

介体厌氧催化活性艳红 K-2BP 脱色及构效特性研究

康丽¹, 郭建博^{1*}, 廉静¹, 王育华², 杨景亮¹, 郭延凯¹, 李海波¹, 王瑜瑜¹

(1. 河北科技大学环境科学与工程学院, 石家庄 050018; 2. 石家庄铁道大学材料科学与工程学院, 石家庄 050043)

摘要:研究了筛选出的 4 种结构相似的醌类氧化还原介体对活性艳红 K-2BP 厌氧脱色的促进作用, 并分析了介体促进效果与其化学结构活性相关性. 在 35℃ 中温厌氧条件下, 采用间歇批量实验法, 测定不同体系中介体催化活性艳红 K-2BP 脱色效果. 结果表明, ①结构相似的醌类氧化还原介体蒽醌(AQ)、1,5-二氯蒽醌(1,5-AQ)、1,8-二氯蒽醌(1,8-AQ)和 1,4,5,8-四氯蒽醌(1,4,5,8-AQ), 均促进活性艳红 K-2BP 脱色, 反应速率提高了 1.4~3 倍; ②当醌类介体投加浓度为 4 mmol·L⁻¹, 活性艳红 K-2BP 染料浓度为 300 mg·L⁻¹ 时, 促进作用由大到小的顺序为: 1,8-AQ > 1,5-AQ > AQ > 1,4,5,8-AQ; ③当活性艳红 K-2BP 染料浓度为 300 mg·L⁻¹ 时, 1,8-AQ 促进效果最佳且脱色速率常数随 1,8-AQ 浓度的增加而增加呈线性关系; ④介体促进效果与介体取代基团数量、位置和电子共轭效应相关. 本研究初步建立了氧化还原介体定性/定量构-效关系数学模型, 探究和完善非水溶性氧化还原介体催化强化理论体系.

关键词:氧化还原介体; 构效关系; 活性艳红 K-2BP; 催化; 脱色

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)04-1060-06

Catalyst Effect and the Structure-Activity Characteristics of Redox Mediators on the Reactive Brilliant Red K-2BP Decolorization

KANG Li¹, GUO Jian-bo¹, LIAN Jing¹, WANG Yu-hua², YANG Jing-liang¹, GUO Yan-kai¹, LI Hai-bo¹, WANG Yu-yu¹

(1. School of Environmental Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China; 2. School of Materials Science and Engineering, Shijiazhuang Tiedao University, Shijiazhuang 050034, China)

Abstract: Four selected quinone redox mediators with similar structure were conducted to accelerate reactive brilliant red K-2BP decolorization, and the accelerating structure-activity of redox mediators on the decolorization was also studied. Batch experiments were carried out to determine the catalyst effect on the decolorization of reactive brilliant red K-2BP with temperature of 35℃ and under anaerobic conditions. The experiment results suggested that ① four similar chemical structure redox mediators [1,4,5,8-Tetrachloroanthraquinone(1,4,5,8-AQ), Anthraquinone(AQ), 1,8-Dichloroanthraquinone(1,8-AQ), 1,5-Dichloroanthraquinone(1,5-AQ)], all accelerated the decolorization rate of reactive brilliant red K-2BP and the reaction rate was enhanced 1.4-3 times; ② the accelerating order was 1,8-AQ > 1,5-AQ > AQ > 1,4,5,8-AQ at the quinone mediator concentration of 4 mmol·L⁻¹ and reactive brilliant red K-2BP concentration of 300 mg·L⁻¹; ③ under the reactive brilliant red K-2BP concentration of 300 mg·L⁻¹, 1,8-AQ had best accelerating effect, and the relationship between decoloring rate constants and 1,8-AQ concentration; ④ and the mediator accelerating effects also related to substituent positioning effects and conjugated effects. The structure-activity mathematical model of redox mediators was put forward, which could improve water-insoluble redox mediators catalytic strengthening theory system.

Key words: redox mediator; structure-activity; reactive brilliant red K-2BP; catalysis; decolorization

偶氮染料废水以其水量大、色度高、所含污染物多有“三致”性, 成为公认难降解废水之一^[1]. 目前氧化还原介体(redox mediator, RM)高效加速偶氮染料生物降解技术成为国内外研究热点^[2-5]. 研究表明氧化还原介体的引入能加速电子供体与电子受体间的电子传递速率, 可使污染物还原/氧化速率提高一到几个数量级, 间接促进染料的脱色速率^[6-8]. 磺酸基蒽醌(AQS)^[9]、2,6-二磺酸蒽醌(AQDS)^[10-12]被证实可大幅度提高污染物的厌氧生物转化, 但水溶性介体投加量大、随出水流失, 易造成二次污染. 针对此问题, 非水溶性介体催化偶氮染料降解成为此领域目前研究的新关注点^[13]. 司伟磊等^[14]采用

聚氨酯泡沫固定化蒽醌, 蒽醌固定后加速偶氮染料的脱色作用与悬浮态蒽醌相比, 不仅没有降低, 反而略高一些. Su 等^[15]则采用海藻酸钙包埋法将醌还原菌群和蒽醌共固定, 所制备的海藻酸钙小球对多种偶氮染料具有很好的脱色效果. 但非水溶性氧化还原介体仍未建立结构与催化强化效果构效关系, 使非水溶性技术在优化和开发方面, 缺乏理论指导

收稿日期: 2010-07-03; 修订日期: 2010-08-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(50978082); 河北省高校重点学科建设项目

作者简介: 康丽(1984~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制, E-mail: li.g1030@163.com

* 通讯联系人, E-mail: jianbguo@yahoo.com.cn

和技术支持. 因此,本研究以 4 种结构相似的非水溶性醌类介体为重点,考察非水溶性介体对偶氮染料厌氧脱色的影响,并对 4 种结构相似介体促进效果与其化学结构活性进行相关性分析,以探究和完善非水溶性氧化还原介体催化强化理论体系,以期为其实际应用奠定理论基础.

1 材料与amp;方法

1.1 菌种来源

菌种为本实验室分离驯化好的耐盐菌株 *Staphylococcus* sp. GYW (GenBank 登录序列号:

- EF188281).
- 1.2 实验药品
- (1)培养基 LB 培养基(酵母膏 2.5 g·L⁻¹、胰蛋白胨 5.0 g·L⁻¹和 NaCl 2.5 g·L⁻¹).
- (2)化学试剂 蒽醌、1,5-二氯蒽醌、1,8-二氯蒽醌、1,4,5,8-四氯蒽醌(醌介体结构见图 1)为化学纯,海藻酸钠和 CaCl₂ 为分析纯.
- (3)实验用水 本实验使用染料废水为模拟配制染料溶液,染料储备液置于 4℃ 冰箱保存备用,实验所用染料特性见表 1.

1.3 醌介体固定方法

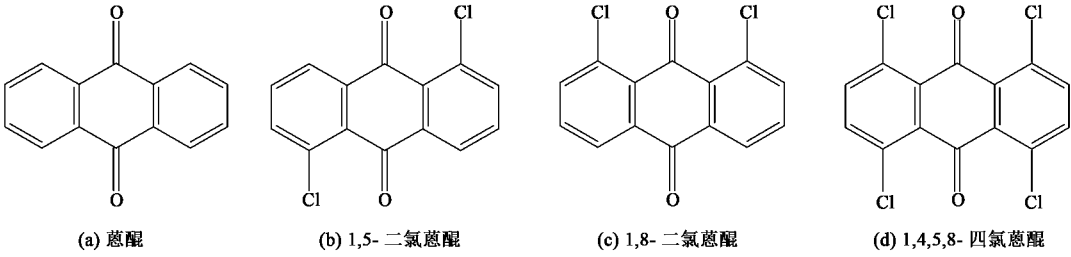


图 1 4 种醌化学结构式

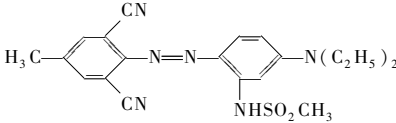
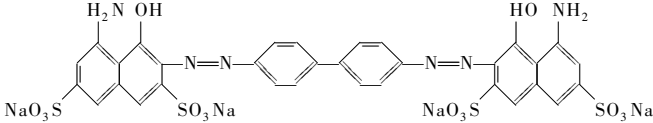
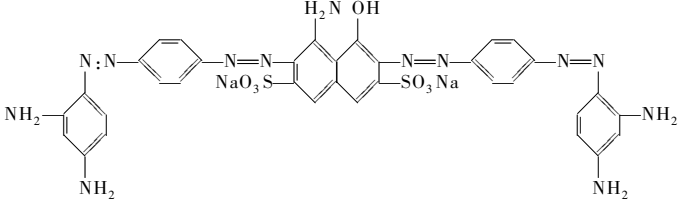
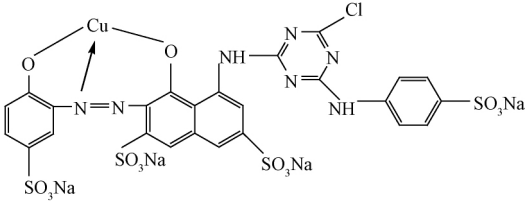
Fig.1 Chemical structure of redox mediators used in this study

表 1 实验用染料

Table 1 Azo dyes using in experiment

染料名称	相对分子质量	特征波长/nm	结构式
活性艳红 K-2BP	772. 5	538	<chem>Clc1cc(NC2=NC(=N/C(=C3C(=C(C(=C3)S(=O)(=O)[O-])[Na+])N=N/C4=CC(=C(C=C4)S(=O)(=O)[O-])[Na+])C(=O)O)C(=O)N2)c(C(=O)N)cc1</chem>
酸性红 B	502. 42	514	<chem>Clc1ccc(cc1)Nc2nc3cc(N)cc(N=Nc4cc(O)cc(S(=O)(=O)[O-])[Na+]4)c3cc2</chem>
酸性橙 II	350. 33	485	<chem>Clc1ccc(cc1)Nc2nc3cc(N)cc(N=Nc4ccc(S(=O)(=O)[O-])cc4)[Na+]c3cc2</chem>
酸性金黄 G	385	438	<chem>Clc1ccc(cc1)Nc2nc3cc(N)cc(N=Nc4ccc(S(=O)(=O)[O-])cc4)[Na+]c3cc2</chem>
活性艳橙 K-GN	899. 5	475	<chem>Clc1cc(NC2=NC(=N/C(=C3C(=C(C(=C3)S(=O)(=O)[O-])[Na+])N=N/C4=CC(=C(C=C4)S(=O)(=O)[O-])[Na+])C(=O)O)C(=O)N2)c(C(=O)N)cc1</chem>

续表

染料名称	相对分子质量	特征波长/nm	结构式
分散红 343	439. 77	522	
直接湖蓝 5B	992. 83	608	
直接耐晒黑 G	824. 756	651	
活性紫 K-3R	954. 572	551	

实验采用海藻酸钙包埋法固定氧化还原介体，具体方法参见文献[16~18]。

1.4 分析项目及方法

(1) 菌体生长量测定 微生物浓度采用 660 nm 处 *D* 值表示,分光光度法测定。

(2) 染料浓度测定 染料浓度测定采用其可见光区最大特征峰吸光度,分光光度法测定. 各染料标准曲线在一定范围内与最大吸光度线性关系较好,高浓度染料溶液可通过稀释测定(UV2600 紫外-可见分光光度计)。

2 结果与讨论

2.1 非水溶性醌类氧化还原介体对活性艳红 K-2BP 脱色的影响

单菌初始浓度 660 nm 处 *D* 值约为 0.25,染料初始浓度为 300 mg·L⁻¹,醌类介体投加浓度为 4 mmol·L⁻¹,将活性艳红 K-2BP 染料储备液及不同化学结构 RM 醌小球分别注入 8 个 250 mL 锥形瓶中(包含 4 个平行样),密封,放置 35℃ 生化培养箱进行反应,进行非水溶性醌类氧化还原介体对活性艳红 K-2BP 脱色实验. 脱色过程中定时取样分析,结

果如图 2 所示。

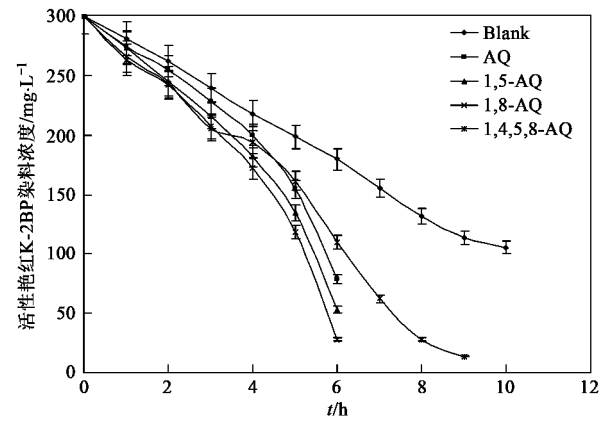


图 2 4 种醌介体对活性艳红 K-2BP 的降解对比

Fig.2 Contrasts of four kinds of quinone degradation on Rctive Brilliant Red K-2BP

由图 2 可看出:①4 种醌介体均对活性艳红 K-2BP 厌氧脱色具有加速作用,其加速可能原因为其共有的醌基官能团,醌基官能团具有碳氧双键,活性极为活泼,易发生氧化还原反应^[19];②在相同条件下,4 种醌介体加速效果不同,加速快慢顺序为:

1,8-AQ > 1,5-AQ > AQ > 1,4,5,8-AQ. 这与醌介体的化学结构活性具有一定相关性(相关性分析详见 2.2 节).

2.2 醌介体促进效果与其化学结构活性相关性分析

酸性溶液中,醌还原反应机制是: H^+ 进攻醌环上羰基上的碳,打开羰基上的 π 键,使苯环上带正电荷,O 原子上带负电荷.当体系得一个电子发生还原反应后 H^+ 转移到 O_2^- 上,形成 $-\text{OH}^{[19]}$.

蒽醌为平面结构,所有的碳原子都是 sp^2 杂化的,是十四中心十四电子的离域大 π 键体系.蒽醌中羰基上的氧原子与羰基上的碳形成一个 σ 键,一个 π 键.羰基上 π 键与蒽醌环形成离域大 π 键体系.

当邻位的 H 原子被 Cl 原子取代时,Cl 原子与蒽醌存在着 2 种效应,一种是 Cl 原子的吸电子效应,另外一种 Cl 原子中的 P 原子与蒽醌 π 电子的共轭效应.

Cl 原子二取代蒽醌时,Cl 原子的吸电子效应占据主导地位,二氯蒽醌的共轭稳定性弱于蒽醌.其中,1,5-二氯蒽醌的 Cl 原子二取代在蒽醌环异侧,即位于 2 个羰基基团的邻位,Cl 原子对每个羰基基团吸电子效应一致,整体活性相对稳定,而 1,8-二氯蒽醌的 Cl 原子二取代在蒽醌环同侧,即位于一个羰基基团的两侧邻位,电子云向 Cl 原子二取代的一侧偏移,这就使另一侧的羰基基团相对暴露出来,稳定性急剧减弱活性增加,较 1,5-二氯蒽醌更易发生氧化还原反应;1,4,5,8-四氯蒽醌则由 4 个对称的 Cl 原子取代,两两相离较近的 Cl 原子的 p 电子与蒽醌环上的 π 电子形成了大的 p- π 共轭.这个共轭体系较蒽醌、1,5-二氯蒽醌和 1,8-二氯蒽醌更加稳定,因此更不容易得失电子.

由以上分析可以得出结论,4 种醌介体的反应活性强弱为 1,8-二氯蒽醌 > 1,5-二氯蒽醌 > 蒽醌 > 1,4,5,8-四氯蒽醌.此结论与 4 种醌介体加速厌氧脱色快慢顺序相符.

2.3 1,8-AQ 浓度对活性艳红 K-2BP 厌氧脱色的影响

以催化效果最佳的 1,8-AQ 为模型介体物质,在相同实验条件下通过改变 1,8-AQ 的浓度 ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),考察醌浓度对活性艳红 K-2BP 厌氧脱色的影响(见图 3)及在 1,8-AQ 最佳投加浓度 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时与速率常数的关系(见图 4).

由图 3、图 4 可以看出,当 1,8-AQ 浓度 ≤ 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,脱色速率常数随着 1,8-AQ 浓度的增加

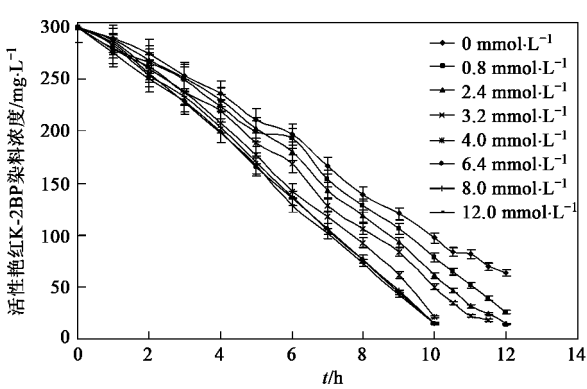
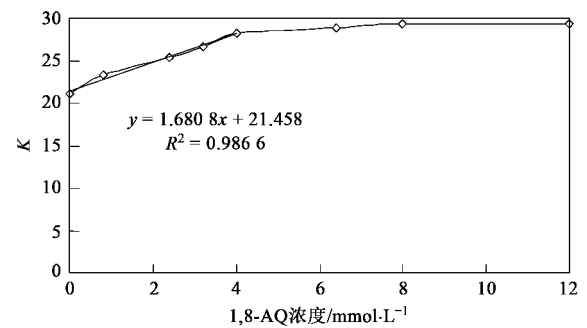


图 3 1,8-AQ 浓度对活性艳红 K-2BP 厌氧脱色的影响
Fig. 3 Effects of concentration of 1,8-AQ on decolorization of Rctive Brilliant Red K-2BP



K 为厌氧脱色速率常数;x 为 1,8-AQ 浓度 ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$);
y 为活性艳红 K-2BP 厌氧脱色速率常数

图 4 1,8-AQ 浓度与活性艳红 K-2BP 脱色速率常数的关系
Fig. 4 Relationship of 1,8-AQ concentration and decolorization rate constant

而增加呈线性关系 $y = 1.6808x + 21.458$, 当 1,8-AQ 浓度为 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,脱色速率提高 1.4 倍;4 ~ 12 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内,再增加 1,8-AQ 浓度催化效果不再显著增加,脱色速率常数基本保持不变,这可能是由于介体这种加速作用还要受菌体浓度等因素影响.因此可以判定,在单菌初始浓度 660 nm 处 D 值约为 0.25,染料初始浓度为 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下,1,8-AQ 最佳投加浓度为 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$.此结论与其他研究者实验结果一致,在一定浓度范围内,醌介体的浓度与染料的脱色速率常数呈正相关^[20].

2.4 染料浓度对醌介体催化强化活性艳红 K-2BP 厌氧脱色的影响

其他条件不变,单菌初始浓度 660 nm 处 D 值约为 0.25,醌类介体投加浓度为 4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,逐步提高染料浓度至 480 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,考察染料浓度是否是介体催化强化活性艳红 K-2BP 厌氧脱色的限制性

因素,实验结果如图 5 所示。

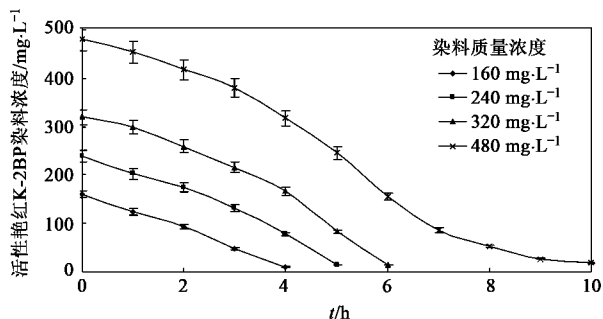


图 5 染料浓度对活性艳红 K-2BP 脱色的影响

Fig. 5 Effects of concentration of dye on decolorization of Rctive Billiant Red K-2BP

由图 5 可以看出,随着染料浓度的增加脱色时间延长,脱色速率常数基本保持不变。说明在染料浓度 $\leq 480 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,染料浓度不会成为醌介体催化强化活性艳红 K-2BP 厌氧脱色的限制性因素。

2.5 1,8-AQ 对偶氮染料催化强化的广谱性

由于染料的结构与它们的生物降解性有密切的关系,而实验过程中一直以活性艳红 K-2BP 为考察对象。因此,为了考察醌介体对其他染料废水脱色的适用性,实验选用了另外 8 种偶氮染料作为考察对象,在单菌初始浓度 660 nm 处 D 值约为 0.25,醌类介体投加浓度为 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,各染料浓度为 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时考察醌介体对偶氮染料催化强化的广谱性,结果如图 6 所示。

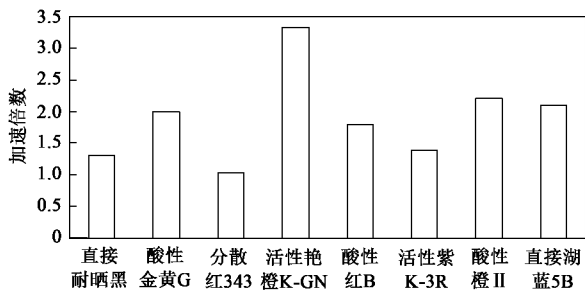


图 6 染料的广谱性

Fig. 6 Decolorization of various dyes

由图 6 可看出,介体对 9 种偶氮染料均提高脱色率 1~2 倍的脱色效果。对于活性艳橙 K-GN 加速倍数可高达 3.3 倍。因此可以断定,醌介体催化强化偶氮染料厌氧脱色具有广泛的适用性。

3 结论

(1) 4 种醌介体均对活性艳红 K-2BP 厌氧脱色持有加速作用,但催化效果不同,加速快慢顺序为:

1,8-二氯蒽醌 > 1,5-二氯蒽醌 > 蒽醌 > 1,4,5,8-四氯蒽醌,其催化效果与其化学结构活性即蒽醌环上取代基的位置和数量、吸电子效应和共轭效应有一定的相关性。

(2) 1,8-二氯蒽醌对活性艳红 K-2BP 厌氧脱色具有催化强化作用。当活性艳红 K-2BP 染料浓度为 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $1,8\text{-AQ} \leq 4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,脱色速率常数随 1,8-AQ 浓度的增加而增加呈线性关系 $y = 1.6808x + 21.458$ 。

(3) 活性艳红 K-2BP 染料浓度 $\leq 480 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,染料浓度不是醌介体催化强化活性艳红 K-2BP 厌氧脱色的限制性因素,脱色速率常数基本一致。

(4) 1,8-二氯蒽醌对 9 种偶氮染料催化强化具有广谱性。

参考文献:

- [1] 徐文东,文湘华.微生物在含染料废水处理中的应用[J].环境污染治理技术与设备,2000,1(2):9-16.
- [2] 郭建博,张立辉,杨景亮,等.耐盐偶氮染料脱色菌株 GYW 的筛选及特性[J].微生物学通报,2009,36(5):644-651.
- [3] Van der Zee F P, Villaverde S. Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes-a short review of bioreactor studies[J]. Water Research,2005,39(8):1425-1440.
- [4] Pandey A, Singh P, Iyengar L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes[J]. International Biodeterioration and Biodegradation,2007,59(2):73-84.
- [5] Frank P, Van der Zee F P, Cervantes F J. Impact and application of electron shuttles on the redox (bio) transformation of contaminants: A review[J]. Biotechnology Advances, 2009, 27(3):256-277.
- [6] Dos Santos A B, Traverse J, Cervantes F J, et al. Enhancing the electron transfer capacity and subsequent color removal in bioreactors by applying thermophilic anaerobic treatment and redox mediators[J]. Biotechnology and Bioengineering,2005,89(1):42-52.
- [7] Field J A, Cervantes F J, Van der Zee F P, et al. Role of quinones in the biodegradation of priority pollutants: A review [J]. Water Science and Technology, 2000, 42 (5): 215-222.
- [8] Hernandezm E, Newman D K. Extracellular electron transfer[J]. Cellular and Molecular Life Sciences,2001,58(11):1562-1571.
- [9] Hong Y G, Gu J, Xu Z C, et al. Humic substances act as electron acceptor and redox mediator for microbial dissimilatory azoreduction by *Shewanella decolorationis* S12 [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology,2007,17(3):428-437.
- [10] Van der Zee F P, Bouwman R H, Strik D P. Application of redox mediators to accelerate the transformation of reactive azo dyes in anaerobic bioreactors [J]. Biotechnology and Bioengineering,

2001,**75**(6):691-701.

[11] Santos A B, Cervantes F J, Lier J B. Azo dye reduction by thermophilic anaerobic granular sludge, and the impact of the redox mediator anthraquinone- 2,6-disulfonate (AQDS) on the reductive biochemical transformation [J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2004,**64**(1):62-69.

[12] Cervantes F J, Thu L V, Lettinga G, *et al.* Quinone-respiration improves dechlorination of carbon tetrachloride by anaerobic sludge [J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2004,**64**(5):702-711.

[13] Guo J, Kang L, Wang X, *et al.* Decolorization and degradation of azo dyes by redox mediator system with bacteria [A]. In: Erkurt Atacag H. Biodegradation of Azo Dyes [C]. The Netherlands: Springer, 2010. 85-100.

[14] 司伟磊,吕红,周集体,等. 聚氨酯泡沫固定化蒽醌强化偶氮染料生物脱色的研究 [J]. 高校化学工程学报,2009,**24**(3):498-502.

[15] Su Y Y,Zhang Y F,Wang J, *et al.* Enhanced bio-decolorization of azo dyes by co-immobilized quinone-reducing consortium and anthraquinone [J]. Bioresource Technology, 2009, **100**(12):2982-2987.

[16] 全向春,施汉昌,王建龙,等. 固定化氯酚降解菌强化 SBR 系统治理氯酚废水 [J]. 中国环境科学,2002,**22**(2):132-136.

[17] 王兰,廖丽华. 光合细菌固定化及对养殖水净化的研究 [J]. 卫生学杂志,2005,**25**(3):350-353.

[18] 王秀娟,张坤生,任云霞,等. 海藻酸钠凝胶特性的研究 [J]. 食品工业科技,2008,**29**(2):259-262.

[19] 彭松. 有机化学 [M]. 北京:科学出版社,2003. 202-256.

[20] 方连峰,王竞,周集体,等. 醌化合物强化偶氮染料的生物脱色 [J]. 中国环境科学,2007,**27**(2):174-178.