

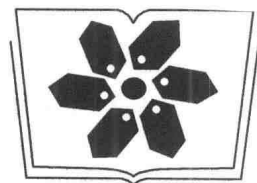
ENHANCED BIOREDUCTION OF
POLLUTANTS BY NEW MEDIATORS

新型介体 强化污染物生物还原

王竞 吕红 著



科学出版社



中国科学院科学出版基金资助出版

新型介体强化污染物生物还原

王 竞 吕 红 著



科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书针对常规外源介体在水处理体系应用中的诸多弊端,多角度地提出了几种技术对策以提高污染物生物转化性能,此为本书主线。全书共分七章:首先介绍了氧化还原介体的概念及其研究现状和发展趋势;然后分章介绍了高效醌还原菌群特性;共固定化介体与菌体强化污染物生物还原;醌改性生物载体强化污染物生物还原;好氧降解性介体强化污染物生物还原;底物自催化强化污染物生物还原;微生物自介导强化污染物生物还原等。本书内容涉及多学科交叉,是目前国内第一本关于氧化还原介体强化污染物生物转化的学术专著,具有前沿性、新颖性、系统性和实用性等特点。

本书可作为环境科学与工程、生物技术、材料科学等专业的科研人员、工程技术人员参考用书,亦可供高等院校相关专业师生参阅。

图书在版编目 CIP 数据

新型介体强化污染物生物还原/王竞,吕红著. —北京:科学出版社,2013
ISBN 978-7-03-037522-3

I. ①新… II. ①王… ②吕… III. ①废水处理-生物处理 IV. ①X703

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 106217 号

责任编辑:朱 丽 杨新政 / 责任校对:张小霞

责任印制:钱玉芬 / 封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013 年 5 月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2013 年 5 月第一次印刷 印张:9 1/2 插页:2

字数:200 000

定价:60.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

大量的有毒难降解有机物可经过多种途径进入自然环境,呈现长期残留性和高毒性等特点。厌氧-好氧组合工艺是处理含有毒难降解有机物废水的最有效方法之一。由于污染物毒性和电子传递限制使厌氧微生物代谢速率变慢,厌氧生物处理通常是难降解有机物完全生物降解的瓶颈。近年来,发现一些醌类化合物可作为氧化还原介体,促进污染物的厌氧生物转化甚至矿化。但是这些外源介体在水处理体系中的弊端是醌类化合物价格昂贵、难以生物降解、具有一定毒性,并会随出水流失(需要不断投加),从而造成二次污染。因此,亟待研究开发高效且环境友好型的氧化还原介体,并用于污染物的催化强化处理。

作者长期从事介体强化难降解有机物生物处理理论与应用相关方面的研究,并在该研究方向上承担了多项国家自然科学基金项目(醌呼吸协同反硝化降解水中毒性有机物及其机理;改性活性炭催化强化厌氧 BAC-FBR 处理难降解有机废水及其机理研究;电化学活性菌强化水中难降解有机物还原转化及机理研究;醌还原菌对固态水溶性醌介体强化难降解有机物厌氧生物转化的响应机制),城市水资源与水环境国家重点实验室开放研究基金(电化学活性菌/醌改性 PUF 强化水中难降解污染物还原转化研究)。书中所涉及内容是在这些项目资助下完成的。此外,本书出版还得到中国科学院科学出版基金和大连市政府学术专著出版基金的共同资助。在此一并表示衷心感谢!

本书是国内第一本关于介体强化污染物生物处理的专著,是我们多年研究成果的系统化总结。全书内容主要包括氧化还原介体的概念及其研究现状和发展趋势;高效醌还原菌群特性;共固定化介体与菌体强化污染物生物还原;醌改性生物载体强化污染物生物还原;好氧降解性介体强化污染物生物还原;底物自催化强化污染物生物还原;微生物自介导强化污染物生物还原等。本书的编写,力求内容新颖、表述通俗易懂,并反映该研究方向的最新进展。

本书所有研究工作均为课题组全体师生辛勤劳动的结果。特别是周集体教授、吕红副教授、柳广飞讲师、李丽华博士、邢林林硕士、方连峰硕士、雷天鸣硕士、张隆硕士、司伟磊硕士、袁守志硕士、周艳硕士、程江红硕士、汪迪硕士、

李培良硕士等。另外,大连理工大学杨凤林教授和哈尔滨工业大学冯玉杰教授对本书给予了悉心指导;大连理工大学环境学院以及工业生态与环境工程教育部重点实验室的所有师生对本书的编写给予了大力支持和帮助,在此表示感谢!

作者希望本书能够起到抛砖引玉的作用,但是由于作者水平有限,书中错误和疏漏之处在所难免,恳请读者批评指正。

王 竞

2013 年 3 月

目 录

前言

第 1 章 绪论	1
1.1 氧化还原介体概述	1
1.1.1 概念及特点	1
1.1.2 种类	2
1.2 介体强化污染物生物转化的研究背景	4
1.2.1 介体强化生物还原反应的类型	4
1.2.2 反应过程的影响因素	6
1.2.3 作用机理	8
1.3 介体强化污染物生物转化的发展趋势	9
第 2 章 高效醌还原菌群特性	12
2.1 高效醌还原菌的富集	12
2.2 高效醌还原菌群的培养特征	13
2.3 高效醌还原菌群的分子生态特性	15
2.3.1 高效醌还原菌群 RIS 指纹分析	15
2.3.2 高效醌还原菌群的 PCR-DGGE 分析	17
2.4 菌群对醌类化合物的还原特性	18
2.4.1 电子供体对菌群醌还原活性的影响	18
2.4.2 pH 对菌群醌还原活性的影响	19
2.4.3 温度对菌群醌还原活性的影响	19
2.4.4 接种量对菌群醌还原活性的影响	20
2.4.5 菌群还原醌类化合物的广谱性	21
第 3 章 共固定化介体与菌体强化污染物生物还原	23
3.1 非水溶性介体的筛选	23
3.2 共包埋介体与菌体强化偶氮染料脱色	26
3.2.1 共固定化蒽醌与醌还原菌群对偶氮染料生物脱色的促进效应	30
3.2.2 共固定化菌球量对偶氮染料生物脱色的影响	31
3.2.3 共底物对共固定化菌球脱色偶氮染料的影响	32

3.2.4	共固定化菌球对不同偶氮染料的生物脱色	33
3.2.5	共固定化菌球的脱色稳定性	34
3.3	共包埋介体与菌体强化偶氮染料同步脱色与矿化	35
3.3.1	好氧条件下共固定化菌球对酸性橙 7 的脱色性能	36
3.3.2	好氧条件下共固定化菌球对酸性橙 7 的降解性能	36
3.4	膜反应器共固定化介体与菌体强化偶氮染料脱色	38
第 4 章	醌改性生物载体强化污染物生物还原	41
4.1	醌改性活性炭纤维强化污染物生物还原	41
4.1.1	AQDS/PPy/ACF 的制备	41
4.1.2	AQDS/PPy/ACF 的表征	42
4.1.3	AQDS/PPy/ACF 催化强化难降解有机物生物还原	45
4.2	醌改性聚氨酯泡沫强化污染物生物还原	51
4.2.1	醌改性聚氨酯泡沫的制备	51
4.2.2	醌改性聚氨酯泡沫的表征	51
4.2.3	醌改性聚氨酯泡沫催化强化偶氮染料厌氧生物脱色	53
4.3	醌改性陶粒强化污染物生物还原	59
4.3.1	醌改性陶粒的制备	59
4.3.2	醌改性陶粒的表征	59
4.3.3	醌改性陶粒催化强化难降解有机物生物还原	61
4.3.4	醌改性陶粒对醌还原菌群结构与功能的影响	66
第 5 章	好氧降解性介体强化污染物生物还原	69
5.1	溴氨酸强化偶氮染料生物脱色	69
5.1.1	溴氨酸强化偶氮染料生物脱色的影响因素	69
5.1.2	溴氨酸与常见介体对强化偶氮染料生物脱色的比较	72
5.2	溴氨酸的好氧生物降解	74
5.2.1	生物强化 MBR 好氧脱色溴氨酸	74
5.2.2	生物强化 MBR 好氧矿化溴氨酸	77
第 6 章	底物自催化强化污染物生物还原	82
6.1	自催化性底物的结构特点	82
6.2	底物自催化强化偶氮染料生物还原脱色	83
6.3	底物自催化强化污染物生物还原的机理分析	88
6.4	基于吸附-再生机理的自催化性底物生物降解	92
6.5	基于膜曝气生物反应器的自催化性底物生物降解	95

6.5.1	MABR 中偶氮染料 AO7 的降解特性	96
6.5.2	MABR 与常规厌氧/好氧工艺降解偶氮染料 AO7 的比较	99
第 7 章	微生物自介导强化污染物生物还原	100
7.1	电化学活性菌的筛选及生理生化特性	100
7.2	电化学活性菌自介导降解毒性污染物	103
7.2.1	<i>Shewanella</i> sp. XB 对偶氮染料的生物脱色	103
7.2.2	<i>Shewanella</i> sp. XB 对硝基苯的生物转化	115
7.3	电化学活性菌/醌改性载体协同强化污染物生物还原	123
7.4	电化学活性菌/醌改性载体强化活性污泥处理毒性有机 废水	132
参考文献		139
彩图		

第 1 章 绪 论

随着工农业的发展,产生了大量的有毒难降解有机物,如卤代及含氮芳香化合物等。这些化合物被广泛应用于人们的生产和生活中,并经过多种途径进入自然环境,呈现出长期残留性和高毒性等特点。含有毒难降解有机物废水的处理有物理、化学、生物及其组合工艺,其中生物法通常是首选处理技术,而厌氧-好氧工艺(A/O)是处理这类废水的最有效方法之一^[1-11]。难降解有机污染物通过厌氧生物处理往往可提高其后续好氧生化性,有些结构简单的芳香化合物可直接厌氧生物矿化。但污染物毒性和电子传递限制使厌氧微生物代谢速率变慢,而且厌氧微生物比好氧微生物对毒性难降解有机物更敏感。因此,厌氧生物处理通常是难降解有机物完全生物降解的瓶颈。

许多研究发现:一些醌类化合物[如蒽醌-2,6-二磺酸(AQDS)]作为氧化还原介体,可加速电子从电子供体向电子受体的传递,从而促进污染物的厌氧生物转化甚至矿化。AQDS 首先被生物还原为氢醌,后者作为电子供体可无选择性地还原许多毒性有机污染物(在胞外进行的化学反应),并完成 AQDS 的再生^[12-30]。这种生物-化学组合机理在难降解有机废水处理中具有独特的优势。但是这些外源介体在水处理体系中的弊端是醌类化合物价格昂贵、难以生物降解、具有一定毒性,应会随出水流失(需要不断投加),从而造成二次污染^[31-37]。

因此,亟待研究开发高效而环境友好型的氧化还原介体,应用于污染物的催化强化处理。

1.1 氧化还原介体概述

1.1.1 概念及特点

氧化还原介体(redox mediators),亦称电子穿梭体(electron shuttles),是指能够被可逆地氧化和还原,并能加速电子在电子供体与受体间传递的化合物。其特点如下:

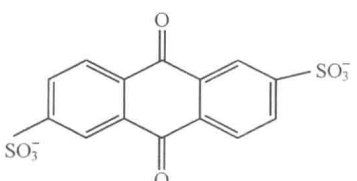
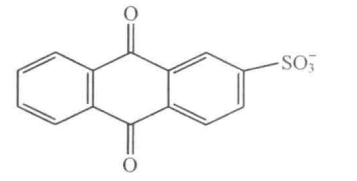
- (1) 具有电子载体的功能；
- (2) 通过降低活化能而加速反应，即具有催化剂特性；
- (3) 用于催化生物还原反应的介体氧化还原电位介于电子供体氧化与末端电子受体还原这两个半反应之间；
- (4) 可改变生物的能量代谢，从而影响其生长和代谢特性。

1.1.2 种类

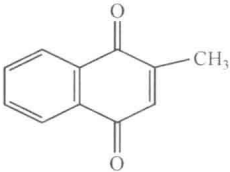
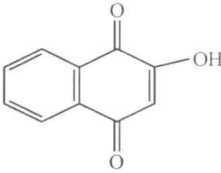
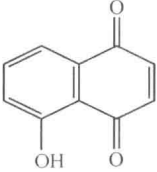
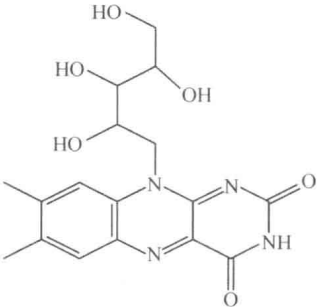
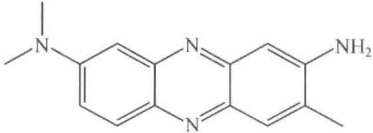
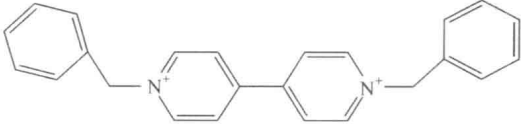
用于催化生物反应的氧化还原介体可分为胞外介体和胞内介体（如黄素腺嘌呤二核苷酸，FAD）；也可分为用于催化还原反应的介体和用于催化氧化反应的介体（如漆酶介体）。其中，用于还原反应的氧化还原介体的基本结构如表 1.1 所示，主要包括蒽醌类、萘醌类、吩嗪类、紫罗碱类及钴胺素类。它们的衍生物已广泛用于介体催化生物还原反应。例如，蒽醌-2,6-二磺酸、蒽醌-2-磺酸(AQS)、甲萘醌(menadione)、指甲花醌(lawsone)、核黄素(riboflavin)、中性红(neutral red)等。

另外，腐殖质可作为天然介体，其活性组分是醌类结构^[38,39]。

表 1.1 催化生物还原反应介体的基本结构

基本结构类型	常见介体及其基本结构
蒽醌类	AQDS 
	AQS 

续表

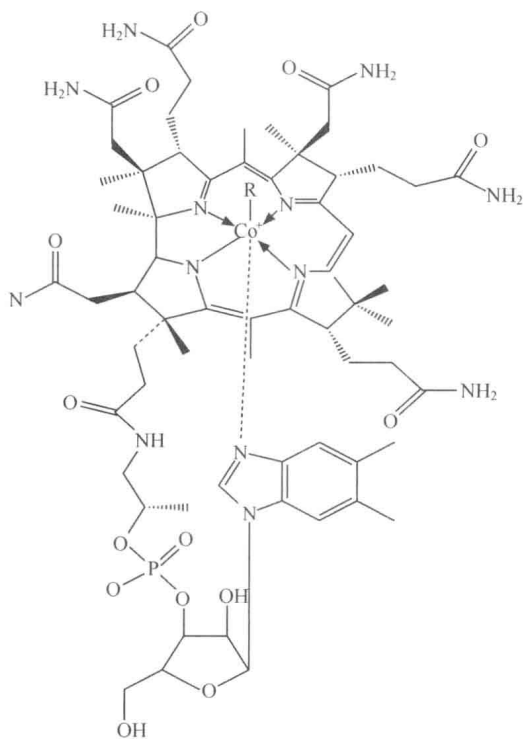
基本结构类型	常见介体及其基本结构
萘醌类	甲萘醌 
	指甲花醌 
	胡桃醌 
吩噻类	核黄素 
	中性红 
紫罗碱类	甲基紫 
	苯甲紫 

续表

基本结构类型

常见介体及其基本结构

钴胺素类

维生素B₁₂

1.2 介体强化污染物生物转化的研究背景

介体强化技术是指向反应体系中投加外源介体以促进污染物转化。对于污染物化学反应体系,从 20 世纪 80 年代末研究人员开始尝试介体强化研究。而对于介体强化生物转化研究,约始于 20 世纪 90 年代末。

1.2.1 介体强化生物还原反应的类型

根据电子受体的不同,可分为介体强化有机物生物还原和介体强化无机物生物还原两类。

1. 强化氯代有机物生物脱氯

这是最早从事的介体强化研究。Becker 以及 Hashsham 等发现将维生素 B₁₂ 引入至产甲烷富集培养物中,可使氯仿及四氯化碳的脱氯速率提高 10 倍,而且可大幅度提高脱氯程度^[40]。1997 年,Workman 等采用 *Shewanella alga* 首次证实了维生素 B₁₂ 促进生物脱氯是由于维生素 B₁₂ 发挥了氧化还原介体的作用^[41]。

2. 强化偶氮染料生物脱色

1997 年,Keck 等发现了 *Sphingomonas xenophaga* BN6 好氧降解萘磺酸的中间产物可作为氧化还原介体,促进偶氮染料的细菌脱色。而且在此基础上,提出了氧化还原介体存在下偶氮化合物胞外还原的细胞反应模型^[42]。目前已证实了许多细菌可利用蒽醌-2,6-二磺酸、蒽醌-2-磺酸、2-羟基-1,4-萘醌等介体,可大幅度提高偶氮染料的胞外还原速率。另外,Lettinga 及 Field 课题组在 UASB、EGSB 等厌氧反应器中考察了介体强化偶氮染料生物脱色的影响因素,并进行了大量应用基础研究^[21]。

3. 强化硝基化合物生物转化

2005 年,Borch 等发现在 AQDS 的存在下,*Cellulomonas* sp. 可使 TNT 的一级还原速率常数提高 3.7 倍^[20]。Kwon 等证实了 *Geobacter metallireducens* 在 AQDS 作为介体、乙酸盐作为电子供体时,可使炸药 RDX 的还原速率提高 66 倍。而且,AQDS 的存在可明显改变 RDX 厌氧生物转化途径,并使其矿化率提高 40%~60%^[23]。

4. 强化金属和非金属元素生物还原

美国微生物学家 Newman 和 Lovley 利用异化金属还原菌在该领域进行了开创性研究。该类微生物可以大量的金属和非金属元素如 Fe(Ⅲ)、Mn(Ⅳ)、Cr(VI)、V(V)、As(V)、Se(VI)、Co(Ⅲ)、Pd(Ⅱ)、U(VI)、Tc(VII)、Np(V)等为电子受体,在适宜电子供体存在下,介体(如 AQDS)可提高上述电子受体的生物还原^[43-44]。

5. 强化生物反硝化

Aranda-Tamaura 等研究了在反硝化条件下 3 种醌类化合物对硝酸盐还

原和硫化物氧化的影响,发现 1,2-萘醌-4-磺酸可使硫化物氧化率提高 44%,而且,他们还发现被还原的醌(氢醌)可作为电子供体生物还原 NO_2^- 和 N_2O ^[27]。Lovley 等的研究也表明氢醌可作为电子供体生物还原 NO_3^- 。另外,Guo 等也证实了蒽醌可提高污泥反硝化^[34]。

6. 强化生物电化学系统电子传递

在微生物燃料电池的阳极室,投加适宜介体可提高电子从燃料至阳极的传递速率(以阳极作为电子受体);而在阴极室投加适宜介体可提高电子从电极至电子受体(氧或氧化态化合物)的传递速率^[45]。Delaney 等用亚甲蓝等 14 种介体及大肠杆菌等 4 种微生物,以葡萄糖为原料考察了生物燃料电池的产电特性。结果表明,介体明显改善了电池的电流输出,其中较为典型的是硫堇类、吩嗪类和一些有机染料。Sund 等在考察 5 种介体对 *Clostridium cellulosyticum* 消解纤维素产物及产电的影响时发现,刃天青(resazurin)可大幅度提高产电,而对发酵末端产物没有影响。另外,Thrash 等发现在生物电化学反应器中,AQDS 促进电子从阴极至异化氯酸盐还原菌 *Dechloromonas* 和 *Azospira* 的传递速率,从而提高了氯酸盐的生物还原。

1.2.2 反应过程的影响因素

介体强化生物还原反应的影响因素主要包括介体性质、电子供体、电子受体、微生物以及环境因素等几个方面^[18-29]。

1. 介体氧化还原电位 E_0

从热力学角度,理想介体的 E_0 应介于电子供体氧化与末端电子受体还原这两个半反应之间。NAD(P)H 的 E_0 为 -320mV (生物系统中氧化还原电位最低的辅酶),因此,理想介体的 E_0 应大于 -320mV 。Rau 等研究发现对于强化偶氮染料生物还原的介体较理想 E_0 ,通常为 $-50 \sim -320\text{mV}$ 。这也被 Guerrero-Barajas 等在强化氯代有机物生物脱氯的研究中所证实。一些常见介体的标准氧化还原电位如表 1.2 所示。

许多研究发现,标准氧化还原电位 E_0 是判断化合物能否作为氧化还原介体的一个重要指标,但不是唯一指标,尤其对生物还原反应。

表 1.2 常见介体的标准氧化还原电位

氧化还原介体	E_0/mV
NAD(P)H	-320
核黄素	-208
FAD	-219
黄素单核苷酸(FMN)	-219
酚藏花红	-252
甲萘醌	-203
中性红	-325
维生素 B ₁₂	-530
2-羟基-1,4-萘醌	-139
AQDS	-184
AQS	-218
烟鲁绿 B	-225
苯甲紫 (benzyl viologen)	-360

2. 介体溶解性及稳定性

Watanabe 认为强化氯代有机物生物脱氯的介体应同时具有亲水基团和疏水基团。亲水基团可增加介体水溶性,而疏水基团可增加与细胞膜以及氯代有机物的相互作用。Stolz 课题组在强化偶氮染料生物脱色中也证实了介体亲脂性的重要性。另外,含有吸电子基团(如 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{COOH}$ 等)的醌类化合物可实现氧化和还原循环,而含有供电子基团的醌则不能(因为易发生氢解)。

3. 介体浓度及其与电子受体比率

方连峰等在介体强化偶氮染料脱色的研究中发现,当 AQDS 浓度 $<10\text{mg/L}$ 时,脱色速率常数随着氧化还原介体浓度的增加而显著提高;而在 $10\sim100\text{mg/L}$ 范围内, AQDS 浓度的增加对染料的脱色没有显著的影响。van der Zee 等证实即使 AQDS 与活性红染料 RR2 的摩尔比仅为 $1:16$,速率常数仍增加 2 倍。而当 AQDS 达到一定浓度后,速率常数则趋稳。脱色速率与氧化还原介体浓度的关系类似于 Monod 模型。

4. 电子供体

研究表明,以醌为电子受体的醌还原菌可利用的电子供体范围很广泛,包括氢气、低级脂肪酸、单糖或双糖、醇类、内源物质以及苯酚、甲苯等。而且,在介体介导生物还原体系中,电子供体可改变菌群结构或酶活性,从而对介体还原以及污染物降解速率产生显著影响。van der Zee 以及 Dos Santos 等研究表明,氢气、葡萄糖和乙酸盐通常是介体强化偶氮染料污泥脱色的适宜电子供体。

5. 微生物

Rau 等已证实醌介体还原为氢醌的过程通常是介体介导生物还原的限速步骤。其中,醌还原菌及其活性是该反应过程的关键因素。醌还原微生物种类繁多,例如,在发酵性细菌、硫酸盐还原菌、卤代烃呼吸菌、产甲烷菌、铁还原菌等菌属中均有存在。Dos Santos 以及 Cervantes 等以葡萄糖为电子供体,采用选择性抑制剂(如 2-溴乙烷磺酸、万古霉素等),考察了它们对醌介体强化偶氮染料及四氯化碳生物还原的影响。结果表明,活性污泥中发酵性细菌在该反应体系中起主导作用,而产甲烷菌的作用则有限。

6. 温度和 pH

提高温度可降低生物反应活化能,从而提高反应速率。在介体强化污染物生物还原体系中亦如此,但不如非强化体系明显。如 Dos Santos 等采用污泥在 30℃ 和 55℃ 下对偶氮染料脱色研究时发现,55℃ 时 AQS 强化体系的一级速率常数是 30℃ 时的 1.65 倍;而 55℃ 非强化体系的一级速率常数却比 30℃ 的提高 5.6 倍。

Kwon 等在 AQDS 作为介体、乙酸盐为电子供体的 *Geobacter metallireducens* 还原炸药 RDX 的研究中发现,pH 从 6.8 到 9.2 时介体对 RDX 生物还原速率几乎没有影响;而对于无介体体系,当 pH 从 6.8 增至 9.2 时,RDX 生物还原速率明显下降。

1.2.3 作用机理

目前关于介体介导的生物反应机理研究非常有限^[18,42]。归纳起来可分为 2 类,如图 1.1 所示。

1. 先生物反应,后化学反应

Stolz 课题组根据 *Sphingomonas xenophaga* BN6 的实验结果,提出了介体存在下胞外还原偶氮化合物的细胞反应模型。在氧化还原介体存在时,整个反应分为两步:①在电子供体存在下,介体被细胞内膜上的醌还原酶还原为氢醌;②还原态介体(氢醌)非专一性地化学还原胞外污染物(电子受体),并完成介体的再生[图 1.1(a)]。

通常认为水溶性介体可以穿过细胞外膜和周质,当被位于细胞内膜上的醌还原酶还原后,氢醌也可渗透到胞外,作为电子供体,非特异性地化学还原胞外氧化性物质。

2. 先化学反应,后生物反应

介体首先被电子供体[如硫化物、低价铁、柠檬酸钛(Ⅲ)等]化学还原,还原态介体再作为电子供体被生物利用以还原电子受体,并完成介体的再生而进入下一循环[图 1.1(b)]。

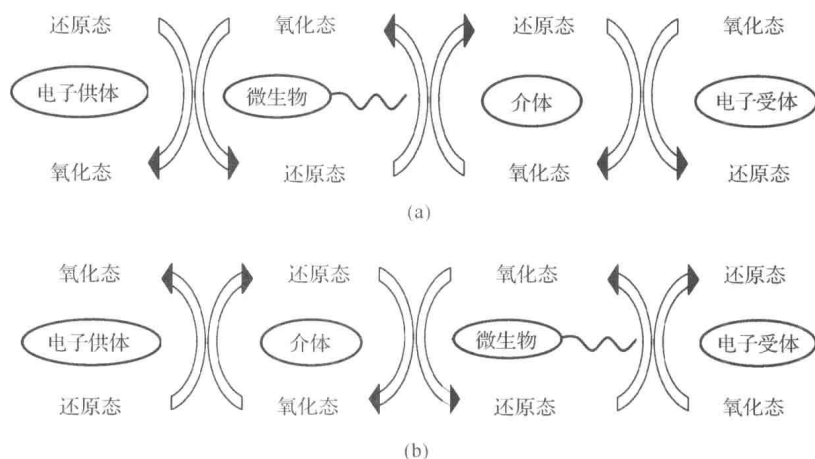


图 1.1 介体介导的生物反应机理示意图

(a) 先生物反应,后化学反应;(b)先化学反应,后生物反应

1.3 介体强化污染物生物转化的发展趋势

基于生物-化学组合机理的介体强化技术在难降解有机物处理中具有独