

反硝化条件下河岸渗滤过程中苯胺的降解

吴耀国, 曾睿, 惠林, 尹德忠

西北工业大学应用化学系, 陕西西安 710072

摘要: 通过河岸渗滤作用(river bank filtration, RBF)诱发河水的补给, 增大地下水的允许开采量可以满足更多居民生活饮用水需求。受人类活动的影响, 河流等地表水体遭受苯胺污染, 可能通过 RBF 进入地下水, 以致饮用该地下水存在健康风险。为研究反硝化条件下, 苯胺在 RBF 中的转化, 采集渭河河床沉积物及沿岸地下水含水层的含水介质, 装置土柱, 进行土柱动态模拟实验。经过 153 d 的实验研究发现, 利用苯胺对 RBF 中土著反硝化微生物进行驯化, 大约经过 37 d 菌种完全适应。具有该菌种的 RBF 系统, 对苯胺具有巨大降解能力, 在 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 约为 23.0 mg/L 的条件下, RBF 系统可使 40、80 甚至 400 mg/L 浓度的苯胺 100% 降解, 矿化率分别达 97.99%、91.39% 与 75.30%。反硝化条件下, 苯胺在 RBF 中的降解仅有少部分经过脱氨作用, 绝大部分与腐殖质以共价键形式形成耦合物, 该耦合物更易为微生物降解, 且降解过程中不产生对研究环境微生物有毒的中间产物, 可实现反硝化条件下 RBF 中苯胺的连续降解。

关键词: 反硝化条件; 苯胺; 河岸渗滤过程; 厌氧转化。

中图分类号: P342

文章编号: 1000-2383(2006)02-0273-06

收稿日期: 2005-07-01

Bio-translation of Aniline in Riverbank Filtration Process under Denitrification Conditions

WU Yao-guo, ZENG Rui, HUI Lin, YIN De-zhong

Department of Applied Chemistry, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China

Abstract: Aniline can enter the environment from many industries, and has been detected in surface water including river water. For many cities in north China such as Xi'an, Lanzhou and Harbin, the drinking water is produced from groundwater recharged by river water through riverbank filtration (RBF). Aniline is a refractory organic pollutant and harmful to humans. So its degradation and mechanism have received much attention. In this paper, soil columns containing sediment and aquifer media were collected from the Weihe riverbed and its bank, and were used to research the characteristics of aniline degradation in the riverbank filtration process under denitrification conditions. The results indicate that all aniline could be degraded by habituated indigenous microorganisms, and even mostly mineralized under denitrification conditions, but the degradation had a long lag period. A minority of aniline degradation must involve deamination, while the majority undergoes covalent binding with humic substances to form complexes. The complexes are degraded easily and even mineralized. During the degradation, no intermediates were harmful to denitrifiers. Therefore, under denitrification conditions, aniline has the potential to biodegrade in RBF and the potential lasts for long time, and this has not been monitored in the groundwater along the polluted river. During the 153 d testing process, the nitrate-nitrogen concentration was about 23.0 mg/L, and the aniline concentration was 40, 80 and 400 mg/L at 0-74 d, 75-105 d and 106-153 d respectively in infiltrating water. Indigenous microorganisms pass a lag period of 37 d, and grow on aniline as the source of carbon in the RBF under denitrification conditions. Aniline concentration in leachate is lower than the detected limits, so its removal rate was 100%. TOC removal rates were 97.99%, 91.39% and 75.30% for 40, 80 and 400 mg/L aniline concentrations respectively, based on TOC monitored infiltrating water and leachate.

Key words: denitrification condition; aniline; riverbank filtration; anaerobic bio-translation.

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 40472127); 西北工业大学“英才计划”项目(2002)。

作者简介: 吴耀国(1967-), 男, 博士, 副教授, 现主要从事水环境科学与工程研究。E-mail: wuygal@pub.xaonline.com

0 引言

苯胺, 毒性很强, 甚至致癌; 在好氧水体中可降解, 其半衰期为 5~25 d; 在土壤中难于降解, 半衰期在 350 d 左右; 在水体沉积层的上部好氧环境中, 其环境行为及半衰期与土壤中的相似, 但在厌氧环境中的降解更加缓慢, 半衰期约为 10 a (European Commission, Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE), 2003)。目前国内每年生产苯胺 80 000 t 以上, 全世界每年排入环境中的苯胺约 30 000 t (郑金来等, 2001)。另外, 硝基芳香化合物和苯胺类农药的微生物转化可形成苯胺 (Vasili *et al.*, 2002), 以致河流等地表水体及土壤中常有苯胺的检出 (Lyons *et al.*, 1984; Lacorte *et al.*, 1999)。然而许多国家与地区, 建立傍河水源地, 通过河岸渗滤作用 (River-Bank Filtration, RBF) 诱发河水的补给, 增大其允许开采量, 满足更多居民生活饮用水需求 (Doussan *et al.*, 1997; Hiscock and Grischek, 2002; Ray *et al.*, 2002; Tufenkji *et al.*, 2002)。苯胺在 RBF 中的环境行为已成为人们的关注。

有机物的厌氧降解, 常发生在硝酸盐或硫酸盐还原等条件下, 而实际 RBF 系统常出现反硝化带、硫酸盐还原带等厌氧分区 (Doussan *et al.*, 1997), 为有机物在 RBF 中厌氧降解提供了可能。自 De *et al.* (1994) 研究发现苯胺可在河流入海口处沉积层的反硝化条件下为土著微生物降解后, 其他河段的沉积层中存在可降解苯胺的土著微生物, 并可利用 RBF 净化苯胺污染河水。鉴于苯胺降解研究多集中于好氧条件下 (Dipak *et al.*, 1997; Murakumi *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2002), 对土著微生物进行厌氧驯化, 利用其降解苯胺的可能性及特点等的研究很少报道。本文以渭河 RBF 为例, 采集其河床沉积物及其沿岸地下水含水层的主要含水介质, 装置土柱, 进行动态土柱实验, 模拟 RBF 过程, 研究反硝化条件下苯胺的转化特征, 以期对苯胺厌氧降解规律认识的深入及 RBF 系统在污水厌氧原位修复中的应用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

河床沉积物采集于渭河咸阳大桥下游 500 m 处

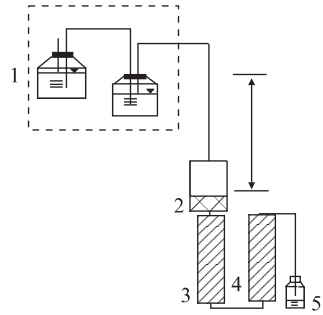


图 1 实验装置示意图

Fig. 1 Sketch map of the tester

1. 定水位装置; 2. 沉积层柱 (长 30 cm, 内径 15 cm); 3. 细砂柱 (长 50 cm, 内径 10 cm); 4. 粗砂柱 (长 50 cm, 内径 10 cm); 5. 集水瓶

的河床; 地下水含水介质采集于河流沿岸地下深约 2 m 处, 主要为细砂和粗砂。无论是河床沉积物还是含水层介质, 均未做任何处理直接装入实验土柱。为保证模拟 RBF 系统与自然状况接近, 特在装土过程中要求对其压实, 并在装柱后又进行为期 50 d 的浸泡。动态实验装置如图 1。

1.2 实验方法

静态吸附实验在 500 ml 具塞锥形瓶中进行, 水土比为 100 ml: 20 g, 恒温 22 ℃, 振荡频率约 120 次/min。吸附振荡一定时间后, 离心澄清, 分析苯胺平衡浓度。

动态实验 (图 1), 根据实验目的, 利用超声脱氧水与分析苯胺配制一定浓度的苯胺溶液作为模拟河水。为减少复氧的影响, 实验过程中, 每 3 d 换一次模拟河水, 并定时取样测定苯胺、硝酸根等浓度及 pH 值。为了解研究条件下 RBF 的水力学特征, 特用 Cl^- 作示踪剂进行了弥散实验。

1.3 分析方法

水中苯胺、硝酸根浓度和 pH 值、总有机碳 (TOC), 及土中苯胺、有机碳与有机氮等的测定严格按国家标准方法进行 (中国土壤学会农业化学专业委员会, 1983; 国家环境保护局《水和废水监测分析方法》编委会, 1998)。

2 结果与讨论

2.1 河床沉积物的基本性质

采用油浴加热— $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 容量法、开氏法、蒸馏法分别测定出所采集沉积物的有机碳、有机氮含量分别为 47.72 mg/(干土)g、0.41 mg/(干土)g。同时

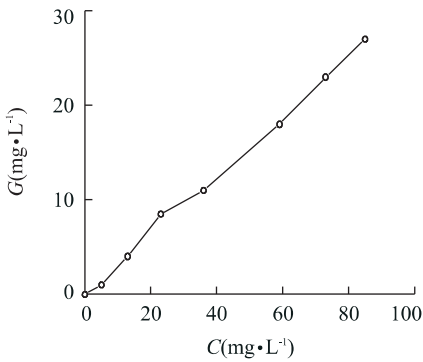


图 2 河床沉积物对苯胺的吸附等温线

Fig. 2 Isotherm curve for aniline adsorption by the sediments

测得试验用沉积物的平均干容重 $\rho = 1.4794 \text{ g/cm}^3$ 、平均孔隙度 $n = 0.2141$ 。

2.2 吸附平衡方程的确定

通过实验初步确定,在原水 pH 值条件下,静态吸附平衡时间约为 8 h。然后,配置 7 个不同浓度的苯胺模拟废水,进行静态吸附实验,测定平衡时苯胺在水、土中的浓度 C 与 G ,结果见图 2。

由图 2 可见,吸附符合线性规律,即可用 Henry 模式描述:

$$G = K_d \cdot C \quad (1)$$

式(1)中为 K_d 吸附常数。采用最小二乘法对实验数据进行拟合,得到苯胺吸附常数 K_d 为 0.3149,相关系数 $R = 0.9979$ 。

对于吸附而言的迟滞系数 $R_d = 1 + (\rho/n)K_d$ (刘兆昌等,1991),则可以计算出本实验条件下苯胺的 $R_d = 3.1756$ 。 $R_d \gg 1$,可见河岸渗滤介质对苯胺具有较强的吸附能力。

2.3 反硝化环境的扶育

反硝化环境扶育过程中,监测得到硝态氮与氨

氮浓度变化(图 3)。由图 3 可见,无论模拟河水中硝态氮是 20、40、80、160 或 200 mg/L,在 145 d 的实验历程中,渗出液的硝态氮浓度都很低,甚至低于检出值,说明系统中硝态氮发生了转化,产生了硝态氮的去除作用。研究环境条件下,硝态氮的去除途径可能有 2 种:一为反硝化作用,另一为异化还原成氨作用(DNRA)。DNRA 常发生在系统碳源不足时(Schurmann *et al.*, 2003),而实际研究系统的碳源十分丰富。假设系统果真发生 DNRA,渗出液中氨氮浓度的增加与模拟河水中硝态氮浓度的增加具有一定的相关性,然而比较图 3a 和图 3b,却未发现相关性的存在,即在实验条件下, DNRA 不可能发生。也就是,研究系统中硝态氮的去除只能是反硝化作用的结果。说明实验研究系统中发生了反硝化作用,系统的确是厌氧环境,表明反硝化实验环境的扶育是成功的。渗出液中氨氮浓度的检出,很可能是沉积层中有机氮矿化的结果(将在另文讨论)。

2.4 RBF 中苯胺降解的特点

利用 2.3 中扶育的反硝化环境,向模拟河水中添加目标污染物——苯胺,使其在 0~74 d、75~104 d 及 105~153 d 的浓度分别为 40、80 与 400 mg/L,同时稳定硝态氮浓度为 23.0 mg/L。实验过程中,监测得到渗出液中主要组分浓度变化如图 4 所示。

2.4.1 反硝化条件下,RBF 中苯胺的降解能力大,且大部分发生了矿化 由图 4a 可见,不论是模拟河水中苯胺浓度为 40、80 还是 400 mg/L,实验进行了 153 d,渗出液中苯胺浓度最终都趋于稳定,几乎为 0,表明在研究条件下,RBF 对苯胺净化能力很大。可见,土著微生物经过驯化,不仅可在好氧条件下降解苯胺(Dipak *et al.*, 1997; Murakumi *et al.*, 1999; Liu, *et al.*, 2002),同样也可在厌氧反硝化

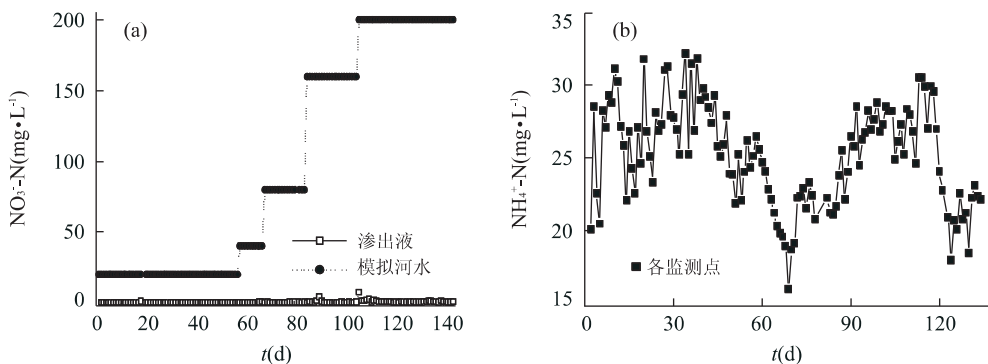


图 3 反硝化环境的扶育实验(a)和扶育过程中氨氮浓度(b)

Fig. 3 Nitrate (a) and NH₄⁺-N (b) concentrations in leachate and model water during the denitrification condition forming

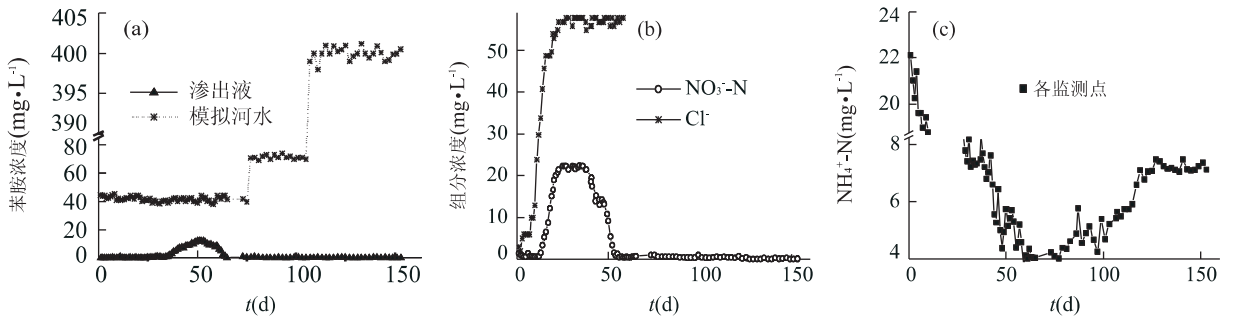


图 4 渗出液中苯胺浓度变化(a)硝态氮与氯离子浓度变化(b)和氨氮浓度变化(c)

Fig. 4 Aniline concentrations (a) and NO_3^- -N and Cl^- concentrations (b) and NH_4^+ -N concentration (c) in leachate and model water

表 1 实验过程中测定 TOC 含量

Table 1 TOC concentrations in model water and leachate during the testing process

时间(d)	模拟河水 TOC 含量 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	渗出液 TOC 含量 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	苯胺浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
72	33.83	0.68	40
94	65.42	5.63	80
152	330.37	81.60	400

条件下降解苯胺。目前很少见到地下水中检出苯胺,其中一重要原因很可能就在于此。

分别于实验的第 72、94 及 152 d,采集模拟河水、渗出液水样,测定其 TOC 含量,结果见表 1。由表 1 中,可以计算出当苯胺浓度分别为 40、80 及 400 mg/L 条件下,TOC 去除率分别为 97.99%、91.39%与 75.30%。表明在实验研究条件下,苯胺不仅可以 100%降解,而且绝大部分发生彻底降解,即发生了矿化。这与 De *et al.* (1994) 研究结果基本一致。

2.4.2 反硝化条件下,RBF 中土著微生物降解苯胺具有较长的适应期 Gheewala and Annachatre (1997) 研究发现,苯胺可抑制硝化细菌的活性,甚至具有灭活作用。图 4b 是模拟河水中存在苯胺条件下的,硝态氮及氯离子浓度的变化。图 5 是对图 4b 中氯离子与硝态氮除以相应的初始浓度,即相对浓度的变化曲线。由图 5 可见,模拟河水中添加苯胺后,渗出液中硝态氮浓度不断升高,表明系统反硝化微生物活性在降低,反映出苯胺对环境原存在的反硝化微生物具有毒性。当实验进行到 28 d 左右,模拟河水、渗出液中硝态氮浓度几乎相等,说明系统中反硝化作用完全停止,表明苯胺毒性的巨大,同样对反硝化微生物的活性也具有抑制作用。但实验进行到 37 d 左右,渗出液中硝态氮浓度开始下降,结合前文的分析结果,可见系统中反硝化作用又重新开

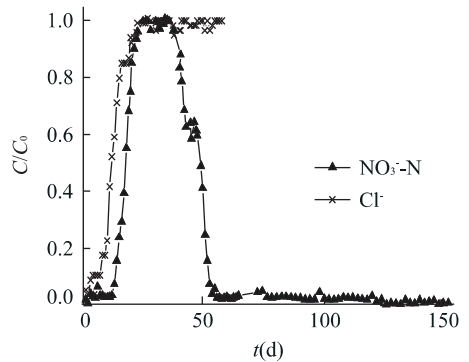


图 5 硝态氮浓度指示土著微生物的适应情况

Fig. 5 Nitrate and chlorate concentrations in leachate during the testing process

行,反映出微生物驯化的结束。

实际上,如果微生物处于驯化状态的话,系统中微生物的种类与数量也不断的发生变化,从而导致系统渗透性的变化。根据检测的渗出液体积随时间变化(图 6)发现,系统渗透性在 37 d 左右也发生了显著改变,从 150 mL/d 左右变为 122 mL/d 。这也表明苯胺对土著微生物驯化到近 37 d 完成。

综上,反硝化条件下,RBF 中土著微生物经过驯化,可以实现苯胺的降解,但其适应期较长。本次实验条件下,微生物适应期约为 37 d。研究条件下微生物的适应期,与好氧条件的微生物适应期(王菊思等,1995)要长得多,比 Novak *et al.* (1997) 研究的反硝化条件下的也长。该现象产生的原因有待今后继续研究。O'Neill *et al.* (2000) 试图分离出反硝化条件下苯胺降解微生物的培养基,但未达到预期的目的,可见其影响因素的复杂。

2.4.3 苯胺降解仅少部分经脱氨作用,且不产生对研究环境有毒性的中间产物 由 2.3 讨论已知,在反硝化环境扶养过程中,沉积层中有机氮发生了矿

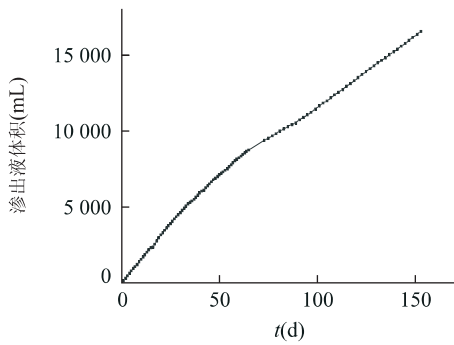


图 6 渗出液体积随时间的变化

Fig. 6 Leachate volume varying with time

化作用。模拟河水中添加了苯胺,渗出液中氨氮浓度也开始降低(图 4c),反映出苯胺同样对沉积物中有机氮矿化微生物具有毒性,抑制了矿化作用的进行。由图 4c 可以看出,实验进行到 55 d 左右,氨氮浓度基本稳定,而且每提高模拟河水中苯胺浓度后,渗出液中氨氮浓度随之增加。模拟河水中苯胺浓度与渗出液中氨氮浓度的变化之间具有一定的相关性,表明有一部分苯胺降解是经过脱氨作用。通过化学计量关系,降解的苯胺与产生的氨的摩尔比为 1:1,但实际实验过程中并没有遵循该规律,而是远小于该摩尔比,说明在研究条件下苯胺的降解还有其他途径。河床沉积层中腐殖质丰富,在厌氧微生物作用下,苯胺与其共价耦合,形成更容易为微生物降解的物质,甚至矿化(Weber *et al.*, 1996; Thorn *et al.*, 1996; Novak *et al.*, 1997; O'Neill *et al.*, 2000)。这样不产生对研究环境微生物有毒的中间产物,可实现反硝化条件下苯胺在 RBF 中的连续降解。由于降解的苯胺与产生的氨的摩尔比小于 1,而且模拟河水中苯胺浓度的大幅度增加,而渗出液中氨氮浓度虽也增加,但增幅较小,说明研究条件下很少一部分苯胺降解经过脱氨作用,大部分的降解过程是以后者为主。这明显不同于好氧条件(Murakumi *et al.*, 1999; Liu *et al.*, 2002)及硫酸盐还原条件下苯胺的降解过程(Schnell and Schink, 1991)。

3 结论

模拟实验研究发现,利用苯胺溶液对土著反硝化微生物驯化,大约经过 37 d 微生物完全适应。具有该菌种的 RBF 系统,对苯胺具有巨大去除能力,在 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 约为 23.0 mg/L 的条件下,RBF 系统

可使 40、80 甚至 400 mg/L 浓度的苯胺 100% 降解,矿化率也分别达 97.99%、91.39% 与 75.30%。反硝化条件下,苯胺降解必须经过脱氨作用,降解过程中不产生对研究环境微生物具有毒性的中间产物,可实现反硝化条件下 RBF 对苯胺的连续降解。

References

- De, M. A., Owen, A., O'Connor, A., et al., 1994. Metabolism of aniline under different anaerobic electron-accepting and nutritional conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13(2): 233-239.
- Dipak, R., Halah, M., Krishnanand, M., 1997. Aniline degradation in a soil slurry. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Environmental Science and Engineering & Toxic and Hazardous Substance Control*, 32(8): 2367-2377.
- Doussan, C., Guillemette, P., Emmanuel, L., et al., 1997. River-bank filtration: Modeling of the changes in water chemistry with emphasis on nitrogen species. *J. Contaminant Hydrology*, 25(1-2): 129-155.
- European Commission, Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE), 2003. Opinion on the results of the Risk Assessment of: Aniline environmental part, Brussels.
- Gheewala, S. H., Annachhatre, A. P., 1997. Biodegradation of aniline. *Water Science and Technology*, 36(10): 53-63.
- Hiscock, K. M., Grischek, T., 2002. Attenuation of groundwater pollution by bank filtration. *J. Hydrol.*, 266: 139-144.
- Lacorte, S., Perrot, M. C., Fraisse, D., et al., 1999. Determination of chlorobenzidines in industrial effluent by solid-phase extraction and liquid chromatography with electrochemical and mass spectrometric detection. *J. Chromatog. A.*, 833: 181-194.
- Liu, Z., Yang, H., Huang, Z., et al., 2002. Degradation of aniline by newly isolated, extremely aniline-tolerant *Delftia* sp. AN3. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 58: 679-682.
- Liu, Z. C., Zhang L. S., Nie, Y. F., et al., 1991. Pollution and control of groundwater system. China Environmental Science Press, Beijing, 218-219 (in Chinese).
- Lyons, C. D., Katz, S., Bartha, R., 1984. Mechanisms and pathways of aniline elimination from aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48(3): 491-496.
- Murakumi, S., Takashima, A., Takemoto, J., et al., 1999. Cloning and sequence analysis of two catechol degrading gene clusters from the aniline-assimilating bacterium

- Frateuria* species ANA-18. *Gene*, 226:189—198.
- Monak, P. J. , 1998. State environmental protection administration of China. China Environmental Science Press, Beijing, 179—500 (in Chinese).
- Professional committee of agricultural chemistry, Soil Science Society of China. General Methods of Soil Agricultural Chemical Analysis, 1983. Science Press, Beijing, 67—94 (in Chinese).
- Novak, P. J. , Christ, S. J. , Parkin, G. F. , 1997. Kinetics of alachlor transformation and identification of metabolites under anaerobic conditions. *Wat. Res.* , 31(12): 3107—3115.
- O'Neill, F. J. , Bromley-challenor, K. C. A. , Greenwood, R. J. , 2000. Bacterial growth on aniline: Implications for the biotreatment of industrial wastewater. *Wat. Res.* , 34(18): 4397—4409.
- Ray, C. , Grischek, T. , Schubert, J. , et al. , 2002. A perspective of riverbank filtration. *J. AWWA*, 94 (4): 149—160.
- Schnell, S. , Schink, B. , 1991. Anaerobic aniline degradation via reductive deamination of 4-aminobenzoyl-CoA in *Desulfobacterium anilini*. *Arch. Microbiol.* , 155(2): 183—190.
- Schurmann, A. , Schroth, M. H. , Saurer, M. , et al. , 2003. Nitrate-consuming processes in a petroleum-contaminated aquifer quantified using push-pull tests combined with ^{15}N isotope and acetylene-inhibition methods. *Journal of Contaminant Hydrology*, 66: 59—77.
- Thorn, K. A. , Pettigrew, P. J. , Goldenberg, W. S. , et al. , 1996. Covalent binding of aniline to humic substances. 2. ^{15}N NMR studies of nucleophilic addition reactions. *Environ. Sci. Technol.* , 30(9): 2764—2775.
- Tufenkji, N. , Ryan, J. N. , Elimelech, M. , 2002. The promise of riverbank filtration. *Environ. Sci. Technol.* , 28: 422A—442A.
- Vasili, T. , Boris, P. , Eugene, L. , et al. , 2002. Reductive deamination as a new step in the anaerobic microbial degradation of halogenated anilines. *FEMS Microbiology Letters*, 209: 307—312.
- Wang, J. S. , Zhao, L. H. , Kuang, X. , et al. , 1995. Biodegradation of some aromatic compounds. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 15(4): 407—415 (in Chinese with English abstract).
- Weber, E. J. , Spidle, D. L. , Thorn, K. A. , 1996. Covalent binding of aniline to humic substances: I Kinetic studies. *Environ. Sci. Technol.* , 30(9): 2755—2763.
- Zheng, J. L. , Li, J. W. , Chao, F. H. , 2001. Advance in study on biodegradation of aniline, nitrobenzene and trinitrotoluene. *Microbiology*, 28(5): 85—88 (in Chinese with English abstract).

附中文参考文献

- 刘兆昌, 张兰生, 聂永丰, 等, 1991. 地下水系统的污染与控制. 北京: 中国环境科学出版社, 218—219.
- 国家环境保护局《水和废水监测分析方法》编委会, 1998. 水和废水监测分析方法(第三版). 北京: 中国环境科学出版社, 179—500.
- 中国土壤学会农业化学专业委员会, 1983. 土壤农业化学常规分析方法. 北京: 科学出版社.
- 王菊思, 赵丽辉, 匡欣, 等, 1995. 某些芳香化合物生物降解性研究. 环境科学学报, 15(4): 407—415.
- 郑金来, 李君文, 晁福寰, 2001. 苯胺、硝基苯和三硝基甲苯生物降解研究进展. 微生物学通报, 28(5): 85—88.