}}{C_{\rm total}} = \frac{1}{1 + f[{\rm M}_{\rm oc}]}.$$
 (5)

因此,自由态浓度的化合物可以表达为

$$C_{\rm free} = C_{\rm free,0} e^{-\frac{1}{1+f[M_{\rm oc}]}k_{\rm bio}t} = C_{\rm free,0} e^{-k_{\rm total}t},$$
 (6)

以上  $C_{\text{total}}$  表示总浓度,  $[M_{oc}]$ 表示吸附质的浓度.

图 1(a)~(c)分别为叔辛基酚、壬基酚和双酚 A 的 自由态浓度和总浓度随时间变化的情况.表 2 中所示 的是根据式(3)和(6)拟和得到的表观降解速率常数 *k*<sub>total</sub>和生物降解速率常数 *k*<sub>bio</sub>.

从表 2 可以了解到, 叔辛基酚、壬基酚和双酚 A 在活性污泥中的"真实"生物降解速率分别为 0.74, 0.60 和 1.03 h<sup>-1</sup>, 半衰期分别为 0.9, 1.2 和 0.7 h. 该结 果表示一旦这 3 种化合物从吸附态变为自由态以后, 微生物对其的降解非常迅速, 半衰期在 1 h 左右. 由 于基于自由态浓度测量的"真实"生物降解速度与体 系中的其他因素没有关系(比如体系中吸附质的存在 情况等), 因而真实地表征了微生物的降解能力, 可 以在不同的体系间就微生物的活性进行比较.

基于总浓度进行拟和, 叔辛基酚、壬基酚和双酚 A 的表观降解速率常数分别为 0.02, 0.01 和 0.031 h<sup>-1</sup>, 三者的半衰期( $t_{1/2}$ )分别为 34.9, 54.3 和 22.3 h. 该表观 速率常数不仅包含了微生物的活性信息,而且包含 了吸附质的信息. 由于叔辛基酚、壬基酚和双酚 A 的



图 1 叔辛基酚(a)、壬基酚(b)和双酚 A(c)的对数浓度 随时间的变化

	叔辛基酚	壬基酚	双酚 A	
表观降解速率常数/h <sup>-1</sup>	0.02	0.01	0.03	
表观降解速率半衰期/h	34.9	54.3	22.3	
生物降解速率常数/h <sup>-1</sup>	0.74	0.60	1.03	
生物降解速率半衰期/h	0.9	1.2	0.7	
分配系数对数值	4.42	4.53	4.37	
实测分配系数对数值	4.18	4.25	3.77	

憎水性较强,分配系数 f<sub>oc</sub>在 10<sup>4</sup> 左右.因此,虽然叔 辛基酚、壬基酚和双酚 A"真正的"生物降解速率很快, 但是由于大部分吸附在有机质上不能被微生物利用, 而且从有机质上脱附下来又很慢,导致表观降解速 率要远远小于"真正的"生物降解速率.

据作者所知,关于双酚 A 和叔辛基酚在活性污 ll rights reserved. http://www.cnki.net 泥中的好氧降解动力学的研究还不多.在有限的关于壬基酚的研究中,采用的浓度远高于污水处理厂中的实际浓度,而且由于测定的都是总体浓度,只能得到表观降解速率常数.表3比较了文献报道的结果与本研究的结果.可以发现,这些在高浓度条件下得到的半衰期值大于本研究中接近于污水处理厂实际浓度水平的实验结果.

表 3 不同初始浓度壬基酚降解半衰期实验结果比较

半衰期/d	污泥浓度/g·L <sup>−1</sup>	初始浓度/µg・L <sup>−1</sup>	文献
20	4.4	2100	[6]
15	1.9	4700	[14]
4.7	5.0	5000	[5]
2.3	1.4	~50	本文

(2) 限速步骤. 有机物被降解其实分为两个过 程: 从有机质上脱附以及后续被微生物降解. 根据 Artola-Garicano等人<sup>[13]</sup>的研究,在系统运行一段时间 以后,不管是哪个过程处于限速步骤,体系中自由态 浓度和总浓度的比值始终保持一致. 以f表示该比值 (如式(5)所示). 当生物降解是限速步骤时, f 就是化 合物在水相和污泥相之间的分配系数(不存在生物降 解情况),  $f = f_{oc}$ ; 当脱附是限速步骤时,该比值大于 分配系数, $f > f_{oc}$ .

可以通过比较实验中分配系数 f 与实际分配系数 f<sub>oc</sub> 的大小来判断是生物降解还是污泥脱附为限速步 骤. 从表 3 可以发现,本实验中分配系数 f 均大于各 化合物实际分配系数 f<sub>oc</sub>. 因此,对于叔辛基酚、壬基 酚和双酚 A 的活性污泥好氧降解来说,从污泥中脱附 下来是整个过程的限速步骤,一旦变成自由态后其 生物降解速率非常迅速.与本研究的摇瓶实验相比, 实际污水处理厂的曝气充氧更为充分,一方面将有 利于好氧微生物的生长,另一方面也有利于传质,从 而提高污染物与微生物的接触几率,因此进一步促进 生物降解. 尽管曝气充氧也会有利于污染物的脱附, 但由于本研究的摇瓶实验在振荡条件下进行,差异相 对不大. 上述结论对实际污水处理厂有一定的现实意 义,为了更有效地去除烷基酚和双酚 A,可以考虑采 取相关措施加快其从污泥吸附态转变成自由态.

## 3 结论

在一定的条件下,活性污泥体系中自由态浓度 的烷基酚和双酚A可以用聚丙烯酸酯(PA)探针进行 nd-SPME测定,由于测定过程中吸附到探针上的化 合物的量非常小,因此不会破坏水中化合物在自由 态与吸附态的平衡. 以该方法为测量手段, 进行了在 实际污水处理厂的浓度水平下, 烷基酚和双酚 A 在 活性污泥好氧条件下的降解动力学. 叔辛基酚、壬基 酚和双酚 A 的总浓度降解速率常数分别为 0.02, 0.01 和 0.031 h<sup>-1</sup>. 在实际污水处理厂浓度下, 壬基酚的半 衰期小于高浓度时的研究结果. 叔辛基酚、壬基酚和 双酚 A 自由态浓度的生物降解速率常数分别为 0.74, 0.60 和 1.03 h<sup>-1</sup>, 表明自由态的烷基酚和双酚 A 可以 很快被微生物降解. 在活性污泥好氧降解过程中, 烷 基酚和双酚 A 去除的限速步骤均为污泥脱附.

## 参考 文 献

- 沈钢,余刚,蔡震霄,等. 污水和污泥中两类酚类内分泌干扰物 的分析方法. 科学通报, 2005, 50(17): 1845—1851
- 2 邵晶,时国庆,金星龙,等.海河地区部分水体雌激素活性的初步调查.科学通报,2005,50(16):1714—1719
- 3 Thiele B, Gunther K, Schwuger M J. Alkylphenol ethoxylates: Trace analysis and environmental behavior. Chem Rev, 1997, 97: 3247—3272
- 4 Shao B, Hu J, Yang M. Nonylphenol ethoxylates and their biodegradation intermediates in water and sludge of a sewage treatment plant. Bull Environ Contam Toxicol, 2003, 70(3): 527–532
- 5 Chang B V, Chiang F, Yuan S Y. Biodegradation of nonylphenol in sewage sludge. Chemosphere, 2005, 60(11): 1652–1659
- 6 Tanghe T, Devriese G, Verstraete W. Nonylphenol degradation in lab scale activated sludge units is temperature dependent. Water Res, 1998, 32(10): 2889—2896
- 7 Alexander M. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. Env Sci Tec, 2000, 34(20): 4259–4265
- 8 Heringa M B, Hermens J L M. Measurement of free concentrations using negligible depletion-solid phase microextraction(nd-SPME). Trac-Trend, 2003, 22(10): 575-587
- 9 Hu X L, Peng J F, Liu J F, et al. Evaluating the impacts of some environmentally relevant factors on the availability of bisphenol A with negligible-depletion SPME. Chemosphere, 2006, 65: 1935–1941
- 10 Heringa M B, Hogevonder C, Busser F, et al. Measurement of the free concentration of octylphenol in biological samples with negligible depletion-solid phase microextraction(nd-SPME): Analysis of matrix effects. J Chromat B, 2006, 834: 35-41
- 11 Nyholm N I F, Berg U T, Pedersen J P, et al. Estimation of kinetic rate constant for biodegradation of chemicals in activated sludge wastewater treatment plants using short term bach experiments and ug/L range spiked concentration. Chemosphere, 1997, 33(5): 851-864
- 12 Jin X L, Jiang G B, Huang G L, et al. Determination of 4-tert-octylphenol, 4-nonylphenol and bisphenol A in surface waters from the Haihe River in Tianjin by gas chromatography-mass spectrometry with selected ion monitoring. Chemosphere, 2004, 56(11): 1113—1119
- 13 Artola-Garicano E, Borkent I, Damen K, et al. Sorption kinetics and microbial biodegradation activity of hydrophobic chemicals in sewage sludge: Model and measurements based on free concentrations. Environ Sci Technol, 2003, 37(1): 116–122
- 14 Staples C A, Naylor C G, Williams J B, et al. Ultimate biodegradation of alkylphenol ethoxylate surfactants and their biodegradation intermediates. Environ Toxicol Chem, 2001, 20(11): 2450—2455

论文