

生物阴极的构建方法对偶氮染料降解过程的影响

王有昭, 潘元, 谢元华, 朱彤

(东北大学 机械工程与自动化学院, 辽宁 沈阳 110819)

摘 要: 生物阴极可以强化偶氮染料在生物电化学系统中的脱色降解过程. 针对三种不同的生物阴极构建方法进行了评估分析. 实验结果表明, 三种方法都可以加速偶氮染料在阴极的脱色降解, 反应过程基本属于一级动力学过程. 其中利用生物阳极反转方法构建的生物阴极展示出了最大的催化电流(0.12 mA)和偶氮染料去除效率(85.2%), 厌氧污泥接种方法构成的生物阴极在电子回收率方面具备优势(71.8%). 对生物阴极的微生物群落结构进行分析, 发现电极表面存在着大量与电化学活性和偶氮染料脱色功能相关的微生物, 表明生物阴极的强化作用与微生物膜的组成密切相关.

关 键 词: 生物阴极; 接种; 偶氮染料; 微生物群落; 生物电化学系统

中图分类号: Q 89 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-3026(2017)07-1012-05

Effects of Biocathode Construction Methods on Azo Dye Degradation Process

WANG You-zhao, PAN Yuan, XIE Yuan-hua, ZHU Tong

(School of Mechanical Engineering & Automation, Northeastern University, Shenyang 110819, China.
Corresponding author: ZHU Tong, E-mail: tongzhu@mail.neu.edu.cn)

Abstract: The biocathode can enhance the azo dye decolorization process in bioelectrochemical system. Three construction methods for biocathode were analyzed. The experimental results indicated that all the biocathodes formed by those methods could accelerate the azo dye decolorization process and those reactions were mostly dynamical processes. Among those methods, the anode polarity-reversal method showed the maximum catalytic current (0.12 mA) and azo dye removal efficiency (85.2%). While the other method, in which the biocathode was formed by anaerobic sludge inoculation, had the advantage in electron recovery efficiency (71.8%). By analyzing the microbial biofilm structure of biocathodes, there were large amount of microbes correlated with functions of electrochemical activity or azo dye decolorization, which indicated that the enhancing effect of biocathodes related closely to the biofilm structures.

Key words: biocathode; inoculation; azo dye; microbial community; bioelectrochemical system

我国是染料生产和消费大国,但染料的生产 and 印染技术还停留在相对较低的水平,产生大量的化工印染废水亟待处理. 偶氮染料作为一种典型的工业废水污染物,其分子结构中的偶氮键的特性决定其在好氧生物处理过程中很难被破坏,虽然在厌氧生物处理过程中可以降解,但是存在降解速度偏慢的问题.

基于微生物燃料电池技术的发展,衍生的各

种生物电化学系统可以利用其中的阳极电化学生物膜氧化污水中易降解的污染物,将电子从微生物体内释放至阳极,电子经过外电路最终到达阴极参与还原反应^[1]. 其中,偶氮染料的偶氮键可以收受阴极的电子从而发生断裂,导致自身的脱色降解^[2]. 针对电化学生物膜深入研究发现阴极也能形成电化学生物膜,构成生物阴极. 由微生物构成的生物阴极可以接收从阳极传递而来的电子

收稿日期: 2016-01-25

基金项目: 辽宁省教育厅科学研究一般项目(L20150178); 国家自然科学基金青年基金资助项目(51608099); 东北大学博士后科学基金资助项目(20150304); 中国博士后科学基金资助项目(2015M570255).

作者简介: 王有昭(1984-),男,辽宁大连人,东北大学师资博士后研究人员; 朱彤(1963-),辽宁沈阳人,东北大学教授,博士生导师.

强化自身的还原反应,例如氧气、硝酸盐等的还原^[3-4],或者催化一些特异的污染物在阴极的还原降解,包括偶氮染料^[5]、氯代化合物^[6]、硝基苯^[7]、重金属^[8]等多种难降解污染物。

虽然对生物阴极微生物的胞外电子传递机制尚不明确,但是在实际研究中发现多种微生物具备在阴极接收电子催化污染物还原降解的能力。关于生物阴极微生物群落结构的研究也表明微生物群落呈现出高度的多样性,很可能与电极电位、碳源以及电子受体的种类相关。对于生物阴极的构建过程,即微生物在阴极表面的挂膜过程,相关的研究领域中出现了不同的构建方法。对于哪种方法可以在偶氮染料的降解过程中具备优势,还没有确定的结论。本文针对偶氮污染物构建不同的生物阴极,用以比较几种不同构建方法在偶氮染料降解过程中的优势和不足。

1 实验材料和实验方法

1.1 生物电化学系统的构成

本实验采用 H 型的生物电化学系统,为玻璃材质。阳离子交换膜(Ultrex CMI-7000)将系统分为阳极和阴极两个隔室,每个隔室容积为 70 mL。阳极和阴极的电极材料分别是碳纤维刷(直径 3 cm,长 4 cm)和碳布(长 3 cm,宽 2 cm)。在恒电位仪的三电极体系中,阳极作为对电极,阴极作为工作电极,阴极室中的饱和甘汞(SCE)电极作为参比电极(本文中所有出现的电位都是以 SCE 电极作为参比电极)。阴极电位被极化在 -1.0 V。阳极室和阴极室的反应溶液为 50 mmol/L 的磷酸盐缓冲液(pH = 7),氯化铵 310 mg/L,氯化钾 130 mg/L;其中阴极溶液中加入 500 mg/L 的葡萄糖和 100 mg/L 酸性橙作为碳源和目标偶氮污染物。

1.2 生物阴极的构建方法

生物阴极的构建主要是微生物在电极表面挂膜的过程,本文采用三种常见的构建方法,分别是①利用驯化好的用于偶氮染料脱色的厌氧污泥接种;②生物电化学系统的阳极出水接种,在之前的研究中发现了阳极出水可以形成生物阴极;③以驯化好的生物阳极进行极性反转构建生物阴极。三种构建方法对应 3 个实验组,实验组中的厌氧污泥采用偶氮染料和葡萄糖作为共基质培养,展现出高效的偶氮染料脱色性能,作为第一种接种物;生物阳极所在的阳极室出水经离心富集菌液后作为另一种接种物;用于极性反转的生物阳极

以沈阳浑河底泥进行接种而成,有着稳定的生物阳极电位(-500 mV)。未接种的空白阴极作为 3 个实验组的对照组。三种策略的接种挂膜时间均在 20 d 左右。

1.3 计算分析方法

采用分光光度计对酸性橙的标准样品进行紫外连续扫描,发现其最大吸收波长位于 484 nm,所以以 OD₄₈₄ 作为标准,绘制污染物浓度与吸光度的标准曲线。偶氮染料的脱色效率 R_{de} 计算公式为(c_0 为初始染料浓度, c_t 为经过时间 t 后的染料浓度):

$$R_{de} = \frac{c_0 - c_t}{c_0} \times 100\%$$

阴极染料脱色降解的电子回收率 E 的计算公式为

$$E = \frac{4(c_0 - c_t)VF}{Q} \times 100\%$$

式中:4 为每摩尔酸性橙偶氮键断开所需要的电子数; V 为阴极室体积; F 为法拉第常数; Q 为电量。

2 结果与讨论

2.1 生物阴极催化电流的分析

利用计时电流法对三种生物阴极构建方法的效果进行评估。利用恒电位仪将电位极化在 -1 000 mV 的同时,注入质量浓度 100 mg/L 的酸性橙偶氮染料。图 1 中展示了催化电流随时间的变化,3 个实验组的催化电流产生了明显不同的变化趋势。没有挂膜的空白阴极的催化电流在反应初期(6 h)明显低于 3 个实验组,电流最大值为 0.11 mA;而在 3 个实验组中,基于厌氧污泥接种方法和阳极反转接种方法构建的生物阴极在反应 6 h 内的催化电流处于同一水平(0.12 ~ 0.16 mA),二者的平均电流(6 h)分别为 0.147 和 0.144 mA,阳极出水接种组的催化电流要明显低于前两个实验组,平均电流为 0.125 mA。

随着反应的进行,除了阳极反转接种组外,其他的两个实验组和对照组的电流随着时间呈现出逐渐下降的趋势,其原因是偶氮染料在阴极给电子的环境下不断被还原降解,导致电子受体的不足,所以催化电流逐渐减弱;而阳极反转接种的实验组,其催化电流明显呈现出一个典型的波峰状,这个特异的电流变化不符合电子受体减少而导致电流下降的趋势,最大的可能是电化学生物膜中的某些导电性物质暂时性地弥补了电子受体的不

足,所以在催化电流上出现了明显波动的趋势. 在 24 h 的反应时间内,厌氧污泥接种实验组、阳极反转接种实验组及阳极出水接种实验组的平均电流要分别高出空白对照组 18.7%, 64.5% 和 39.1%, 阳极反转接种策略展现出了最好的电催化催化活性.

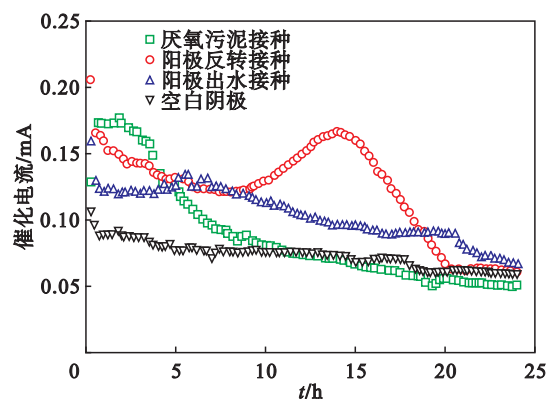


图 1 极化电位 -1 V 下的生物阴极催化电流的变化
Fig. 1 Catalytic current variation of biocathodes under -1 V of polarized potential

2.2 偶氮染料去除效率的分析

在监测催化电流的同时,偶氮染料在生物阴极还原作用导致的脱色效果被检测. 基于三种不同方法构建的生物阴极对偶氮染料的去除都展示出一定的强化效果. 在紫外-可见光连续扫描光谱中(图 2),可以观察到酸性橙在 484 nm 处有最大的吸收波长,24 h 后的反应器出水中该处的波峰明显降低,说明偶氮染料的浓度被还原降低. 阳极反转接种组的出水偶氮染料的浓度最低,厌氧污泥接种组和阳极出水接种组的处理效果基本一致.

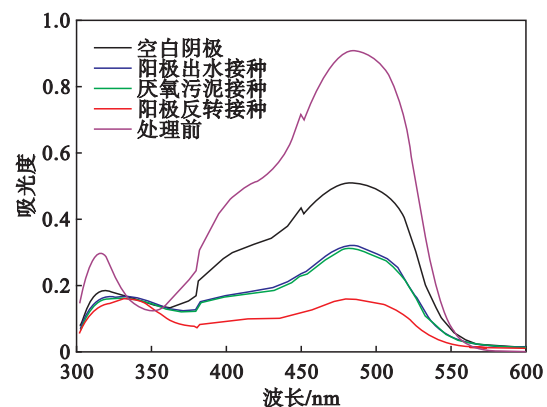


图 2 生物阴极处理前后的酸性橙紫外-可见光连续扫描光谱
Fig. 2 UV-visible profiles of acid orange before and after biocathodes treatment

如图 3a 所示,对偶氮染料的脱色效率进行分析计算后发现,无论在反应的任何阶段,基于三种

方法构建的生物阴极的脱色效率明显高于空白的阴极对照组. 其中,在反应的初始阶段(6 h),厌氧污泥接种组的脱色效率最高(36.2%),阳极出水接种组的脱色效率最低(28%). 随着反应时间的延长,阳极反转组的脱色效率明显提升,直至高于厌氧污泥接种组,这与其逐渐增大的催化电流有关,24 h 的最大脱色效率为 85.2%;而阳极出水接种组虽然在反应初期的脱色效率处于最低水平,但是在反应后期的脱色效率逐渐接近于厌氧污泥接种组,二者 24 h 的脱色效率分别是 70.1% 和 71.1%. 利用反应动力学对偶氮染料的脱色降解反应过程进行拟合发现(图 3b),非生物阴极和生物阴极的脱色过程基本符合一级反应动力学. 阳极反转接种组的反应速率常数最高,为 0.087;厌氧污泥接种组、阳极出水接种组以及空白对照组的反应速率常数 K 分别为 0.045, 0.05 和 0.03. 无论从脱色效率或是反应动力学来看,阳极反转接种策略都具备最佳的偶氮染料脱色性能.

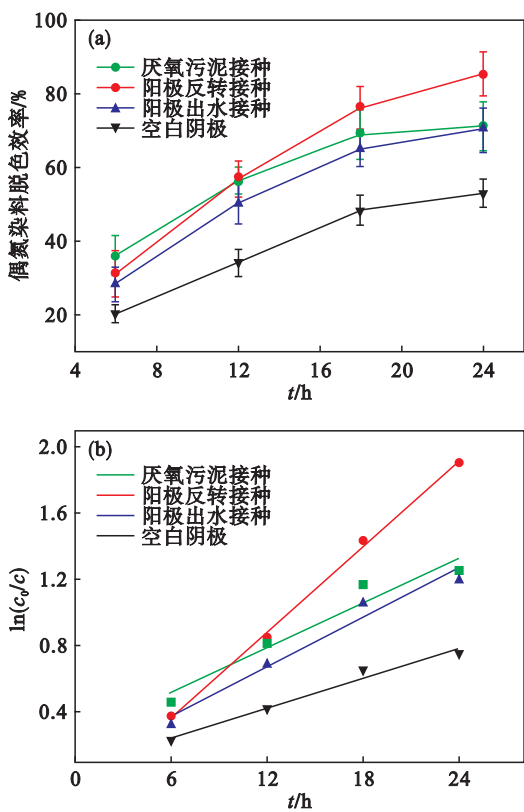


图 3 基于不同方法构建的生物阴极的偶氮染料去除效率和反应动力学分析
Fig. 3 Azo dye removal process of biocathodes and reaction dynamics based on different biocathode construction methods
(a)—偶氮染料脱色效率的比较; (b)—反应动力学分析.

2.3 生物阴极电子回收率的分析

生物阴极释放电子用于还原降解污染物. 本文中,偶氮染料作为目标污染物被还原脱色降解.

阴极电子回收率作为一个重要的性能指标用于评价阴极电子的去向,因为电子除了用于还原目标污染物之外,也可能参与水中质子还原产氢的副反应;而在生物阴极中,某些微生物也可以接收电子用于体内的其他新陈代谢活动.如图 4 所示,随着反应的进行,偶氮染料的浓度降低,主要电子受体的比例下降导致阴极电子回收率也随着时间逐渐降低,厌氧污泥组、阳极反转组、阳极出水接种组和空白对照组的电子回收率分别由初始的 87.4% ,77% ,79.9% 和 84.4% 降低至 71.1% ,62% ,60.3% 和 63.5% .厌氧污泥接种组的电子回收率要明显高于其他组,说明这种生物阴极构建方法在偶氮染料降解过程中的比能耗方面具备优势,更多的电子用于偶氮染料的还原降解,质子还原产氢等副反应被最大限度抑制,电能得到节约.阳极反转接种方法虽然在催化电流和偶氮染料去除速度上占据优势,但其电子回收率方面并没有展现出其优势.

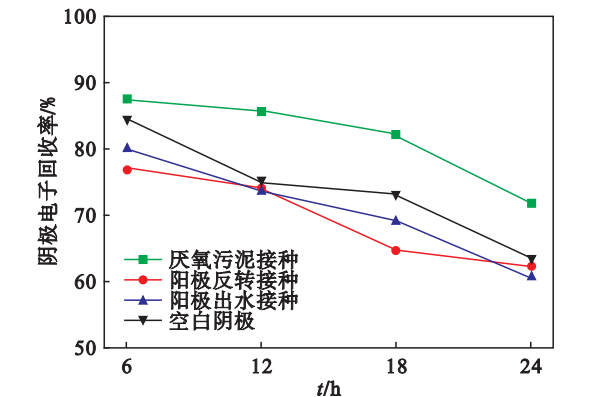


图 4 偶氮染料去除过程的阴极电子回收率分析
Fig. 4 Analysis of electron recovery efficiency in cathode during azo dye removal process

2.4 生物阴极微生物群落结构的分析

生物阴极由微生物膜和导电的载体材料构成,本文中阴极的载体材料均为碳布,所以基于各种方法构建的生物阴极在性能上的差异主要归功于其表面存在着不同结构的微生物膜.大量的研究也证明生物阴极中微生物的群落结构也决定了阴极的反应效能.对这些微生物群落结构进行分析,有助于解释不同的构建方法在催化电流、脱色效率及电子回收率等方面的差异.

对 3 个实验组生物阴极碳布表面的微生物膜样品进行 DNA 提取后,以 16S rDNA 为引物进行 PCR 扩增,利用高通量测序平台进行分析.首先利用主成分分析方法对 3 个实验组样品进行聚类(图 5),主要基于两个主成分进行说明,分别为 PC1 和 PC2,二者的贡献率分别为 97% 和 3% .图

中代表 3 个实验组的点位无明显聚集趋势,考虑到主成分 PC1 以 97% 的贡献率解释了 3 个实验组之间的相似性,表明了 3 个实验组之间并无紧密的联系,说明三种接种方法构建的阴极微生物膜呈现了高度的特异性.

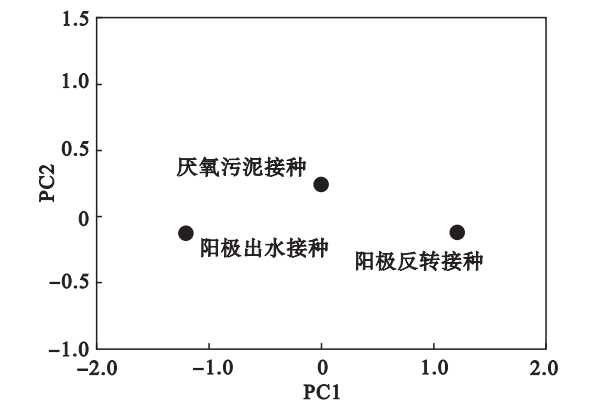


图 5 基于不同方法构建的生物阴极微生物群落结构的主成分分析
Fig. 5 Principal component analysis of microbial communities from biocathodes based on different construction methods

对 3 个实验组样品的生物膜进行结构解析,从菌属水平的分析有助于从微生物的功能角度阐述生物阴极的特征(表 1).其中阳极出水接种组的优势菌属为 *Comamonadaceae_unclassified* (18.6%), *Thermovirga* (14.5%), *Sphingobacteriales_unclassified* (10.9%);厌氧污泥接种组的优势菌属为 *Pseudomonas* (20.7%), *Lactococcus* (9.9%), *Stenotrophomonas* (6.2%);阳极反转接种组的优势菌属为 *Pseudomonadales_unclassified* (48.1%), *Pseudomonas* (12.1%), *Lactococcus* (6.2%).菌属 *Pseudomonas* 在厌氧污泥接种组和阳极反转接种组中大量存在,该菌属中的细菌已被证明能够分泌电子中介体,用于强化细菌与电极之间的电子传递^[9-10],*Lactococcus* 属细菌也可分泌醌类介体在阳极促进电子传递^[11],但其在阴极是否具有促进电子传递的功能还未可知.*Pseudomonas* 属的一些细菌也可以在厌氧环境下对偶氮染料直接脱色降解^[12].表中还出现了大量在现有分类学水平无法进行准确归类的细菌,其相关的功能无法进行深入的分析.这些菌属结构中最明显的是在阳极反转组中出现了占据统治地位的假单胞菌目(*Pseudomonadales_unclassified*)的相关细菌,其与 *Pseudomonas* 菌属在分类学地位中比较接近,可以推测其可能具备高效的生物电化学活性,上文中阳极反转接种组反应中后期的催化电流出现明显的升高,以及比其他实

实验组具有更高效的偶氮染料脱色效率,与该未知菌属细菌的高度富集所产生的催化作用密不可分.

表 1 基于不同方法构建的生物阴极微生物群落结构分析结果(菌属分类水平)

Table 1 Analysis of microbial communities of biocathodes based on different construction methods(genus level) %

菌属名称	阳极出水接种组	厌氧污泥接种组	阳极反转接种组
<i>Comamonadaceae_unclassified</i>	18.6	0	0
<i>Lactococcus</i>	0	9.9	6.2
<i>Pseudomonadales_unclassified</i>	0	2.9	48.1
<i>Pseudomonas</i>	0	20.7	12.1
<i>Sphingobacteriales_unclassified</i>	10.9	0	0
<i>Stenotrophomonas</i>	0	6.2	2.5
<i>Thauera</i>	8.2	0.7	0
<i>Thermovirga</i>	14.5	0	0

注:表中不显示数量比例在 3 个实验组中均低于 3% 的菌属,菌属名称中“unclassified”表明序列在菌属分类学水平无法进行精确分类.

三种不同的生物阴极构建方法形成了迥异的微生物群落.虽然生物阴极的胞外电子传递机制还未明确,但电子传递的大致途径推测是阴极释放的电子经过微生物的导电结构(细胞膜上的导电蛋白或游离性的电子中介体)传递至细胞膜,然后细胞膜上或细胞内部的偶氮还原酶类利用电子进行偶氮键的断裂.接种物的来源、极性反转效应等不同因素都会对阴极微生物群落的结构产生影响,而不同种类的微生物携带的导电结构或偶氮还原酶类的能力决定了生物阴极对偶氮染料的催化能力,导致生物阴极在催化电流、处理效率及电子回收率方面的差异.

3 结 论

- 1) 利用阳极反转接种策略构建的生物阴极对提升偶氮染料的脱色降解效率最为高效,相对于非生物阴极其效率提高了 32%,但是阴极电子回收率方面并无优势.
- 2) 利用厌氧污泥接种方法构建的生物阴极对偶氮染料的电子回收率达到 71.8%,虽然其脱色速率并非最快,但在比能耗方面具备一定的优势.
- 3) 生物阴极菌群结构的分析表明,大量与电化学活性和偶氮染料脱色性能相关的优势菌属的存在,是生物阴极发挥其催化作用的关键所在.

参考文献:

[1] Liu H, Ramnarayanan R, Logan B E. Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38 (7): 2281 – 2285.

[2] Mu Y, Rabaey K, Rozendal R A, et al. Decolorization of azo dyes in bioelectrochemical systems [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43 (13): 5137 – 5143.

[3] He Z, Angenent L T. Application of bacterial biocathodes in microbial fuel cells [J]. *Electroanalysis*, 2006, 18 (19/20): 2009 – 2015.

[4] Virdis B, Rabaey K, Rozendal R A, et al. Simultaneous nitrification and denitrification (SND) at a microbial fuel cell (MFC) biocathode [J]. *Journal of Biotechnology*, 2010, 150: 153 – 154.

[5] Wang Y Z, Wang A J, Liu W Z, et al. Accelerated azo dye removal by biocathode formation in single-chamber biocatalyzed electrolysis systems [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 146: 740 – 743.

[6] Huang L, Chai X, Quan X, et al. Reductive dechlorination and mineralization of pentachlorophenol in biocathode microbial fuel cells [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 111: 167 – 174.

[7] Wang A J, Cheng H Y, Liang B, et al. Efficient reduction of nitrobenzene to aniline with a biocatalyzed cathode [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45 (23): 10186 – 10193.

[8] Huang L, Wang Q, Jiang L, et al. Adaptively evolving bacterial communities for complete and selective reduction of Cr (VI), Cu (II), and Cd (II) in biocathode bioelectrochemical systems [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49 (16): 9914 – 9924.

[9] Rabaey K, Boon N, Höfte M, et al. Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells [J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39 (9): 3401 – 3408.

[10] Wang Y, Wang A, Zhou A, et al. Electrode as sole electrons donor for enhancing decolorization of azo dye by an isolated *Pseudomonas* sp. WYZ – 2 [J]. *Bioresource Technology*, 2014, 152: 530 – 533.

[11] Freguia S, Masuda M, Tsuchimura S, et al. *Lactococcus lactis* catalyses electricity generation at microbial fuel cell anodes via excretion of a soluble quinone [J]. *Bioelectrochemistry*, 2009, 76 (1): 14 – 18.

[12] Chang J S, Chou C, Lin Y C, et al. Kinetic characteristics of bacterial azo-dye decolorization by *pseudomonas luteola* [J]. *Water Research*, 2001, 35 (12): 2841 – 2850.