

活性艳红 X-3B 的厌氧生物降解与机理*

黄春梅 黄瑞敏** 徐家忠 刘 珍

(华南理工大学环境科学与工程学院, 广州, 510006)

摘 要 以活性艳红 X-3B(RBR)为研究对象,分3个不同浓度组研究其在厌氧颗粒污泥作用下的降解性能,并采用生物降解动力学方程拟合其降解过程,同时利用 GC-MS 分析 RBR 的生物降解途径. 试验结果表明, RBR 在厌氧颗粒污泥中降解性能很好,去除率可达 93.67%,且其降解过程符合二级反应动力学,其半衰期约为 3.561 h. 从 GC-MS 和 UV-可见光谱的分析得出, RBR 在厌氧颗粒污泥的作用下偶氮键断裂,且生成的芳香胺类化合物进一步降解为小分子的烃类、酚类、醇类和脂类化合物.

关键词 降解动力学, 厌氧颗粒污泥, 活性染料 X-3B(RBR), 降解机理.

活性艳红 X-3B(Reactive Brilliant Red X-3B, RBR)是一种应用较多的单偶氮活性染料,但在加工和使用过程中其利用率仅有 60%—70%,余下大多被排入环境中,很难降解从而对环境造成污染^[1]. 生物降解是偶氮染料在环境中衰减的主要过程之一,但在好氧条件下难以降解^[2-5]. 尽管许多研究表明在厌氧条件下偶氮染料能被降解^[6-10],但主要集中在对 COD 和色度的去除方面,而对染料的降解途径研究较少. 迄今为止,偶氮染料的厌氧生物降解机理与途径仍不明确.

本试验采用驯化好的厌氧颗粒污泥降解 RBR,考察了 RBR 在厌氧条件下的降解性能,初步分析与探讨了 RBR 的厌氧降解动力学和降解途径,为研究偶氮染料的生物降解提供参考.

1 材料与方法

1.1 试验用水

RBR 染料为上海佳英化工有限公司生产,为分析纯. 其分子式为 $C_{19}H_{10}Cl_2N_6O_7S_2Na_2$, Color index 为 Reactive Red 2,相对分子质量为 615,其特征吸收峰在 540 nm 处. 其它试剂也均为分析纯.

试验用水为人工配制的模拟废水, RBR 浓度分别为 50、80 和 120 $mg \cdot L^{-1}$. 在 RBR 溶液中添加 300 $mg \cdot L^{-1}$ 葡萄糖作为碳源,加入 NH_4Cl 和 KH_2PO_4 调节 $COD_C:N:P = 200:5:1$,同时加入 Ca、Mg、Fe、Co、Ni、Zn 等微量元素,以保证微生物细胞合成的需要. 此外,向配水中投加一定量的 $NaHCO_3$ 保证反应器内的缓冲能力.

1.2 试验方法

厌氧试验在有效容积为 1.5 L 的玻璃容器中进行,接种污泥为在相同试验条件下驯化后形成的颗粒污泥,污泥粒径为 0.5—1.5 mm, $VSS/SS = 0.63$. 将接种污泥分 3 组,污泥量为 30 $g \cdot L^{-1}$,然后分别加入含有 50、80、120 $mg \cdot L^{-1}$ RBR 的试验水进行序批式厌氧试验,试验温度为 $(25 \pm 1)^\circ C$.

1.3 测试方法

通过 Thermo Scientific Evolution 300UV-Vis 分光光度计对 RBR 进行扫描,发现 RBR 在波长为 540 nm 处有特征吸收峰. 配制 RBR 标准溶液系列,在 $\lambda = 540$ nm 处依次测定吸光度. 以吸光度为横坐标,以染料浓度为纵坐标作图,得到一条直线,作为标准工作曲线. 本试验通过水样的吸光度值和标准工作曲线计算染料浓度,然后计算染料去除率. 染料降解产物采用 GC-MS 分析,反应器进出水采用 UV-可见光谱分析. 水样在测定前均经 0.45 μm 滤膜过滤,其回收率为 99.5%.

2011 年 8 月 30 日收稿.

* 广东省节能减排重大专项(2008A080800020)资助.

** 通讯联系人, Tel: 13602774286; E-mail: lcmhuang@scut.edu.cn

用 GC-MS 测定其降解产物,载气为高纯氮气,柱流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱前压为 13.4 psi,分流比为 1:50. 进样口温度为 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min、 $8 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 $150 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 3 min、 $2 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 $230 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 3 min、 $5 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 $280 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min. 离子源为 EI;辅助温度为 $280 \text{ }^{\circ}\text{C}$;扫描范围 m/z 为 15—800.

2 结果与讨论

2.1 RBR 在厌氧颗粒污泥中的降解特性

如图 1 所示,厌氧颗粒污泥对 RBR 的降解能力较好,且随着反应时间的延长,RBR 去除率升高. 当反应进行到 30 h 时,去除率基本趋于稳定,且 RBR 最高去除率可达 93.67%. 在厌氧反应过程中,氧化还原电位在 $-280 \sim -370 \text{ mV}$ 范围内变动,且在反应 12 h 后,ORP 维持为 -360 mV 左右.

2.2 失活颗粒污泥对 RBR 的去除试验

为了进一步考察厌氧颗粒污泥对 RBR 去除的作用,进行了颗粒污泥失活试验. 将污泥置于高压灭菌器内,在 0.145 MPa 、 $121 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下、经 40 min 将微生物灭活,然后分别在 RBR 初始浓度为 50、80、120 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (温度为 $(25 \pm 1) \text{ }^{\circ}\text{C}$) 条件下重复上述试验,试验结果如图 2 所示.

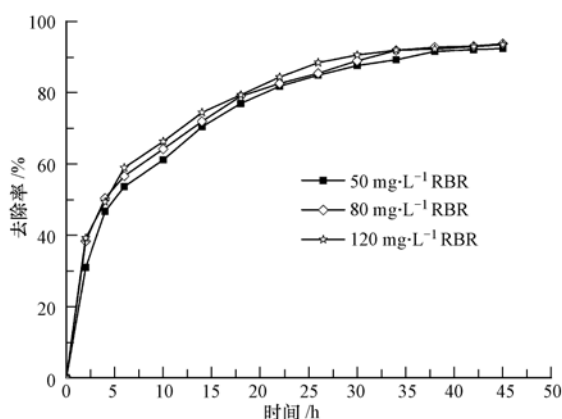


图 1 RBR 在厌氧颗粒污泥中的降解

Fig. 1 The degradation of Reactive Brilliant Red X-3B by anaerobic granular sludge

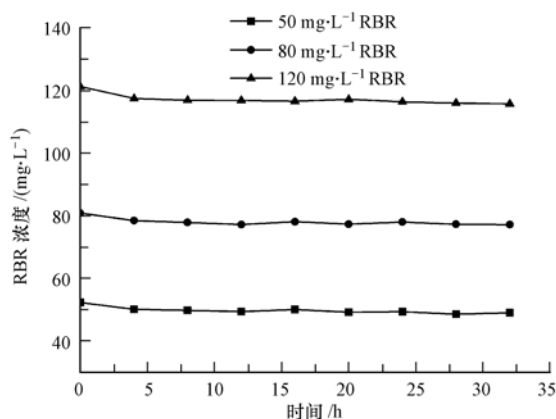


图 2 颗粒污泥失活对 RBR 染料的去除效果

Fig. 2 Removal efficiency of Reactive Brilliant Red X-3B by inactivated granular sludge

由图 2 可见,灭活后颗粒污泥对 RBR 几乎不再有去除效果,这说明活性污泥对 RBR 的去除主要是生物降解,而颗粒污泥吸附所起的作用很小.

2.3 厌氧污泥对 RBR 的降解动力学

将降解试验数据进行一级动力学和二级动力学模拟:

$$\text{一级动力学: } \ln(C/C_0) = -k_1 t \quad (1)$$

$$\text{二级动力学: } 1/C = 1/C_0 + k_2 t \quad (2)$$

式中, k_1 为一级反应速率常数, h^{-1} ; k_2 为二级反应速率常数, $\text{L} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; t 为反应时间, h; C 、 C_0 分别为 t 时间和初始时底物浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 模拟结果如表 1 所示,虽然染料的初始浓度不同,但在相同温度下其一级反应动力学常数基本稳定,这说明染料浓度在 $50 \sim 120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内对微生物降解能力没有抑制作用. 由模拟结果相关系数的大小对比可看出,在本试验条件下,降解动力学在一定程度上较符合二级动力学,且其半衰期约为 3.561 h.

2.4 RBR 浓度对厌氧颗粒污泥降解能力的影响

图 3 为不同染料浓度下,厌氧颗粒污泥对染料的比降解量(指单位质量污泥降解 RBR 的质量). 图 3 表明,在 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖浓度条件下,厌氧颗粒污泥对 RBR 的比降解量随着 RBR 浓度的升高而升高,再次说明在所选择的 RBR 浓度范围($50 \sim 120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),RBR 未对厌氧菌的活性产生抑制作用.

表 1 RBR 降解动力学参数

Table 1 Kinetic parameters for the degradation of Reactive Brilliant Red X-3B						
染料浓度 /(mg·L ⁻¹)	一级反应速率常数 K ₁ /h ⁻¹	半衰期 t _{1/2} /h	R ²	二级反应速率常数 K ₂ /(L·mg ⁻¹ ·h ⁻¹)	半衰期 t _{1/2} /h	R ²
50	0.0660	10.509	0.9048	0.0051	3.922	0.9619
80	0.0702	9.898	0.8987	0.0038	3.289	0.9428
120	0.0713	9.717	0.8594	0.0024	3.472	0.9725

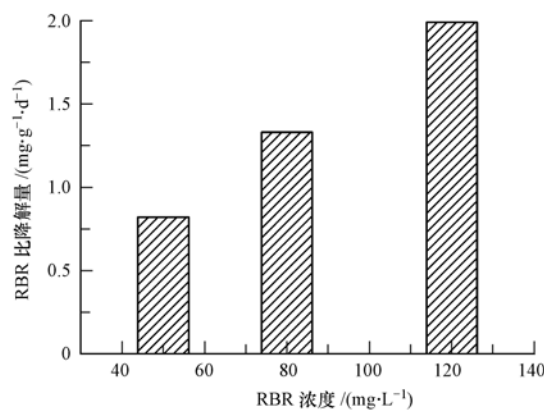


图 3 RBR 浓度对 RBR 降解速率影响

Fig. 3 Relation between Reactive Brilliant Red X-3B concentration and its biodegradation rate

2.5 降解途径初探

2.5.1 RBR 降解产物的 GC-MS 分析

RBR 染料中较易断裂的共轭双键在过氧化氢酶的作用下,发生对称性与非对称性断裂^[11],生成芳香胺类化合物. 其中生成的苯胺经过水解作用转化为苯酚,而另外的芳香胺类化合物进行还原、水解和氧化作用,生成多种含萘环化合物、含苯环化合物,部分中间产物还被降解为烃类、酚类、醇类和脂类化合物. RBR 厌氧出水的 GC-MS 谱图见图 4,具体物质见表 2. RBR 降解过程中产生了醌类化合物,醌类作为氧化还原中间体,通过传递电子促进偶氮还原,提高偶氮染料的还原率^[12-13],从而使 RBR 的去除率达 93.67%.

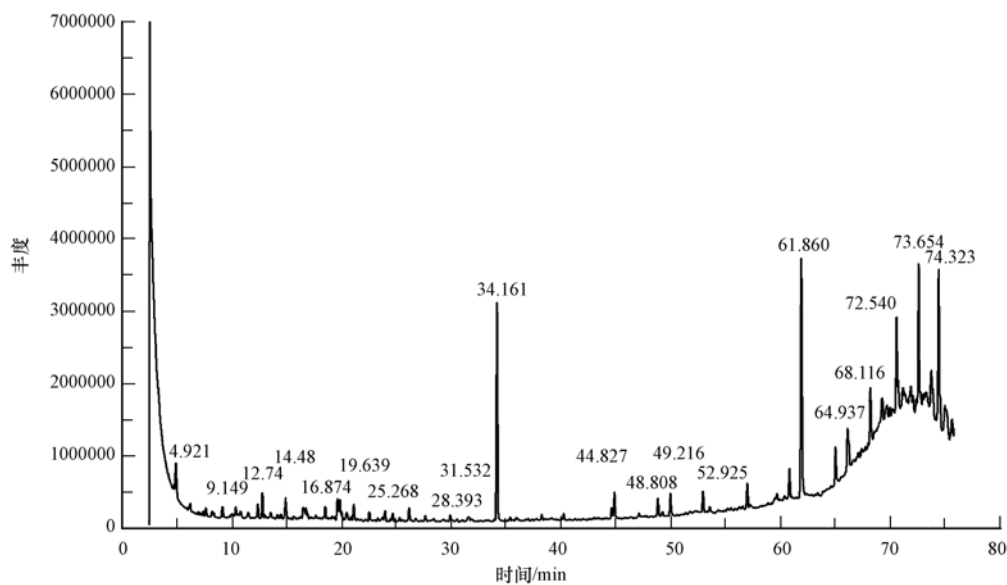


图 4 厌氧出水的 GC-MS 谱图

Fig. 4 GC-MS spectrum of anaerobic effluent

表 2 厌氧出水 GC-MS 分析

Table 2 GC-MS analyses results of anaerobic effluent

序号	GC 停留 时间/min	产物分子式	序号	GC 停留 时间/min	产物分子式
1	4.921	<chem>Oc1ccccc1</chem>	10	34.161	<chem>CCCCOC(=O)c1ccccc1C(=O)OCCCC</chem>
2	9.149	<chem>ClCC(Cl)CCl</chem>	11	44.827	<chem>CC(C)Nc1ccc(Nc2ccccc2)cc1</chem>
3	12.74	<chem>CC(O)(C)c1ccccc1</chem>	12	48.808	<chem>CC(C)OCCCCCCCCCCCC</chem>
4	14.48	<chem>CCOC(=O)c1ccccc1</chem>	13	49.216	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCl</chem>
5	16.874	<chem>c1ccc2ccccc2c1</chem>	14	52.925	<chem>CC(C)OCCCCCCCCCCCC</chem>
6	19.639	<chem>Cc1c[nH]c2ccccc12</chem>	15	61.86	<chem>CC(C)OC(=O)c1ccccc1C(=O)OC(C)C</chem>
7	25.268	<chem>O=C(c1ccccc1)c2ccccc2</chem>	16	72.54	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(C)CCCCCCCCCCCC</chem>
8	28.393	<chem>Cc1c(O)c2ccccc2c1</chem>	17	73.654	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>
9	31.532	<chem>c1ccc2nc3ccccc3nc2c1</chem>	18	74.323	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCO</chem>

2.5.2 进出水 UV-可见光谱分析

从 UV-可见光谱图(图 5)也可以看出,RBR 含的共轭发色体系的特征吸收峰在可见光区域 540 nm 处,而苯环和萘环的吸收峰分别在紫外光区域 245 nm、283 nm 和 324 nm 处^[14-15]。出水在 540 nm 处特征吸收峰消失,说明了 RBR 中共轭体系(偶氮结构)被破坏;324 nm 处萘环的吸收峰也在减少,证明厌氧颗粒污泥中的微生物能降解萘环;同时 245 nm 和 283 nm 处的吸收峰也在减少,说明了出水中苯环被厌氧颗粒污泥中的微生物降解。

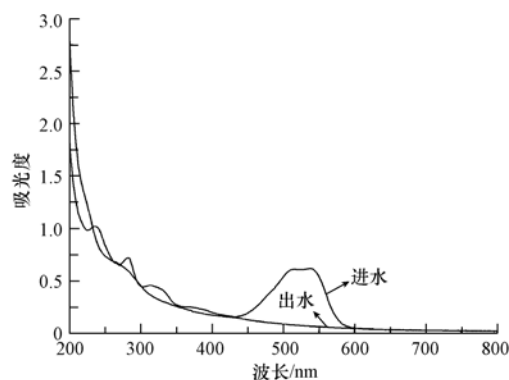
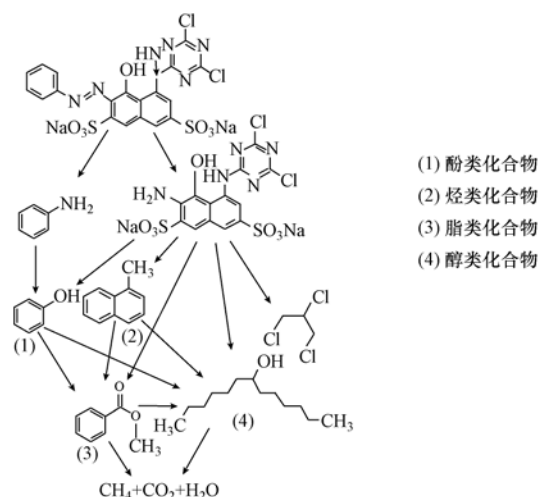


图 5 厌氧反应器进出水的 UV-可见光谱

Fig. 5 UV-VIS absorption spectra of the influent and effluent of the anaerobic reactor

2.5.3 RBR 的降解途径

由上述分析可知,RBR 在厌氧反应器中的降解是厌氧颗粒污泥中的微生物先将 RBR 中偶氮键打断,生成的芳香胺类化合物通过还原、水解和氧化作用生成多种含苯环、含萘环化合物,这些中间产物再通过微生物的作用降解为分子量较小的烃类、酚类、醇类和脂类化合物,甚至转化为 CH_4 、 CO_2 和 H_2O . RBR 的降解途径可表示为:



3 结论

(1) 厌氧颗粒污泥对 RBR 降解性能很好,最大去除率可达 93.67%;颗粒污泥失活试验表明,颗粒污泥对 RBR 的吸附作用很小.

(2) 厌氧颗粒污泥对 RBR 的降解过程符合二级反应动力学,其半衰期约为 3.561 h. RBR 浓度在 50—120 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,对厌氧颗粒污泥没有产生抑制作用.

(3) RBR 在厌氧颗粒污泥中的降解途径为 RBR 中的偶氮键断裂后产生芳香胺类化合物,芳香胺类化合物继续被微生物降解为含萘环、苯环化合物,这些中间产物可进一步转化为小分子的烃类、酚类、醇类和脂类化合物,甚至转化为 CH_4 、 CO_2 和 H_2O .

参 考 文 献

- [1] Maas R, Chaudhar S. Adsorption and biological decolourization of azo dye Reactive Red 2 in semicontinuous anaerobic reactors [J]. Process Biochemistry, 2005, 40(2):699-705
- [2] Lu X, Yang B, Chen J H, et al. Treatment of wastewater containing azo dye Reactive Brilliant Red X-3B using sequential ozonation and upflow biological aerated filter process [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 161(1):241-245
- [3] Peterson D, Shore J (Eds.). Colorants and Auxiliaries; Organic Chemistry and Application Properties [M]. Manchester: BTTG-Shirley, 1990:32-72
- [4] Ganesh R, Boardman G D, Michelsen D. Fate of azo dyes in sludges [J]. Water Research, 1994, 28(6):1367-1376
- [5] Brús R, Ferra I A, Pinheiro H M, et al. Batch tests for assessing decolorization of azo dyes by methanogenic and mixed cultures [J]. Biotechnology. 2001, 89(2):155-162
- [6] Zee F P V Z, Lettinga G, Field J A. Azo dye decolourisation by anaerobic granular sludge [J]. Chemosphere, 2001, 44(5):1169-1176
- [7] Bromley-Challenor K C A, Knapp J S, Zhang Z, et al. Decolorization of an azo dye by unacclimated activated sludge under anaerobic conditions [J]. Water Research, 2004, 34(18):4410-4418
- [8] Sponza D T, Işık M. Decolorization and azo dye degradation by anaerobic/aerobic sequential process [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 31(12):102-110
- [9] Chang J S, Chou C, Lin P J, et al. Kinetic characteristics of bacterial azo-dye decolorization by *Pseudomonas luteola* [J]. Water Research, 2001, 35(12):2841-2850
- [10] Wang H, Zheng X W, Su J Q, et al. Biological decolorization of the reactive dyes Reactive Black 5 by a novel isolated bacterial strain *Enterobacter* sp. EC3 [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 171:654-659
- [11] Memullan G, Meehan C, Conneely A, et al. Microbial decolourisation and degradation of textile dyes [J]. Applied Microbiology and

- Biotechnology, 2001, 56: 81-87
- [12] Rau J, Knackmuss H J, Stolz A. Effects of different quinoid redox mediators on the anaerobic reduction of azo dyes by bacteria [J]. Environmental Science & Technology, 2002, 36(7): 1497-1504
- [13] Keck A, Rau J, Reemtsma T, et al. Identification of quinoide redox mediators that are formed during the degradation of naphthalene-2-sulfonate by *Sphingomonas xenophaga* BN6 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(9): 4341-4349
- [14] 吴峰, 华河林, 邓南圣. 三种偶氮染料降解历程在紫外-可见光谱上的表现[J]. 环境化学, 2000, 19(4): 348-351
- [15] Wu F, Deng N S, Hua H L. Degradation mechanism of azo dye C. I. reactive red 2 by iron powder reduction and photooxidation in aqueous solutions [J]. Chemosphere, 2000, 41(8): 1233-1238

Anaerobic biodegradation and mechanism of Reactive Brilliant Red X-3B

HUANG Chunmei HUANG Ruimin* XU Jiazhong LIU Zhen

(College of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, 510006, China)

ABSTRACT

The degradation of Reactive Brilliant Red X-3B (RBR) in anaerobic granular sludge was studied with three different RBR concentrations. And the degradation process was fitted by biodegradation kinetics equation. GC-MS was used to monitor the degradation process of RBR. Experimental results show that RBR was easy to degrade in anaerobic granular sludge with the removal rate up to 93.67%. The biodegradation process accords with the second-order reaction kinetics, and its half-life is about 3.561 h. GC-MS and UV-visible spectrum analysis results show that azo bond of RBR was broken under the action of anaerobic granular sludge, to generate aromatic amines which were further degraded to smaller molecular compounds such as hydrocarbons, polyenols, alcohols and lipids.

Keywords: degradation kinetics, anaerobic granular sludge, Reactive Brilliant Red X-3B, degradation mechanism.