

DOI: 10.19741/j.issn.1673-4831.2020.0297

黄弘杨, 黄津津, 王国祥, 等. 纳米四氧化三铁强化海藻酸钠包埋希瓦氏菌 MR-1 的甲基橙脱色性能[J]. 生态与农村环境学报, 2021, 37(2): 217-223.

HUANG Hong-yang, HUANG Jin-jin, WANG Guo-xiang, et al. Enhanced Decolorization Capacity About Alginate Encapsulation System of *Shewanella oneidensis* MR-1 Mingled With Nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2021, 37(2): 217-223.

## 纳米四氧化三铁强化海藻酸钠包埋 希瓦氏菌 MR-1 的甲基橙脱色性能

黄弘杨<sup>1,2</sup>, 黄津津<sup>2</sup>, 王国祥<sup>2</sup>, 吴向阳<sup>1①</sup>, 沈楠<sup>2</sup>, 孙丽<sup>3</sup> (1. 江苏大学环境与安全工程学院, 江苏 镇江 212013; 2. 南京师范大学环境学院/江苏省水土环境生态修复工程实验室, 江苏 南京 210023; 3. 无锡市滨湖区水利局, 江苏 无锡 214071)

**摘要:** 希瓦氏菌 MR-1 可有效降解常用偶氮染料甲基橙(MO)等,但采用该方法实现高效深度的降解则需要较长的时间。利用海藻酸钠(SA)包埋希瓦氏菌 MR-1 和纳米四氧化三铁(Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)对 MO 脱色处理,探讨了包埋微球 SA、SA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>、SA/希瓦氏菌 MR-1 以及 SA/希瓦氏菌 MR-1/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的形态学、流变性以及机械强度等各方面性质,研究发现添加纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 不仅提高了海藻酸钠包埋希瓦氏菌 MR-1 对 MO 的脱色效率,而且提高了微球的机械强度,有利于 SA/希瓦氏菌 MR-1/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 微球的重复利用。同时研究和比较了包埋微球 SA、SA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>、SA/希瓦氏菌 MR-1 以及 SA/希瓦氏菌 MR-1/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 对 MO 脱色过程中 MO 的降解效率,并分析了 4 个循环利用过程中 MO 的脱色效率,结果表明所有循环过程中包埋微球 SA/希瓦氏菌 MR-1/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 对 MO 的脱色效率更高,而包埋微球 SA、SA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 对 MO 的脱色均是由于吸附作用造成的。第 4 个循环过程中,SA/希瓦氏菌 MR-1/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 微球在 1.75 h 的脱色效率为 77.83%,而 SA/希瓦氏菌 MR-1 微球的脱色效率为 53.19%。与 SA/希瓦氏菌 MR-1 微球相比,添加了纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的微球对 MO 的脱色效率更高,证实了纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的添加提高了电子传递效率。

**关键词:** 纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; 海藻酸钠包埋; 希瓦氏菌 MR-1; 偶氮染料甲基橙

**中图分类号:** X127 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-4831(2021)02-0217-07

**Enhanced Decolorization Capacity About Alginate Encapsulation System of *Shewanella oneidensis* MR-1 Mingled With Nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.** HUANG Hong-yang<sup>1,2</sup>, HUANG Jin-jin<sup>2</sup>, WANG Guo-xiang<sup>2</sup>, WU Xiang-yang<sup>1①</sup>, SHEN Nan<sup>2</sup>, SUN Li<sup>3</sup> (1. School of the Environmental and Safety Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. School of Environment/ Jiangsu Engineering Laboratory of Water and Soil Eco-Remediation, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China; 3. Water Resources Bureau of Binhu District, Wuxi 214071, China)

**Abstract:** *Shewanella oneidensis* MR-1 has been proved to be a potential bacterium to decolorize methyl orange (MO). Nevertheless, longer reaction time was needed to achieve higher decolorization efficiency. Thus, it's necessary to further improve the decolorization efficiency of azo dyes using *S. oneidensis* MR-1. The embedding of *S. oneidensis* MR-1 and nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> with sodium alginate (SA) is an ideal mode for efficient decolorization of MO. Morphology, rheology and mechanical strength were studied to better understand the decolorization capacity and recycle of the beads. The MO decolorization efficiency with SA, SA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, SA/*S. oneidensis* MR-1 and SA/*S. oneidensis* MR-1/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> beads was studied. Compared with the beads of SA/*S. oneidensis* MR-1, the decolorization efficiency with SA/*S. oneidensis* MR-1/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> was improved. After three cycles, 77.83% of decolorization capability could be recovered with beads of SA/*S. oneidensis* MR-1/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> while only 53.19% recovered with SA/*S. oneidensis* MR-1 at 1.75 h in cycle 4 under transverse condition, respectively. The addition of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> not only improved the decolorization capacity of beads of SA/*S. oneidensis* MR-1/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> but also increased the mechanical strength. This research would provide the feasibility for recycling of immobilized micro-

收稿日期: 2020-04-24

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07203003)

① 通信作者 E-mail: wuxy@ujs.edu.cn

al with higher efficiency and longer lifetime during wastewater treatment.

**Key words:** nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; embedding with sodium alginate; *Shewanella oneidensis* MR-1; azo dyes methyl orange

我国每年产生大量的印染废水,占全国总废水量的 10%,约为 7 亿 t<sup>[1]</sup>。在纺织工业中使用较为广泛的染料是偶氮染料,占全部染料用量的 2/3。偶氮染料的结构中含有一个或多个偶氮键(R—N≡N—R)<sup>[2]</sup>,能在特定条件下分解<sup>[3]</sup>。近年来生物法处理偶氮染料废水取得了很大的进展<sup>[4]</sup>。其中希瓦氏菌 MR-1 (*Shewanella oneidensis* MR-1) 具有强大的异化金属还原能力<sup>[5]</sup>,能够利用各种电子受体,包括 3 价铁<sup>[6]</sup>、有机化合物<sup>[7]</sup>、氧气<sup>[8]</sup>甚至一些偶氮染料<sup>[9]</sup>,它对偶氮染料的降解功能得到广泛关注。例如,10 μM 的阳离子红 X-GRL 在希瓦氏菌 MR-1 的作用下可以在 12 h 内完成脱色降解<sup>[10]</sup>。另外,100 mg · L<sup>-1</sup> 的刚果红在希瓦氏菌 MR-1 作用下可在 8 h 内完全脱色<sup>[11]</sup>。但以上过程反应时间较长,限制了其在实际污水处理过程中的应用。因此,提高希瓦氏菌 MR-1 对偶氮染料的降解效率十分必要。

希瓦氏菌 MR-1 的胞外电子转移是偶氮染料降解的限速步骤<sup>[12]</sup>。通过添加导电材料可以提高电子转移效率,是强化希瓦氏菌 MR-1 脱色效率的有效途径之一<sup>[13]</sup>。据报道,导电材料如碳纳米管<sup>[13]</sup>、石墨烯<sup>[14]</sup>、纳米磁铁矿<sup>[15]</sup>等常被用来加速电子转移效率。例如,添加 5 g · L<sup>-1</sup> 的碳纳米管希瓦氏菌 MR-1 还原硝基苯的效率提高了 74%<sup>[16]</sup>。因此,加入不同的导电材料可以加速希瓦氏菌 MR-1 向偶氮染料的电子转移效率,提高脱色效率。碳纳米管的加入虽然提高了脱色效率,但具有微生物密度低、不宜进行分离、使用周期短等缺点,仍然限制了其在工业上的应用。

固定化微生物技术可以把筛选出来的能降解特定物质的优势菌属固定在载体上,有效提高微生物密度,缩短反应时间,有利于提高污染物的去除率。隔离菌体与污染环境可缓解环境变化对水处理效果的影响,增大污水处理系统的稳定性和耐受性。固定化微生物技术根据微生物与载体之间的关系和相互作用分为 5 大类:包埋法、吸附法、交联法、共价结合法和复合固定化法。其中包埋法是最常用的方法。该技术使微生物截留在不溶于水的凝胶聚合物孔隙所构成的网络空间中,这种网络结构使微生物细胞在载体内部可以扩散但不能外泄,而且能让外部小分子底物渗入和内部微生物代谢产物排泄出去。包埋法的主要优点是技术操作简

单、对微生物活性影响较小、固定化颗粒强度高、可控制被固定微生物的种类和数量、固定化颗粒易于长期贮藏,因而成为水污染控制领域的研究热点<sup>[17]</sup>。相对于碳纳米管而言,纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 具有较好的可回收性,是一种环境友好的导电材料,而海藻酸钠(sodium alginate, SA)是常用的微生物包埋材料,将 SA、纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 和希瓦氏 MR-1 有机结合形成导电微球是一种理想的工业废水高效脱色体系。并且这种结合方式可以避免纳米磁铁矿泄漏到环境中,提高导电材料的利用效率。但海藻酸钠包埋希瓦氏菌 MR-1 和纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 制备微球对甲基橙(MO)的脱色效率如何,以及微球的重复利用性如何,目前尚无明确报道<sup>[17]</sup>。

综上所述,该研究的主要目的是:(1)考察复合微球的抗形变性、机械强度等,以期评价复合微球的重复利用性能,以及纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的添加对复合微球的重复利用性能的影响;(2)研究包含纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 及不包含纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的复合微球对 MO 的脱色性能,比较分析纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 是否能够提高希瓦氏菌 MR-1 向 MO 的电子转移效率,进而提高复合微球的脱色性能。

## 1 研究材料与方法

### 1.1 培养基的配制

肉汤培养基(LB 培养基)包括:5 g · L<sup>-1</sup> 酵母提取物,10 g · L<sup>-1</sup> 胰蛋白胨,10 g · L<sup>-1</sup> 氯化钠。基本培养基(MM)包括:2.24 g · L<sup>-1</sup> C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>Na, 5.85 g · L<sup>-1</sup> NaCl, 0.3 g · L<sup>-1</sup> NaOH, 0.097 g · L<sup>-1</sup> KCl, 11.91 g · L<sup>-1</sup> 4-羟乙基哌嗪乙磺酸, 1.498 g · L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>Cl, 0.67 g · L<sup>-1</sup> NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 1 mL 微量元素溶液,微量元素溶液包括:1.5 g · L<sup>-1</sup> N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>3</sub>, 30 g · L<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 5 g · L<sup>-1</sup> MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, 10 g · L<sup>-1</sup> NaCl, 1 g · L<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 1 g · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 1 g · L<sup>-1</sup> CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 1.3 g · L<sup>-1</sup> ZnCl<sub>2</sub>, 0.1 g · L<sup>-1</sup> CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O, 0.1 g · L<sup>-1</sup> AlK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>O, 0.1 g · L<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.25 g · L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 0.25 g · L<sup>-1</sup> NiCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 0.25 g · L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 希瓦氏菌 MR-1(ATCC 700550)的培养

将菌种接种到 LB 培养基中,置于 30 °C 摇床中

培养 12 h, 然后在高速离心机中以  $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 8 min (离心半径 16 cm), 倒出上清液, 菌体沉淀用 60 mL 的 MM 培养基重新悬浮并混匀, 待用。

### 1.2.2 纳米 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 的制备

100 mL 高纯水在  $\text{N}_2$  下氛围下加热到  $80\text{ }^\circ\text{C}$ , 添加 0.99 g  $\text{FeCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  和 2.7 g  $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  到水中, 待其完全溶解后加入 10 mL  $\text{NH}_4\text{OH}$  ( $w$  为 25%), 保持温度为  $80\text{ }^\circ\text{C}$ , 在  $\text{N}_2$  氛围下快速搅拌 30 min。形成的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米颗粒用磁铁收集, 并用高纯水清洗 4 次, 最后沉在高纯水中待用。

### 1.2.3 海藻酸钠微球的制备

共制备了 4 组不同的微球, 分别为 SA 微球 (ck1)、SA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球 (ck2)、SA/希瓦氏菌 MR-1 微球 (exp1)、SA/希瓦氏菌 MR-1/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球 (exp2)。制备步骤如下: (1) 用 50 mL 溶液和 1 g SA 制备 ck1; (2) 以含 1 g SA 和 30 mg 纳米  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的 50 mL 溶液制备 ck2; (3) 以含 1 g SA 的 40 mL 溶液与 10 mL 的希瓦氏菌 MR-1 悬浮液混合, 制备 exp1; (4) 用含 1 g SA 和 30 mg 纳米  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的 40 mL 溶液与 10 mL 的希瓦氏菌 MR-1 悬浮液混合, 制备 exp2。将 4 种混合物逐滴滴加到盛有  $w$  为 3%  $\text{CaCl}_2$  溶液的烧杯中, 制备出复合包埋微球。制备好的微球用高纯水洗 3 次后加入高纯水在烧杯中保存备用。所有种类的微球同时制备 3 份进行实验。

### 1.2.4 MO 的脱色实验

在 160 mL 的血清瓶中添加 60 mL 的 MM 培养基, 将制备得到的包埋微球转移到血清瓶中。加入 MO 溶液, 使瓶中的 MO 浓度为  $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。氮气吹扫 5 min 使其保持厌氧状态, 之后加橡皮塞和铝帽, 放入  $30\text{ }^\circ\text{C}$  摇床中, 保持转速为  $90\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

第 1 次取样在实验开始 0.25 h 时, 此后每 30 min 取样 1 次, 每次取样均为 2 mL。所有样品在 464 nm 下进行紫外-可见分光光度测试。脱色实验循环进行 4 次, 每次间隔约 18 h, 以每次的实验数据为 1 个周期进行分析; 每次实验结束后血清瓶仍放入  $30\text{ }^\circ\text{C}$  摇床中, 保持转速为  $90\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 下一次实验前取出更换新的 MO 模拟废水。4 次脱色实验均使用同一批制备出的微球。

### 1.2.5 指标测定

#### (1) 水凝胶流变性

采用 TA-AR2000 平行板 (CP 25-2) 流变仪, 两平板间距固定为 1 mm, 测试温度  $30\text{ }^\circ\text{C}$ 。水凝胶稳态流动行为在剪切速率为  $0.01\sim 50\text{ s}^{-1}$  范围内测量。动态流变行为测量之前, 首先在固定震动频率为 1 Hz 的条件下在  $0.01\sim 10$  的应变范围内进行应力扫

描以确定其限性粘弹区, 然后固定应变为 0.1 进行动态流变实验。

#### (2) 扫描电镜 SEM 测试

取表面和内部各一小块经预处理和冷冻干燥后的海藻酸钠微球置于导电胶上, 测试之前采用气相沉积的方法在样品表面喷金, 使样品导电。使用 JSM6700F 扫描电镜 (操作电压 5.0 kV) 进行观测。

#### (3) 机械强度测试

分别取 4 种海藻酸钠微球 ck1、ck2、exp1、exp2 放置于相同浓度的溶液中, 在室温下以  $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  的速率在磁力搅拌器上平稳持续搅拌, 转子规格  $10\text{ mm}\times 30\text{ mm}$ , 每隔 1 h 捞取微球观测破损率, 记录 4 种海藻酸钠微球完整存在的时间。

#### (4) 傅里叶转换红外光谱测试

将冷冻干燥的海藻酸钠微球进行红外光谱测定, 扫描范围  $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 。

#### (5) XRD 测试

对制备好的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  粉末用 X 射线衍射仪进行测试, 观察衍射峰出现的位置。测试条件:  $2\theta$  范围为  $10^\circ\sim 80^\circ$ 。

#### (6) 数据分析方法

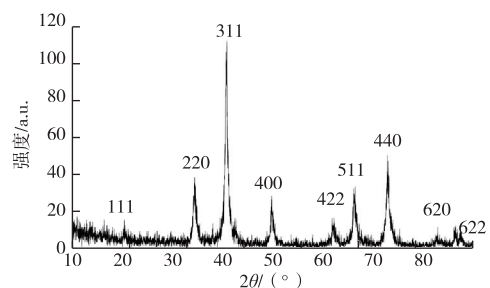
数据采用 Excel 2016 软件进行整理, 所有图形采用 Origin Pro 8.0 软件绘制。

## 2 结果与讨论

### 2.1 微球的表征结果

#### 2.1.1 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 的 XRD 分析

$\text{Fe}_3\text{O}_4$  特征峰的  $2\theta$  值为  $30.201^\circ$ 、 $35.487^\circ$ 、 $43.077^\circ$ 、 $57.123^\circ$ 、 $62.674^\circ$  (图 1)<sup>[17]</sup>, 通过水热法制备  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  较为成功。



图中数字为各个衍射峰对应的晶面和标准卡片序号。

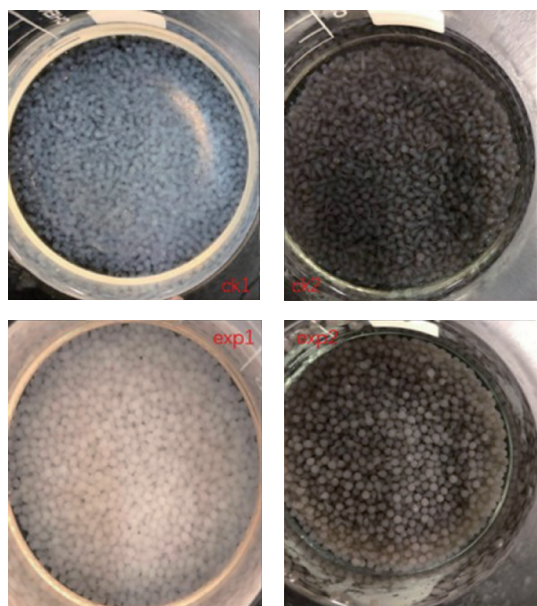
图 1  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的 XRD 分析

Fig. 1 XRD analysis of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$

#### 2.1.2 微球的形态

包埋微球平均粒径约  $2.0\sim 2.5\text{ }\mu\text{m}$ , 包埋颗粒可为微生物提供大量的有效接触和附着的比表面

积,且颗粒结构能够保护微生物免受水力的扰动和冲刷的影响。ck1 组中微球是 SA 微球,无色透明(图 2);exp1 组中微球是 SA 中掺杂希瓦氏菌 MR-1,颜色为乳白色;ck2 和 exp2 组中微球因为添加了导电材料  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  均呈黑色。4 组微球的形态相同,都是均匀球状颗粒,表明制备的包埋微球较为成功。



ck1—SA 微球,ck2—SA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球,exp1—SA/希瓦氏菌 MR-1 微球,exp2—SA/希瓦氏菌 MR-1/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球。

图 2 制备完成的包埋微球形貌  
Fig. 2 Morphology of prepared microspheres

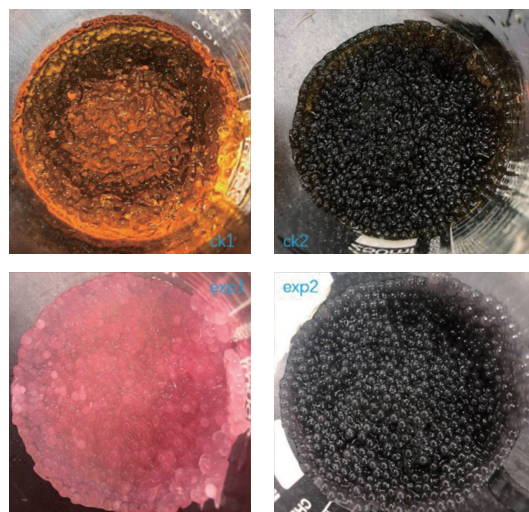
在 MO 脱色实验后观察可见,ck1 组中微球的颜色变为橙色,应该是由吸附甲基橙引起的;而 exp1 组中微球的粉红色是由 N,N-二乙基对苯二胺(DPD)氧化引起的,因为甲基橙可被希瓦氏菌 MR-1 降解为对氨基苯磺酸(4-ABA)和 DPD<sup>[4]</sup>,而 DPD 在暴露在空气中时可被氧化成粉红色<sup>[18]</sup>(图 3)。ck2 和 exp2 组中微球的颜色变化不明显,主要是因为添加的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  在微球中显黑色,覆盖了其他的颜色。

### 2.1.3 扫描电子显微镜(SEM)观测

对 4 组包埋微球的表面进行 SEM 观测,结果如图 4 所示。可以看到 ck1 和 ck2 组包埋微球样品的表面较为光滑,只有少量褶皱。添加了希瓦氏菌 MR-1 后,exp1 和 exp2 组包埋微球微观形貌要更饱满一些,褶皱较多,且有一些较为明显的凸起,应该是希瓦氏菌 MR-1 包裹在微球表面造成的。

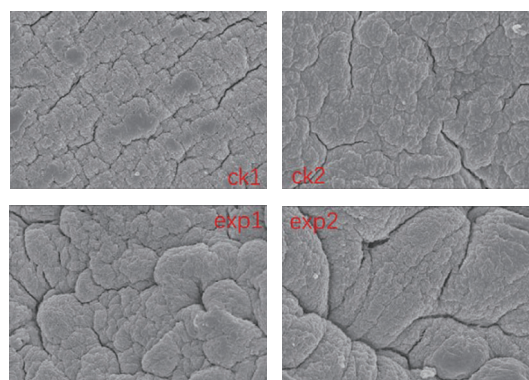
### 2.1.4 傅里叶红外光谱(FTIR)分析

如图 5 所示,4 组样品的 FTIR 谱图没有明显的区别。



ck1—SA 微球,ck2—SA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球,exp1—SA/希瓦氏菌 MR-1 微球,exp2—SA/希瓦氏菌 MR-1/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球。

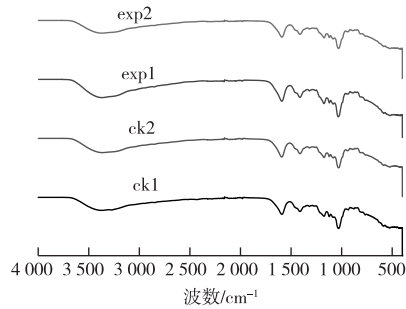
图 3 脱色实验完成后的包埋微球形貌  
Fig. 3 Morphology of microspheres after MO removal experiment



ck1—SA 微球,ck2—SA/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球,exp1—SA/希瓦氏菌 MR-1 微球,exp2—SA/希瓦氏菌 MR-1/ $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球。

图 4 4 组微球的 SEM 扫描图像  
Fig. 4 SEM images of four groups of microspheres

在  $3\ 340\ \text{cm}^{-1}$  处存在 1 个较强的吸收峰,该峰为羟基的伸缩振动峰,说明样品中含有大量的羟基。 $1\ 603\ \text{cm}^{-1}$  和  $1\ 402\ \text{cm}^{-1}$  处出现的 2 个特征峰分别为—COO—的反对称和对称伸缩振动峰, $1\ 210\ \text{cm}^{-1}$  处出现的特征峰为 C—O 或 C—H 的伸缩振动峰,在  $1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  左右出现的尖锐特征峰为 C—C 或 C—O—C 的伸缩振动峰<sup>[19]</sup>。从 FTIR 谱图可以看到 ck1、ck2、exp1 和 exp2 这 4 组样品的出峰位置基本一致,且峰型大致相同;对比 SA 的特征峰数值,4 个样品的红外特征峰完全符合,均为 SA 的特征峰。结果表明 SA、 $\text{Fe}_3\text{O}_4$  以及希瓦氏菌 MR-1 只是简单的物理结合,并没有化学反应的发生,所以没有官能团的变化且没有产生新的官能团。



ck1—SA 微球, ck2—SA/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 微球, exp1—SA/希瓦氏菌 MR-1 微球, exp2—SA/希瓦氏菌 MR-1/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 微球。

图5 4组微球的 FTIR 红外光谱

Fig. 5 FTIR infrared spectroscopy of four groups of microspheres

### 2.1.5 流变性测试

复数模量  $G^*$  指材料发生形变时抵抗形变的能量大小<sup>[20]</sup>, 可以用来表明抗形变性<sup>[21]</sup>。如图6所示, 在较低的应变条件下 ( $<0.01\%$ ), ck1 和 ck2 组微球的复数模量要大于 exp1 和 exp2 组微球, 希瓦氏菌 MR-1 的添加可能降低了微球的抗形变性。在较高应变条件下 ( $>0.01\%$ ), ck2 和 exp1 组微球的复数模量下降很快, 降低到了低于 exp2 组微球的程度。

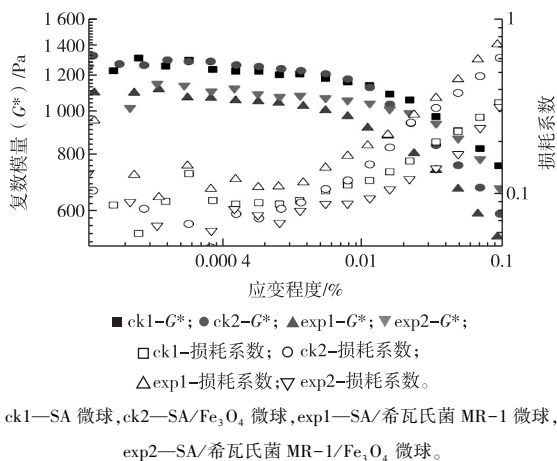


图6 应力扫描期间微球的复数模量 ( $G^*$ ) 和损耗系数 ( $\tan(\delta)$ ) 的变化

Fig. 6 Evolution of complex modulus ( $G^*$ ) and  $\tan(\delta)$  of four groups of microspheres during stress scanning

而 exp2 组微球的变化不大, 仍保持一个相对较高的数值, 可能因为纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 和微生物的共同作用维持了微球的抗形变性, ck2 组和 exp1 均没有这种效果。exp2 微球在较低的应力扫描期间 ( $<0.01\%$ ) 显示出最低的损耗系数和更好的固体性

质。因此, 根据流变性推测可知, 该研究中制备的 exp2 组微球在较高应变条件下 ( $>0.01\%$ ) 能维持自身性状, 抵抗外界压力产生的形变, 有利于重复使用。

### 2.1.6 机械强度测试

在机械搅拌条件下 4 组包埋微球的完整存在时间有较大差距。ck1 组包埋微球在连续搅拌 15 h 后开始破碎, 搅拌 18 h 后微球基本完全破碎; 而添加了 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的 ck2 组和 exp2 组的包埋微球完整存在时间均超过 7 d; 仅添加了希瓦氏菌的 exp1 组包埋微球完整存在时间为 3 d, 不如 ck2 和 exp2 组的完整存在时间长, 说明 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的加入极大增强了微球的机械强度, 有利于包埋微球的重复利用。添加 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的 ck2 组和 exp2 组的包埋微球机械强度的增加, 可能是由于 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 颗粒之间的磁性, 使合成包埋微球的物质之间的结合更为牢固。

### 2.2 MO 脱色实验

如图7所示, ck1 和 ck2 组的包埋微球对 MO 的脱色率极低, 2 种包埋微球对 MO 的脱色效率没有明显差距, 且均为吸附产生的效果, 表明纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 基本不吸附 MO。添加希瓦氏菌 MR-1 的 exp1 和 exp2 组包埋微球对 MO 的脱色效果较好, 表明希瓦氏菌 MR-1 具有较好的 MO 降解性能。在包埋微球重复利用过程中, exp1 组微球对 MO 的脱色率从第 1 循环的 100% 降低到第 4 循环的 53.19% 左右, 而 exp2 组的脱色率虽亦有所下降, 但在第 4 循环依然维持在 77.83%, 体现出添加纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 对 MO 脱色效率有明显提升作用。针对重复利用微球对 MO 进行脱色的过程中出现的脱色效率有所下降的现象, 之前的研究也出现了在重复利用微生物包埋微球的实验中希瓦氏 MR-1 对 Cr<sup>6+</sup> 的生物还原能力降低的结果<sup>[22]</sup>。原因可归结为以下 3 种情况: (1) 循环之间的间歇性饥饿可能会抑制希瓦氏菌 MR-1 的生物活性, 从而导致希瓦氏菌 MR-1 的 MO 脱色能力降低; (2) 此外, MO 及其代谢产物的毒性可能是另一个原因; (3) 添加了纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的 exp2 组中的包埋微球完整存在时间大于 7 d, 增强微球机械强度的同时也有利于减少希瓦氏菌 MR-1 从微球中流逝, 较高的希瓦氏菌数量也是该组脱色效率较高的原因之一。2 组微球在第 1 循环中的差距不大, 可能是此时希瓦氏菌的活性处于实验中的最高点, 随着实验的进行希瓦氏菌活性逐渐降低, 添加纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 加速电子转移, 提高了微球对 MO 的脱色性能。希瓦氏菌 MR-1 还原 Cr<sup>6+</sup> 和 MO 主要通过 CymA 和 Mtr 呼吸途径<sup>[15]</sup>, 碳纳米管的加入可以提

高该途径的电子传递效率<sup>[18]</sup>。其次,纳米  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  可能作为细胞外电子转移的桥梁,通过另一种未知的呼吸途径对 MO 进行脱色<sup>[22]</sup>。因此,exp2 组的希瓦氏菌 MR-1 或可通过上述 2 种途径对 MO 进行脱色

强化,而 exp1 组的希瓦氏菌 MR-1 只有 1 种脱色途径,因此 exp2 组的希瓦氏菌 MR-1 的脱色能力明显强于 exp1 组。

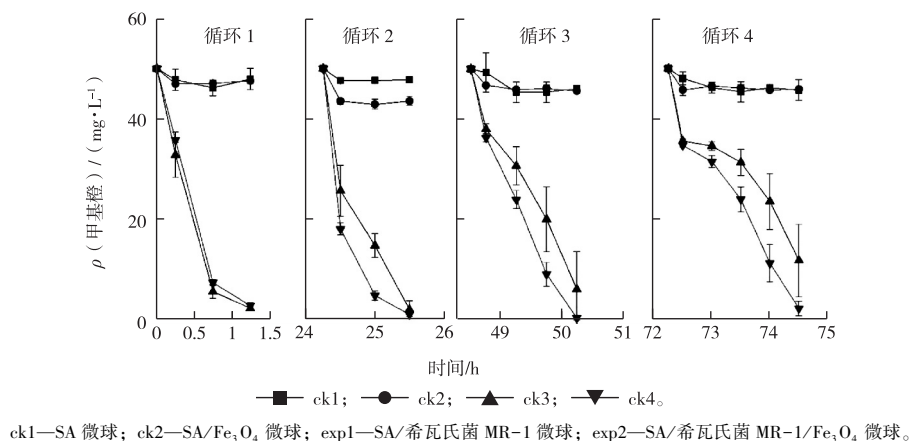


图 7 各组微球的 MO 脱色曲线

Fig. 7 MO removal curves of each group of microspheres

在包埋微球重复利用过程中对 exp1 和 exp2 组中 MO 的脱色效率进行比较,得到 4 个循环过程中经过相同反应时间的 MO 脱色效率(表 2)。在第 1 循环(0~1.25 h)过程中,经过 0.75 h 的反应时间,exp1 组和 exp2 组中  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MO 的脱色率分别是 89.06% 和 85.54%,2 组的脱色效率相近。与悬浮状态的希瓦氏菌 MR-1 对 MO 的脱色效率相比,在悬浮希瓦氏菌 MR-1 体系中  $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MO 进行脱色需要至少 6 h<sup>[3]</sup>。由此可知,该研究中研制的包埋微球对 MO 进行脱色的效率明显较高。在第 2 循环(24.25~25.50 h)过程中,经过 0.75 h 的反应时间(即 25 h)exp2 组中 MO 的脱色率为 90.71%,而 exp1 中 MO 的脱色率仅有 70.86%;经过 1.75 h 的反应时间(即 26 h),2 组中 MO 基本完全脱色。第 3 循环(48.50~50.25 h)过程中,经过 0.75 h 的反应时间(即 48.5 h),exp1 和 exp2 中 MO 的脱色率是 38.75% 和 52.31%,差值为 13.56%;经过 1.75 h 的反应时间(即 50.25 h),exp1 和 exp2 组中 MO 脱色率为 88.03% 和 99.41%,差值为 11.38%;在第 4 循环(72.25~74.50 h)过程中,经过 0.75 h 的反应时间(即 73 h),exp1 和 exp2 组中 MO 脱色率为 30.96% 和 37.19%,差值 6.23%;经过 1.75 h 的反应时间(即 73.50 h),exp1 和 exp2 组中 MO 脱色率为 53.19% 和 77.83%,差值 24.64%。以上结果均可以显示出添加  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  对 MO 脱色效率的提升作用。

表 1 exp1 和 exp2 组包埋微球对 MO 的脱色效率

Table 1 MO removal efficiency in groups of exp1 and exp2

反应时间/h	分组	第 1 循环/ %	第 2 循环/ %	第 3 循环/ %	第 4 循环/ %
0.75	exp1	89.06	70.86	38.75	30.96
	exp2	85.54	90.71	52.31	37.19
1.75	exp1			88.03	53.19
	exp2			99.41	77.83

### 3 结论

针对希瓦氏菌对偶氮染料进行脱色过程中脱色效率较低的关键问题,提出利用海藻酸钠包埋希瓦氏菌 MR-1 和纳米  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  对 MO 进行脱色处理,以提高其细胞密度和电子传递效率,进而提高对 MO 的脱色效率。通过比较 4 种包埋微球的形态学、流变性、机械强度以及脱色效率,得到以下结论:

(1)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的加入提高了微球的机械强度,有利于微球的重复利用,且对微球的形貌基本不产生影响,并且不会发生化学反应,不产生新的物质。

(2)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的加入加速了希瓦氏菌 MR-1 向 MO 转移电子的效率,从而提高了包埋微球对 MO 的脱色效率。

(3) 循环利用后续过程中出现的脱色效率下降问题有待进一步的探索,以提高微生物包埋微球的重复利用效率。

海藻酸钠包埋微球可以防止纳米材料泄漏到

自然环境中,是纳米材料应用于废水处理的理想途径。并且添加纳米导电材料可以改善细胞向污染物的电子转移效率,进而提高污染物处理效率。但是在实际的连续应用过程中,需要进一步提高海藻酸钠包埋微球的性能。

#### 参考文献:

- [1] YANG B, XU H, YANG S, *et al.* Treatment of Industrial Dyeing Wastewater With a Pilot-Scale Strengthened Circulation Anaerobic Reactor[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 264: 154-162.
- [2] XU H, YANG B, LIU Y B, *et al.* Recent Advances in Anaerobic Biological Processes for Textile Printing and Dyeing Wastewater Treatment: A Mini-Review[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2018, 34(11): 1-9.
- [3] LIU Y N, ZHANG F, LI J, *et al.* Exclusive Extracellular Bioreduction of Methyl Orange by Azo Reductase-Free *Geobacter Sulfurreducens*[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(15): 8616-8623.
- [4] SHEN N, HUO Y, CHEN J, *et al.* Decolorization by *Caldicellulosiruptor Saccharolyticus* With Dissolved Hydrogen Under Extreme Thermophilic Conditions[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 262: 847-853.
- [5] 谢韦, 齐于顺, 钱怀丽, 等. Pd/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性复合材料的生物合成及其催化性能研究[J]. *现代化工*, 2020, 40(5): 77-81. [XIE W, QI YS, QIAN HL, *et al.* Biosynthesis of Pd/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Magnetic Composite and Study on its Catalytic Performance [J]. *Modern Chemical Industry*, 2020, 40(5): 77-81.]
- [6] LIU G F, ZHOU J T, WANG J, *et al.* Decolorization of Azo Dyes by *Shewanella oneidensis* MR-1 in the Presence of Humic Acids[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 91(2): 417-424.
- [7] CAO D M, XIAO X, WU Y M, *et al.* Role of Electricity Production in the Anaerobic Decolorization of Dye Mixture by Exoelectrogenic Bacterium *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 136: 176-181.
- [8] LE LAZ S, KPEBE A, LORQUIN J, *et al.* H<sub>2</sub>-Dependent Azoreduction by *Shewanella oneidensis* MR-1: Involvement of Secreted Flavins and Both [Ni-Fe] and [Fe-Fe] Hydrogenases[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(6): 2699-2707.
- [9] LI Q, FENG X L, LU X R, *et al.* Combined Intra- and Extracellular Reduction Involved in the Anaerobic Biodecolorization of Cationic Azo Dye by *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *Chemosphere*, 2018, 211: 701-708.
- [10] 苏畅. 奥纳达希瓦氏菌重组表达偶氮还原酶及 *mtrA* 基因敲除研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2017.
- [11] LIU W J, LIU L, LIU C, *et al.* Methylene Blue Enhances the Anaerobic Decolorization and Detoxication of Azo Dye by *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2016, 110: 115-124.
- [12] MICHELSON K, ALCALDE R E, SANFORD R A, *et al.* Diffusion-Based Recycling of Flavins Allows *Shewanella oneidensis* MR-1 to Yield Energy From Metal Reduction Across Physical Separations [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(7): 3480-3487.
- [13] PENG L, YOU S J, WANG J Y. Carbon Nanotubes as Electrode Modifier Promoting Direct Electron Transfer From *Shewanella oneidensis* [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2010, 25(5): 1248-1251.
- [14] WANG J, WANG D, LIU G F, *et al.* Enhanced Nitrobenzene Biodegradation by Graphene-Anaerobic Sludge Composite [J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2014, 89(5): 750-755.
- [15] WANG T, ZHANG D, DAI L L, *et al.* Magnetite Triggering Enhanced Direct Interspecies Electron Transfer: A Scavenger for the Blockage of Electron Transfer in Anaerobic Digestion of High-Solids Sewage Sludge [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(12): 7160-7169.
- [16] YAN F F, HE Y R, WU C, *et al.* Carbon Nanotubes Alter the Electron Flow Route and Enhance Nitrobenzene Reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *Environmental Science and Technology Letters*, 2014, 1(1): 128-132.
- [17] CHHABRA M, MISHRA S, SREEKRISHNAN T R. Immobilized Laccase Mediated Dye Decolorization and Transformation Pathway of Azo Dye Acid Red 27 [J]. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 2015, 13(1): 1-9.
- [18] CAI P J, XIAO X, HE Y R, *et al.* Anaerobic Biodecolorization Mechanism of Methyl Orange by *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 93(4): 1769-1776.
- [19] TALBOT D, ABRAMSON S, GRIFFETE N, *et al.* pH-Sensitive Magnetic Alginate/ $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanoparticles for Adsorption/Desorption of a Cationic Dye From Water [J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2018, 25: 301-308.
- [20] MA Y J, XIA C W, YANG H Y, *et al.* A Rheological Approach to Analyze Aerobic Granular Sludge [J]. *Water Research*, 2014, 50: 171-178.
- [21] WANG H F, HU H, YANG H Y, *et al.* Characterization of Anaerobic Granular Sludge Using a Rheological Approach [J]. *Water Research*, 2016, 106: 116-125.
- [22] YAN F F, WU C, CHENG Y Y, *et al.* Carbon Nanotubes Promote Cr(VI) Reduction by Alginate-Immobilized *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2013, 77: 183-189.
- [23] 张伟宏, 宋圆圆, 张燕, 等. 还原型谷胱甘肽调控 *Shewanella oneidensis* MR-1 降解亚硝酸盐 [J]. *中国环境科学*, 2019, 39(6): 2437-2443. [ZHANG Wei-hong, SONG Yuan-yuan, ZHANG Yan, *et al.* The Regulated Characteristics and Mechanism of Tellurite Bioreduction by Reduced Glutathione (GSH) With *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *China Environmental Science*, 2019, 39(6): 2437-2443.]

作者简介: 黄弘杨(1991—),男,江苏南通人,主要从事污水生物处理与资源化。E-mail: 403532852@qq.com

(责任编辑: 陈 昕)