

文章编号: 1006-9941 (2013)03-0367-05

# 白腐真菌-泥炭净化处理 DDNP 废水

王惠娥<sup>1,2</sup>, 孙继林<sup>3</sup>, 颜事龙<sup>1</sup>, 张学才<sup>1</sup>

(1. 安徽理工大学化工学院, 安徽 淮南 232001; 2. 南京理工大学化工学院, 江苏 南京 210094; 3. 北京京煤化工有限公司, 北京 102471)

**摘要:** 二硝基重氮酚 (DDNP) 是苯酚的硝基衍生物, 是一种优良的起爆药, 其生产废水中主要含有重氮基、硝基等难降解的化合物, 有强酸或强碱性, 且毒性高。DDNP 生产产生的废水水质分析显示数量最大的是硝基类化合物。依据工厂实际, 提出了用白腐真菌-泥炭处理 DDNP 废水的生化 and 物理方法。采用培养、驯化的白腐真菌时, 废水处理条件为: 泥炭添加量 5% ~ 9%; 温度 (37 ± 2) °C; pH 值 4.5 ± 0.5; 硫酸锰加入量 1 mg · L<sup>-1</sup>; 时间约 7 d。出水结果显示: 色度几乎为零, pH ≈ 6.0, COD<sub>Cr</sub> ≈ 120 mg · L<sup>-1</sup>, 符合国家二级排放标准。

**关键词:** 应用化学; 微生物; 有机污染物; 白腐真菌; 降解; 泥炭; 排放标准

**中图分类号:** TJ55; O69; TQ563.9; X789 **文献标识码:** A

**DOI:** 10.3969/j.issn.1006-9941.2013.03.019

## 1 引言

二硝基重氮酚 (Diazodinitrophenol, DDNP), 是一种优良的起爆药。但是, 工厂每生产 1 kg 的二硝基重氮酚大约产生 200 ~ 300 kg 的废水。DDNP 是苯酚的硝基衍生物, 其废水中主要含有重氮基、硝基等难降解的化合物, 有强酸或强碱性, 且毒性高, 若不加处理直接排放, 将会严重污染水环境, 危害人们的身体健康以及动植物生存。目前, 国内外处理 DDNP 污水的主要方法有: 蒸发法、减压蒸馏法、回收法、吸附法、电解还原法、混凝沉淀-吸附法、半透膜分子过滤反渗透法等。许多科研和企业对各种工业废水的处理也都做了很多研究, 但是这些方法因其治理费用高, 工厂难以承受, 或因其工艺复杂, 效果不佳, 难以达到排放标准不宜采用<sup>[1-2]</sup>。

白腐真菌 (Basidiomycetes) 能够分泌一种细胞外氧化酶降解木质素和其它木质组分, 这些酶可以促使木质腐烂出现袋状、片状或者环状痕等形状的白色海绵状团块-白腐, 故称为白腐真菌<sup>[3]</sup>。

泥炭其主要成分是木质素、纤维素及一定质量的腐殖质。显微镜观察表明泥炭具有 95% 左右的孔隙率和 200 m<sup>2</sup> · g<sup>-1</sup> 的比表面积, 是一种价格便宜、应用

方便、除污力强的天然吸附剂<sup>[4]</sup>。

利用微生物处理有机污染物具有简单、高效、经济、无二次污染等特点。白腐真菌能够利用金属过氧化物酶降解许多微生物难以降解的有机污染物, 最终能将复杂的污染物硝化为二氧化碳<sup>[5]</sup>。白腐真菌称对一些硝基、亚硝基、偶氮基都有降解作用<sup>[6-10]</sup>。本研究利用白腐真菌结合泥炭处理微电解后的 DDNP 工业废水, 使其能够符合 GB8978-1996 我国污水综合排放标准国家二级排放标准。

## 2 实验准备

### 2.1 菌种的选择及驯化

菌种购于某生物研究所。将购得白腐真菌在温室里接种到固体培养基上培养、分离纯化<sup>[11-12]</sup>。分离纯化后的菌种一部分逐步驯化, 另一部分直接扩大化培养。具体做法: 实验温度控制在 (35 ± 3) °C (白腐真菌最适于生长的温度为 30 ~ 40 °C), 逐步添加 DDNP 废水, 浓度不断增大, 观察它们在添加了废水的培养基中的生长情况, 2 ~ 3 d 后, 菌种适应了 this 浓度的废水培养基, 再接种至下一 DDNP 废水浓度的固体培养基中, 含量由 4% (在液体培养基中废水所占的体积分数)、5%、6% …… 的顺序逐步驯化, 直至接近 DDNP 微电解后废水浓度, 使菌种逐渐适应环境, 用乳酸调节 pH = 4.5, 直到得到能很好地适应废水环境的菌种。把白腐真菌在液体培养基中发酵培养 4 d 后, 将含

收稿日期: 2012-01-10; 修回日期: 2012-09-04

作者简介: 王惠娥 (1970 -), 女, 博士生, 讲师, 主要从事起爆器材与烟火技术教学与研究。e-mail: huie1998@163.com

通讯联系人: 张学才 (1950 -), 男, 教授, 主要从事生物工程方面的研究。

有白腐真菌的液体培养基与不同量并已灭菌的干泥炭粉倾倒在反应器中,混合均匀,调节 pH 值培养 4 d 后备用。经过一系列培养后的白腐真菌能使浓度  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  硝基苯完全降解的转化时间为 7 d,色度几乎为零。

## 2.2 DDNP 废水的准备

DDNP 废水取某自化工厂 DDNP 生产车间,来源主要有:一部分是硫化钠还原苦味酸时产生的还原废水,  $\text{pH} = 12.0 \sim 13.5$ ,通常称为碱性废水;另一部分是氨基苦味酸钠重氮化时产生的废水,  $\text{pH} = 1.5 \sim 1.7$ ,通常又称为酸性废水;还有一部分废水是在生产过程中冲洗设备及生产工具,冲洗地面等的废水。

## 2.3 DDNP 废水水质分析

为了符合工厂处理废水的实际情况(DDNP 生产中各个环节产生的废水一同处理),实验时按生产中所产生废水的情况,取几部分废水按一定比例混合。各废水样本成分分析见表 1。

# 3 DDNP 废水处理及分析

## 3.1 DDNP 废水处理

DDNP 废水主要成份是生物难降解的化合物,在生化处理前首先要将废水预处理<sup>[13-14]</sup>,进行微电解,提高下一步生物降解的效率。实验时取适量 DDNP 酸性、碱性废水混合,调节 pH 在 3.0 左右,通过酸度剂控制,放入微电解池中,加入废铁屑和焦炭,并利用泵泵入空气,恒温,反应一段时间后,进入中和池用石灰乳调节 pH 为 9.0 ~ 10.0,再进入混凝池沉降分离。

微电解预处理 DDNP 废水的条件为:反应温度  $25 \sim 30 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $V(\text{Fe}) : V(\text{C}) = 1.1 \sim 1.5 : 1$ ,停留时约 48 h,曝气量  $40 \text{ L/h}$ ,中和池  $\text{pH} = 9.0 \sim 10.0$ 。

由于低电位的 Fe 与高电位的 C 在废水中产生电位差,发生电极反应把 DDNP 废水中的硝基、亚硝基、偶氮基团等还原成苯胺类化合物,重氮键的破裂,从而实现了大分子有机污染物的断链、发色与助色基团的脱色,同时也去除了 COD<sub>cr</sub>,改变了废水中污染物的性质。从表 1 和表 2 数据的变化可以看出预处理的功效。

微电解出的废水在生化处理前先用乳酸调节到合适的 pH 值,再送到生化池进行处理。工艺流程如图 1 所示。

生化处理时投加废水的时机是在菌种培养后 4 d 左右。原因是:其一,菌种接种培养生长要经历适应期、对数期、静止期和衰亡期<sup>[11]</sup>,菌种处于静止期和衰亡期时培养液中的营养成分基本上被菌种代谢而消耗完全,菌种处在饥饿状态正好需要补充养分,此时投加的废水恰好为菌种提供营养成分;其二,这个阶段的菌体内积累了大量的贮存物,如粘液层和荚膜等,强化了微生物的生物吸附能力和生物絮凝能力;其三,白腐真菌是以泥炭为培养载体加入生化池中,易于形成白腐真菌为主体的活性污泥团;其四,泥炭中丰富的腐殖酸具有较强的吸附能力,在这几方面的综合作用下,DDNP 废水可以得到较好的净化效果。表 2 为 DDNP 废水微电解、生化处理以及国家二类污染物的二级排放标准, COD<sub>cr</sub> 采用重铬酸钾法测量<sup>[15]</sup>。

表 1 DDNP 废水水质和水量

Table 1 The quality and amount of DDNP wastewater

source of wastewater	wastewater appearance	pH	composition / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	wastewater content / $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$
reducing waste water	dark red	12.0 ~ 13.5	nitro compounds 8000 ~ 10000 sodium hydroxide 9200 ~ 14000 sodium thiosulfate 18810 ~ 28000 sodium sulfide 10000 ~ 13890 sodium carbonate 4350 ~ 5250	60
heavy nitrogen wastewater	Dark yellow	1.5 ~ 1.7	nitro compounds 2500 ~ 3500 hydrochloric acid 3500 ~ 4500 sodium chloride 11400 ~ 11700 a small amount of sodium nitrite	70
washing wastewater	orange red	5.6 ~ 6.0	nitro compounds dissolved 1000	20
washing workshop and equipment of waste water	light orange red	7.0	-	85 ~ 185
reduction, heavy nitrogen mixed washing wastewater	dark red	About 10.0	-	100
total water	dark red	>7	-	200 ~ 300

表 2 微电解、生化水质及排放标准

Table 2 The quality of microelectrolysis, biochemical water and discharge standard

samples	COD <sub>cr</sub> /mg · L <sup>-1</sup>	chroma	nitro compounds/mg · L <sup>-1</sup>	aniline/mg · L <sup>-1</sup>	pH
microelectrolysis water	467	≈0	3.4	3.25	6~8
biochemical water	131	≈0	<0.2	<0.1	≈6
second national emission standard	120	≈80	3.0	2.0	6~9
third national emission standard	-	-	5.0	5.0	6~9

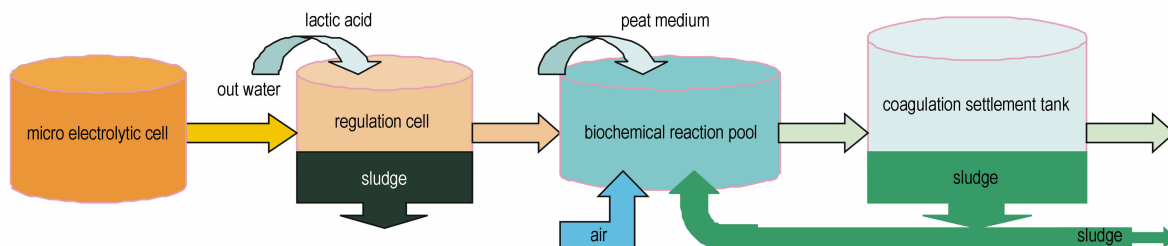


图 1 生化处理 DDNP 废水工艺流程

Fig.1 The processes of biochemical treating waste water

### 3.2 结果与讨论

#### 3.2.1 时间和温度的影响

实验选取四个温度点：20、30、40、50 °C，选择不同时间对 COD<sub>cr</sub> 的值进行监测，结果如图 2 所示。从图 2 中四条线的趋势看出，温度对菌种处理废水有着很大影响，温度太高、太低都不利于白腐真菌对废水的降解，微生物的繁殖要经历一定的时间，同样温度对白腐真菌的繁殖和产酶量也有很大影响，因为温度低时白腐真菌分泌降解酶的能力降低，酶的活力最佳温度也很难达到。但是温度过高又使降解酶失去活性，不利于白腐真菌的生长。从图 2 中看出 40 °C 时去除率最明显，20、50 °C 时 COD<sub>cr</sub> 去除率较差，反复试验后得出接近于人体温度是最佳点即 37 °C 左右。

#### 3.2.2 pH 值的影响

实验时调节 pH 值为 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、6.0 六种条件进行对比，结果如图 3 所示。从图 3 可知，酸碱度对真菌处理能力的影响至关重要，微电解后废水对 pH 值很敏感。pH 为 6.0 和 3.0 去除效果都不是很好，综合看 pH 为 4.5 时的处理效果最好，即白腐真菌所需的酸性环境只是偏酸性而不是太低。实际废水处理时 pH 值只需控制在 4.5 ± 0.5 有利于提高处理效果。

#### 3.2.3 菌种培养条件的影响

采用摇床培养和静止培养两种方式实验，摇床振荡 120 r · min<sup>-1</sup>。产酶最大的培养时间为 6 d。对比实验结果如图 4 所示。从图 4 可知，摇床处理白腐真菌的降解效果明显优于静止培养的降解效果。原因是白腐真菌是一种喜氧菌，摇床振荡时真菌与空气中的氧充分接

触有利于白腐真菌的繁殖，使菌种充满了整个培养瓶，真菌的代谢能力好，分泌的降解酶量也大，从而加速了降解反应。其次，摇床的振荡加速了废水与菌种的混合，使菌群与废水充分混合，也从而提高了处理效果。

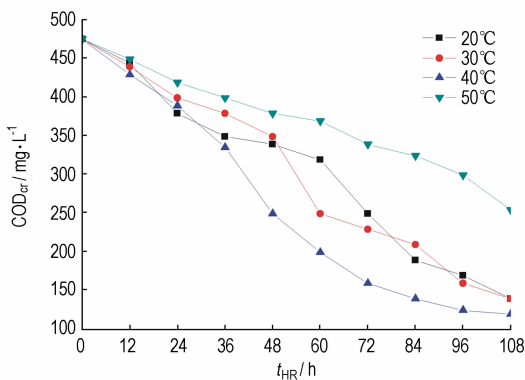


图 2 温度对 COD<sub>cr</sub> 的影响

Fig.2 Effects of temperature on the COD<sub>cr</sub>

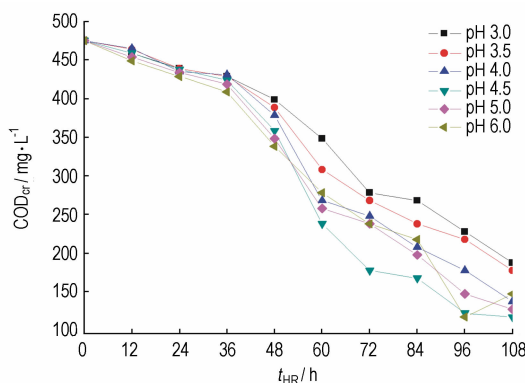


图 3 pH 值对 COD<sub>cr</sub> 的影响

Fig.3 Effects of pH value on the COD<sub>cr</sub>

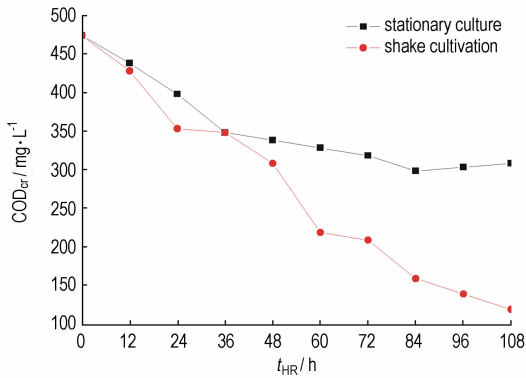


图4 菌种处理方式对 COD<sub>cr</sub> 影响

Fig. 4 Effects of treatment way of white rot fungus on the COD<sub>cr</sub>

### 3.2.4 驯化与未驯化菌种的影响

取未经驯化培养的菌种与经过驯化培养的菌种进行对比实验,结果见图5。由图5可知,未驯化菌种也能降低废水的 COD<sub>cr</sub>,只是未驯化菌种在处理废水时需要更长的适应期,以致影响最终的降解效果。从图5中看出,经过驯化培养的菌种处理效果明显好于未经驯化处理的菌种。

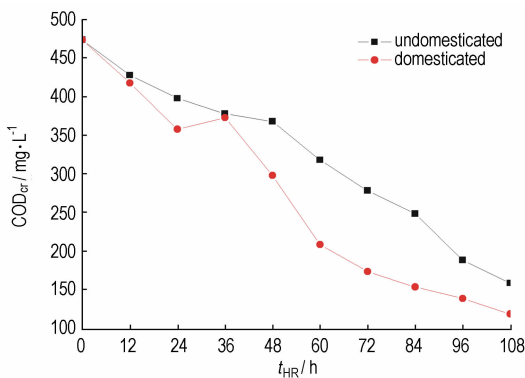


图5 驯化与未驯化菌种对 COD<sub>cr</sub> 的影响

Fig. 5 Effects of domesticated and undomesticated species on the COD<sub>cr</sub>

### 3.2.5 添加泥炭的影响

用 1<sup>#</sup>、2<sup>#</sup>两种培养基做两组对比实验,2<sup>#</sup>培养基加入如了 MnSO<sub>4</sub>。实验时 1<sup>#</sup>、2<sup>#</sup>号培养基中泥炭加入量都为 0%、3%、5%、7%、9%、10%。两种培养基主要区别在于加入了不同的添加剂,极少量的添加剂会大大改善污水处理的效果,且不会影响最后排水的水质,这种区别也是生化法处理 DDNP 废水的关键所在。最终处理的废水水质见表 3。

表3 生化出水水质

Table 3 The quality of biochemical water

peat /%	culture medium	COD <sub>cr</sub> /mg·L <sup>-1</sup>	nitro compounds /mg·L <sup>-1</sup>	aniline /mg·L <sup>-1</sup>	pH
0	1 <sup>#</sup>	440.12	2.096	5.211	5.05
3	1 <sup>#</sup>	260.37	1.814	3.972	5.81
5	1 <sup>#</sup>	128.72	1.550	3.111	6.56
7	1 <sup>#</sup>	108.14	1.847	4.815	5.93
9	1 <sup>#</sup>	110.23	2.093	4.801	4.70
10	1 <sup>#</sup>	296.43	2.436	4.197	4.91
3	2 <sup>#</sup>	247.86	1.243	2.617	5.96
5	2 <sup>#</sup>	119.72	0.974	1.428	6.90
7	2 <sup>#</sup>	87.31	1.024	1.851	6.21
9	2 <sup>#</sup>	91.12	1.141	2.312	4.92
10	2 <sup>#</sup>	210.89	1.261	3.912	4.75

从表3看出添加泥炭后处理效果明显。其原因首先是,泥炭有一定的吸附性;其次,泥炭中的有机物有利于菌群的生长,同时对真菌孢子有吸附作用,当降解酶形成时能够均匀分布,从而提高生化降解效果。

除以上原因外,Mn(II)的含量对白腐真菌降解 DDNP 废水有很大影响,但并不是 Mn(II)含量越大越好,过多的 Mn(II)对降解能力反而不好,会增大生化出水中 Mn(II)的浓度。而不加 MnSO<sub>4</sub>时,出水的 COD<sub>cr</sub>明显大于加 MnSO<sub>4</sub>时的 COD<sub>cr</sub>,其原因是白腐真菌降解酶锰过氧化物(MnP)只有在 Mn(II)存在下才起作用。实验中 MnSO<sub>4</sub>的投加量为 1 mg·L<sup>-1</sup>。

## 4 结论

(1)实验时白腐真菌最佳培养条件:温度 37 °C, pH 值为 4.5 左右,摇床培养振荡 120 r·min<sup>-1</sup>,产酶活性最大值的培养时间为 6 d,选择经驯化的白腐真菌,泥炭的添加量控制在 5%~9%之间为宜。白腐真菌能使浓度 10 mg·L<sup>-1</sup>硝基苯完全降解的转化时间为 7 d,色度几乎为零。

(2)结合实验综合生产厂家的情况,工厂生化处理 DDNP 废水条件设为:温度控制在(37±2) °C,pH 值为 4.5±0.5 左右,液体培养基中加入硫酸锰的量为 1 mg·L<sup>-1</sup>,泥炭加入量为 5%~9%,经 7 d 硝解废水后处理结果为:pH≈6.0,COD<sub>cr</sub>处在 120 mg·L<sup>-1</sup>左右,达到国家二级污水综合排放标准。硝基类、苯胺类物质达到国家一级污水综合排放标准。

### 参考文献:

- [1] 劳允亮, 编著. 起爆药化学与工艺学[M]. 北京: 北京理工大学出版社, 1997: 285-325.

- LAO Yun-liang. Explosive chemistry and technology [M]. Beijing: Beijing Institute of Technology press, 1997: 285–325.
- [2] Wingate K G, Stuthridge T, Mansfield S D. Colour remediation of pulp mill effluent using purified fungal cellobiose dehydrogenase: Reaction optimisation and mechanism of degradation [J]. *Bio-technology and Bioengineering*, 2005, 90(1): 95–106.
- [3] 李慧荣, 编著. 白腐真菌生物学和生物技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 28–86.
- LI Hui-rong. White rot fungus biology and biotechnology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 28–86.
- [4] 赵丽红, 金若非, 孙洪军, 等. 白腐真菌-活性污泥联合处理棉浆黑液的研究 [J]. 生态环境学报, 2009, 18(2): 422–425.
- ZHAO Li-hong, JIN Ruo-fei, SUN Hong-jun, et al. Treatment of cotton pulp black liquor by White rot fungi activated sludge [J]. *Ecological and Environmental Sciences*, 2009, 18(2): 422–425.
- [5] 陈诚, 何岩, 高尚, 等. 植物废料应用于白腐真菌处理难降解有机污染物 [J]. 环境科学与技术, 2009, 32(12): 92–96.
- CHEN Cheng, HE Yan, GAO Shang, et al. Application of plant waste to Immobilized white rot fungal Biodegradation of refractory organic pollutants [J]. *Environmental Science & technology*, 2009, 32(12): 92–96.
- [6] 王灿, 胡洪营, 于茵, 等. 培养基种类和培养条件对白腐真菌和产酶特性的影响 [J]. 环境科学研究, 2007, 20(2): 9–13.
- WANG Can, HU Hong-ying, YU Yin, et al. Influence of culturing mediums and conditions on characterization of growth and enzyme production of white rot fungi [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2007, 20(2): 9–13.
- [7] 宁大亮, 王慧, 李冬. 白腐真菌细胞色素 P450 的诱导及检测方法研究 [J]. 环境科学, 2009, 30(8): 2485–2490.
- NING Da-liang, WANG Hui, LI Dong. Induction and measurement of cytochrome P450 in white rot fungi [J]. *Environmental Science*, 2009, 30(8): 2485–2490.
- [8] 何荣玉, 刘晓凤, 闫志英, 等. 白腐真菌组合培养提高漆酶酶活的作用机制研究 [J]. 环境科学, 2010, 31(2): 465–471.
- HE Rong-yu, LIU Xiao-feng, YAN Zhi-ying et al. Enhancement of laccase activity by combining white rot fungal strains [J]. *Environmental Science*, 2010, 31(2): 465–471.
- [9] 高尚, 陈诚, 陶芳, 等. 白腐真菌产木质素降解酶及固定化载体研究 [J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 2009(2): 72–77.
- GAO Shang, CHEN Cheng, TAO Fang, et al. Lignolytic enzymes production in white rot fungi and the usage of immobilized carriers [J]. *Journal of East China Normal University(Natural Science)*, 2009(2): 72–77.
- [10] Chi Y J, Hatakka A, Maijala P. Can co-culturing of two white-rot fungi increase lignin degradation and the production of lignin-degrading enzymes? [J]. *Int Biodeter Biodegra*, 2007, 59: 32–39.
- [11] 王家玲. 环境微生物学实验 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 30–60.
- WANG Jia-ling. Experiment of Environmental Microbiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2001: 30–60.
- [12] Nilsson I, Moller A, Mattiasson B, et al. Decolorization of synthetic and real textile wastewater by the use of white-rot fungi [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, 38: 94–100.
- [13] ZHAO X H, Harding I R, Hwang H M. Biodegradation of a model azo disperse dye by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* [J]. *Inter-national Biodeterioration and Biodegradation*, 2006, 57(1): 1–6.
- [14] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法 [M]. 第4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 211–212.
- State Environmental Protection Administration "analysis method for monitoring Water and wastewater" editorial board. Water and wastewater monitoring analysis method [M]. Fourth edition. Beijing: China Environmental Science press, 2002: 211–212.
- [15] Rabinovich M L, Bolobova A V, Vasil'chenko L G. Fungal decomposition of natural aromatic structures and xenobiotics: A review [J]. *Applied Biochemical and Microbiology*, 2004, 40(1): 1–17.

## Waste-water Treatment of Diazodinitrophenol by White Rot Fungus-peat

WANG Hui-e<sup>1,2</sup>, SUN Ji-lin<sup>3</sup>, YAN Shi-long<sup>1</sup>, ZHANG Xue-cai<sup>1</sup>

(1. School of Chemical Engineering, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001, China; 2. School of Chemical Engineering, Nanjing University of Science & Technology, Nanjing 210094, China; 3. Beijing Jingmei Chemical Co. Ltd, Beijing 102471, China)

**Abstract:** Diazodinitrophenol (DDNP) is the nitro derivate of phenol and a good primary explosive. DDNP waste water contains diazo, nitro and other refractory compounds, with strong acid or strong alkali, and high toxicity. The quality analysis of wastewater produced by DDNP shows that it has a high content of nitro compounds. According to the factory practice, a biochemical and physical method together to deal with treatment of DDNP wastewater with white-rot fungus-peat is presented. When incubated, and acclimated white rot funguses are used, DDNP wastewater treatment conditions are: added amount of peat, 5% and 9%, temperature (37 ± 2) °C; pH = 4.5 ± 0.5; added amount of manganese sulfate, 1 mg · L<sup>-1</sup>; time about 7 days. Effluent results reveal that: chroma is almost zero, pH ≈ 6.0 and COD<sub>cr</sub> ≈ 120 mg · L<sup>-1</sup>, according with the country second emissions standards.

**Key words:** applied chemistry; microbiology; organic pollutants; white rot fungus; degradation; peat; emission standards

**CLC number:** TJ55; O69; TQ563.9; X789

**Document code:** A

**DOI:** 10.3969/j.issn.1006-9941.2013.03.019