

腐殖质电化学特性及其介导的胞外电子传递研究进展*

蔡茜茜^{1,2} 袁勇^{2**} 胡佩¹ 周顺桂² 唐家桓²

¹四川师范大学化学与材料科学学院 成都 610066

²广东省生态环境与土壤研究所广东省农业环境综合治理重点实验室 广州 510650

摘要 腐殖质是环境中广泛存在的富含醌基、非均相的天然有机混合物,是土壤中的主要电活性物质,在环境微生物驱动的电子转移过程有重要作用.本文介绍了腐殖质氧化还原活性及其电子转移能力的表征方法,并详细对比了不同测定方法的优缺点;阐述了腐殖质介导的胞外电子传递过程,其本质是环境微生物以腐殖质作为电子受体,氧化环境中的有机小分子物质,并偶联能量的产生和支持菌体的生长,形成一种新型厌氧呼吸形式——腐殖质呼吸;腐殖质呼吸作用产生的还原态腐殖质可以还原环境中的一些氧化态污染物质,如重金属、有机污染物和有机染料等.此外,腐殖质也可以介导微生物与固体电极间的电子传递,从而促进生物电化学系统中的生物电流产生.由于腐殖质介导的微生物胞外电子传递机制复杂,未来将主要通过现代光学和蛋白组学等最新技术来研究微生物胞外电子传递过程以及其与腐殖质的相互作用机制;此外,采用醌基修饰等方法增强腐殖质的电子转移能力,有望加速其介导的微生物胞外电子传递过程,以便将其应用于实际环境修复.图3 参64

关键词 腐殖质;电化学活性;可逆;电子穿梭体;胞外电子传递;胞外呼吸
CLC Q939.9 : O646.54

Progress in study of humic substances: electrochemical redox characterization and extracellular respiration*

CAI Xiqi^{1,2}, YUAN Yong^{2**}, HU Pei¹, ZHOU Shungui² & TANG Jiahuan²

¹ College of Chemistry and Materials Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610066, China

² Guangdong Key Laboratory of Agricultural Environment Pollution Integrated Control, Guangdong Institute of Eco-environmental and Soil Sciences, Guangzhou 510650, China

Abstract Humic substances (HS) are ubiquitous heterogeneous mixtures of natural organic macromolecules in the environment. They are rich in quinone moieties that provide redox activity, which is recognized as the main electrochemical active substances in the soil and plays an important role in extracellular electron transfer driven by environmental microorganisms. In this paper, we reviewed the redox activity of HS, and summarized the methods to characterize the electron transfer capacity of HS. We also described the advantages and disadvantages of these different measuring methods. Meanwhile, we described the process of extracellular electron transfer mediated by HS. In such a process, HS can function as electron acceptors in the microbial oxidation of small organic matters, which is coupled by the energy production for cell growth. This process is called humus respiration. The reduced HS produced in the humus respiration can further reduce many environmental pollutants including heavy metals and organic pollutants and dyes. In addition, HS can even mediate the electron transfer between microbial cells and solid electrodes, promoting biocurrent generation in microbial electrochemical systems. Due to the complex mechanism of the extracellular electron transfer mediated by HS, the advanced optics and proteomics techniques will be applied to further probe the interaction between microbial cells and HS in near future. On the other hand, HS modified with electroactive moieties is expected to enhance their electron transfer capacity, which will promote the practical application of HS to environmental remediation.

Keywords humic substance; electrochemical redox activity; reversibility; electron shuttles; extracellular electron transfer; extracellular respiration

收稿日期 Received: 2015-07-22 接受日期 Accepted: 2015-09-06

*国家自然科学基金项目(21277035)、广东省杰出青年基金项目(2014A030306033)和广州市科技计划项目(201510010025)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (21277035), the Distinguished Young Scientists Foundation of Guangdong Province (2014A030306033) and the Science and Technology Program of Guangzhou (201510010025)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: yuanyong@soil.gd.cn)

腐殖质 (Humic substances, HS) 是水体、土壤中动植物残体经过长期的物理、化学、生物等作用转化而成的一类高分子化合物^[1], 是天然有机质 (Natural organic matter, NOM) 中重要的组成部分^[2]。由于腐殖质中含有多种官能团^[3], 因而腐殖质具有对金属离子的络合与螯合特性^[4]。在腐殖质中, 参与金属络合的官能团主要是羧基、酚羟基、羰基、氨基等; 参与金属螯合的官能团主要是烯醇基、氨基、环氧基、羧基等。近年来研究发现, 腐殖质因其结构中富含醌基、酚基等基团, 因而具有电化学活性, 在微生物的胞外呼吸过程中发挥重要作用。腐殖质可作为电子穿梭体介导微生物与胞外电子受体之间的电子传递, 该功能对环境重金属转化以及有机污染物降解等具有重要的环境意义。

腐殖质的结构与性质极其复杂, 电子转移能力的定量评价有助于了解腐殖质电化学特性与其结构特征的相关性。腐殖质有可溶和不溶等类型, 其介导微生物的胞外电子传递的能力与机制不同, 现阶段对可溶腐殖质的研究较多, 而对固态腐殖质研究较少。本文通过介绍和分析腐殖质的分类以及电子转移能力等电化学性质的分析, 归纳总结现阶段腐殖质电化学活性的测量及介导的胞外电子传递研究进展, 并出现阶段研究中存在的不足, 展望未来腐殖质电化学活性及其介导的胞外电子传递方面的研究方向。

1 腐殖质的分类

腐殖质占土壤有机质的85%-90%^[5], 根据在水中的颜色以及在水和碱液中的溶解度将腐殖质分为3种类型^[6]: (1) 不溶于碱也不溶于酸为腐黑物或胡敏素 (Humin, HM); (2) 溶于碱、在pH < 2的酸液中沉淀的为黑褐色胡敏酸或腐殖酸 (Humic acid, HA); (3) 酸碱都溶的低分子组分为富里酸或黄腐酸 (Fulvic acid, FA)。

1.1 腐殖酸

腐殖酸是腐殖质中所占比例最大的部分, 天然腐殖酸按来源主要分为土壤、水体和煤炭腐殖酸三类。土壤腐殖酸形成的原始物质以低等生物、动物残体、草本植物为主, 并且有矿物质参与其中, 土壤腐殖酸的50%-55%是由氨基酸、己糖胺、多环芳烃和含氧官能团构成^[7]; 水体腐殖酸形成的原始物质中低等生物所占比例较大, 因此水体腐殖酸的分子量较小^[8]; 煤炭腐殖酸形成的原始物质主要是高等植物 (以木本为主), 动物和矿物质参与较少, 目前, 煤炭腐殖酸商品化开发提取的原料为泥炭 (草炭)、褐煤和风化煤等^[9]。

1.2 胡敏素

土壤胡敏素是与黏土矿物质紧密结合的腐殖质物质^[10], 具有酸碱不溶及大分子结构的特性, 被认为是土壤中的惰性物质。在土壤腐殖质组分中, 胡敏素占有机碳、有机氮的绝大部分, 与土壤组分之间的相互联接主要依靠氢键和共价键^[11]。胡敏素的分子量大于腐殖酸分子, 含氧功能基主要包括羟基、酚羟基、醇羟基和甲氧基等^[12]。由于胡敏素的非溶解性和结构的复杂性, 目前国内外学者对于胡敏素结构特征的研究还很少。

1.3 富里酸

研究发现富里酸分子量较低, 与腐殖酸相比, 其分子结

构中含有的碳较少, 氧较多, 且其酸性官能团 (—COOH) 的含量也高于腐殖酸^[13]。此外, 富里酸含有的酮羰基和羟基的数量也高于腐殖酸, 因此, 相比于腐殖酸, 其在水溶液中具有较强的酸性^[14]。

2 腐殖质的电化学特性

2.1 腐殖质电子转移可逆性

腐殖质的氧化还原能力源于其结构中的氧化还原功能基团, 核磁共振^[15]、电子自旋共振^[16]和循环伏安法^[17]等现代化学分析技术证明醌类物质是腐殖质中重要的具有氧化还原活性组分^[16, 18-20]。如图1, 醌存在对位和邻位两种形式, 根据其氧化还原程度, 还原态为氢醌 (Hydroquinone, QH₂), 氧化态为醌 (Quinone, Q), 处于两者之间的为半醌自由基 (QH·), 氢醌、醌、半醌之间电子传递可逆。

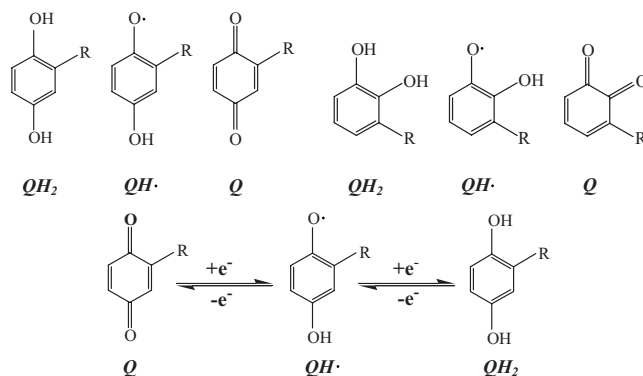


图1 醌的邻、对位结构及醌、半醌、氢醌之间电子传递可逆^[21]。

Fig. 1 Structure of para-quinones and ortho-quinones, and the reversibility of electron transfer between quinone, p-semiquinone radical and hydroquinone^[21].

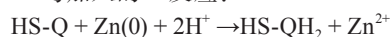
2.2 电子转移能力测定

腐殖质的电子转移能力 (Electron transfer capacity, ETC), 是指在一定的pH和氧化还原电势 E_h 下, 单位质量腐殖质的接受或供给电子的能力^[16, 22-23], 包括电子接受能力 (Electron accept capacity, EAC) 和电子供给能力 (Electron donor capacity, EDC)^[6], 常用的有化学法和电化学法。

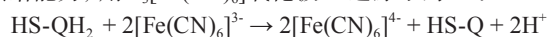
2.2.1 化学方法 通过腐殖质与加入的化学试剂发生氧化还原反应^[24-25], 根据反应平衡式或滴定氧化还原电势间接确定腐殖质的电子转移能力。

以Zn作还原剂、K₃[Fe(CN)₆]作氧化剂为例^[24]:

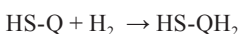
HS与加入的Zn反应:



为了测试腐殖质的电子转移可逆性, 即测量腐殖质的电子供给能力, 用K₃[Fe(CN)₆]氧化被Zn还原了的HS:



通过对产物的定量分析, 按照反应平衡式即可得到腐殖质的电子转移能力, 但是这种方法存在以下缺点: (1) 在测量中, Zn和H₂O会发生反应生成H₂, 而H₂本身是一种还原剂, 可以和HS发生如下反应, 影响EAC的测量:



因此, 用锌还原腐殖质的方法低估了腐殖质的电子接受能

力,并且Zn和H₂O发生反应会影响反应体系的 E_h 与pH,Z Struyk等人在25℃,pH分别为5和7的条件下测定来源不同的3种腐殖酸(河流、土壤、泥炭)的电子转移能力,3种腐殖酸的 E_h 在pH为5时为 (0.778 ± 0.017) V,pH每降低一个单位, E_h 降低 (-20.0 ± 3.2) mV^[18],pH的变化也会影响腐殖酸供给电子能力,pH=5时为 $1.09\text{--}6.5$ mol_e·kg⁻¹,pH=7时为 $3.3\text{--}11.5$ mol_e·kg⁻¹,因此,在这种情况下,很难准确确定EDC、EAC的值;(2)腐殖质和化学还原剂或氧化剂的反应速度很慢,腐殖质和Zn的反应大于24 h达到平衡^[16, 22-23],那么测得的EAC、EDC的值是否恰好是达到反应平衡的值很难确定;(3)化学还原剂的使用可能会导致腐殖质发生副反应,例如络合或共价修饰等,改变了腐殖质的化学组成与结构,从而给测量造成误差.

2.2.2 电化学方法 现代分析电化学研究中,测量腐殖质的电子转移能力的电化学方法包括直接电化学还原与介导电势测定法^[16, 22-23, 26].电化学方法以电极作为电子受体或供体代替化学方法中的化学还原剂或氧化剂.

(1) 直接电化学还原:直接电化学还原(Direct electrochemical reduction, DER)是以玻碳等为工作电极(Working electrode, WE),在恒定电位下,通过计时库仑法检测电极与HS间的电子转移量^[27].袁田等将类腐殖质物质加入磷酸缓冲液(Phosphate buffer solution, PBS)中,在氮气环境下用计时库仑法直接测量其电子转移能力,并且提出了测定电子循环能力的方法^[28].腐殖质的电子转移可逆效率(Electron reversible rate, ERR)可用下式^[29]衡量(n 为循环次数):

$$ERR = \frac{EAC_2 + EAC_3 + EAC_4 + \dots + EAC_n}{(n-1)EAC_1} \times 100\%$$

(2) 介导电势测定法:介导电势测定法(Mediated potentiometry, MP)包括介导的电化学还原(Mediated electrochemical reduction, MER)和电化学氧化(Mediated electrochemical oxidation, MEO),是指在恒定的氧化还原电势下,加入电子穿梭体间接测定腐殖质接受或供给电子的容量^[30].电子穿梭体可以介导工作电极与腐殖质之间的电子传递,快速且可逆.EAC、EDC测量中常使用的电子穿梭体分别为DQ(1,1'-乙撑-2,2'-联吡啶二溴盐)、MV(甲基紫精)和ABTS(2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐)、DCPIP(2,6-二氯酚靛酚)^[31].如图2,以加入DQ和ABTS作为穿梭体测量ETC为例,电子穿梭体通过穿梭于电极和腐殖质之间,不断发生氧化还原反应,加快了电极和腐殖质之间的电子转移,缩短了反应平衡时间.

将响应电流 I_{red} 、 I_{ox} 带入下式,得到EAC、EDC($F=96.485$ sA/mol_e,法拉第常数)^[26]:

$$EAC = \frac{\int \frac{I_{red}}{F} dt}{m_{HS}}$$

$$EDC = \frac{\int \frac{I_{ox}}{F} dt}{m_{HS}}$$

用MP法测量了不同的腐殖质的电子转移能力,发现腐殖质的电子转移能力与其芳香性呈正相关^[16, 23, 33],腐殖质的电子接受能力与醌基含量呈正相关^[31, 34],表明醌基为腐殖质

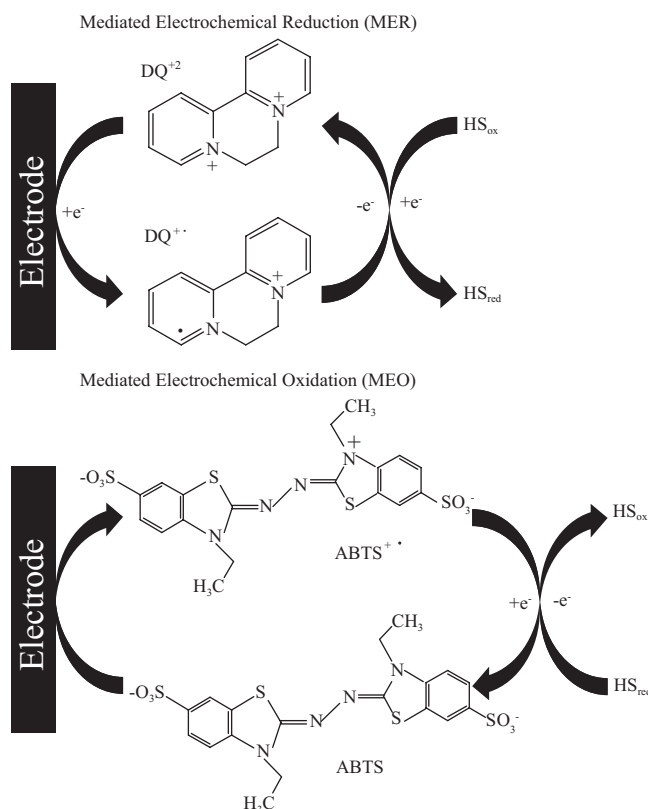


图2 DQ和ABTS作为电子穿梭体,在 $E_h = -0.49$ V和 $E_h = +0.61$ V用介导的电化学还原和电化学氧化法反应原理^[32].

Fig. 2 Schematic of mediated electrochemical reduction at $E_h = -0.49$ V and oxidation at $E_h = 0.61$ V using DQ and ABTS, respectively^[32].

中主要接受电子基团;腐殖质的电子供给能力与酚含量呈正相关^[35-37],表明酚为腐殖质中主要供给电子基团;腐殖质的电子供给能力随着氧化还原电势 E_h 和pH的增加而增加,表明腐殖质中含有可以在较宽范围的氧化还原电势下供给电子的基团,并且基团的氧化伴随着质子释放^[38];来源于水体中的腐殖质比土壤中腐殖质具有较高的电子供给能力、较低电子接受能力^[33],而土壤中腐殖质的前体木质素多于水体^[39],反映了木质素中具有高含量的酚基和低含量的醌基^[40-42];对比于相同来源的腐殖酸和富里酸,腐殖酸比富里酸有较高的电子接受能力(腐殖酸与富里酸的电子接受能力大致范围分别为 $920\text{--}1\,960$ μmol_e·g⁻¹、 $490\text{--}1\,050$ μmol_e·g⁻¹)^[33].

综上,相比于化学方法测定的电子转移能力,DER方法具有以下优点:(1)腐殖质在工作电极还原电位下被迅速还原,方法简单快速;(2)可同时检测还原反应过程中电子和质子的转移,控制溶液的pH、 E_h 的变化^[27];(3)以工作电极为腐殖质的还原提供电子,缺少化学还原剂可能造成的与腐殖质的络合和共价修饰作用^[43],对受测腐殖质不会造成污染.MP法测定腐殖质的电子转移能力可以精确控制反应的氧化还原电势 E_h ,使反应体系不受溶液pH的影响,反应中加入的电子穿梭体氧化态及还原态在工作电极通过不断发生氧化还原反应持续消耗与再生.因此MP法可以定量氧化还原反应的电子转移量,可判断氧化还原反应的可逆性及反应的可逆程度,并且可研究腐殖质的还原及再氧化的动力学过程.通过腐殖质的电子转移能力测量中的化学法与电化学方法

对比,得到以下启示:(1)化学方法测定腐殖质的电子转移能力的反应达到平衡时间较长^[22],因此得到的电子转移能力的结果低于真实值,这就解释了为什么用化学方法测定的腐殖质的电子转移能力比MP法测得的结果小;(2)腐殖质的电子转移伴随着质子的摄取与释放、 E_h 受pH影响强烈,这反映了溶液pH强烈影响了腐殖质电子转移的热力学,可通过精确控制或检测pH变化,测量腐殖质的电子转移,解释腐殖质氧化还原反应的动力学过程;(3)不同来源、化学组成不同的腐殖质在不同 E_h 和pH下的氧化还原基团的电子转移能力在未来应被研究。

3 腐殖质介导胞外电子传递研究进展

微生物胞外呼吸是指在厌氧条件下,微生物在胞内(彻底)氧化有机物释放电子,产生的电子经胞内呼吸链传递到胞外电子受体,并产生能量维持微生物自身生长的过程^[44]。微生物胞外呼吸电子传递的方式^[45]主要包括:(1)直接接触机制,即直接利用膜蛋白或细胞表面附属物——“纳米导线(Nanowires)”^[46]将电子传递至受体;(2)间接传递机制(电子穿梭体介导机制),即微生物自身分泌氧化还原物质(内生介体)或人为加入的氧化还原物质(外源介体),接受来自微生物的电子,传递给胞外受体后,以氧化态返回再次接受来自微生物的电子,如此往返穿梭于微生物与胞外电子受体之间,介导电子的传递。相比于需要通过微生物功能蛋白与胞外电子受体接触才能发生的直接电子传递,间接电子传递可通过电子穿梭体加速电子传递,有效提高了微生物胞外电子传递效率,因此电子穿梭体对特定环境下终端电子受体的循环有着极其显著的作用。具备高氧化还原活性的人工电子中介体有甲基紫精、蒽醌-2,6-二磺酸钠和中性红等。腐殖质是天然的电子中介体,能有效地加速电子在微生物和电子受体之间的传递,使反应速率增大一到几个数量级^[47]。

腐殖质介导的胞外电子传递研究分为可溶性腐殖质和

不溶性腐殖质两部分,可溶性腐殖质包括在溶液(酸性、中性或碱性)中可溶部分的腐殖酸、富里酸,不溶性腐殖质是在任何pH条件下都不溶的胡敏素。它们都具有一定的电学活性,能够在微生物胞外电子传递中作为电子穿梭体发挥一定的介导作用。

3.1 可溶性腐殖质介导的胞外电子传递

腐殖质的研究历史多于两百年,但是对于其结构与性质依然存在很多未知^[48-49],因此在对可溶性腐殖质的氧化还原活性以及电子转移能力等相关研究中,也会使用其他醌类物质作模式物进行相关研究^[49],例如AQDS(蒽醌-2,6-二磺酸)、NQSA(1,2-萘醌-4-磺酸盐)、BQ(1,4-苯醌)、NQ(1,4-萘醌)、AQCA(蒽醌-2-羧酸盐)、AQS(蒽醌-2-磺酸钠)、AQC(蒽醌-2-羧酸)、LQ(羟基萘醌)等^[50]。图3中列出了国际腐殖质协会(International Humic Substances Society, IHSS)两种标准腐殖质SRHA(Suwannee River humic acids)、LHA(Leonardite humic acid)和几种类腐殖质物质的 E_h 分布,以及由微生物胞外呼吸偶联的氧化还原反应的 E_h 和几种典型的有机、无机污染物降解的 E_h 分布。由图可知,腐殖质由于其涵盖宽的 E_h 范围,可以介导多种氧化还原反应。

3.1.1 介导重金属还原反应 武春媛等发现嗜碱菌 *Corynebacterium humireducens* MFC-5在腐殖质及类腐殖质物质的介导下可以有效加速针铁矿(α -FeOOH)的还原,且还原生成的Fe(II)的浓度随着腐殖质及类腐殖质的电子接受能力的增加而增加,腐殖酸和富里酸作电子穿梭体可降解2,4-二氯苯氧乙酸,14 d内降解率分别为26.4%、38.7%^[51]。王秀娟在用LQ研究其对Se、Te介导还原实验中发现腐殖质类物质可显著增强 *E. coli* K12对Se(IV)、Te(IV)的还原效果,在无外加介体的情况下, *E. coli* K12在8 h内仅能还原6.1%的Se(IV)和9.0%的Te(IV),而加入0.2 mmol/L的LQ后,8 h内Se(IV)和Te(IV)的还原速率分别提高了93%和87.4%^[52]。B. Kavita等发现 *Bacillus* sp. BT1在AQS存在下可增加Cr(VI)的还原效率, Cr(VI)的原始浓度100、200和300 mg/L,无外加穿梭体时,

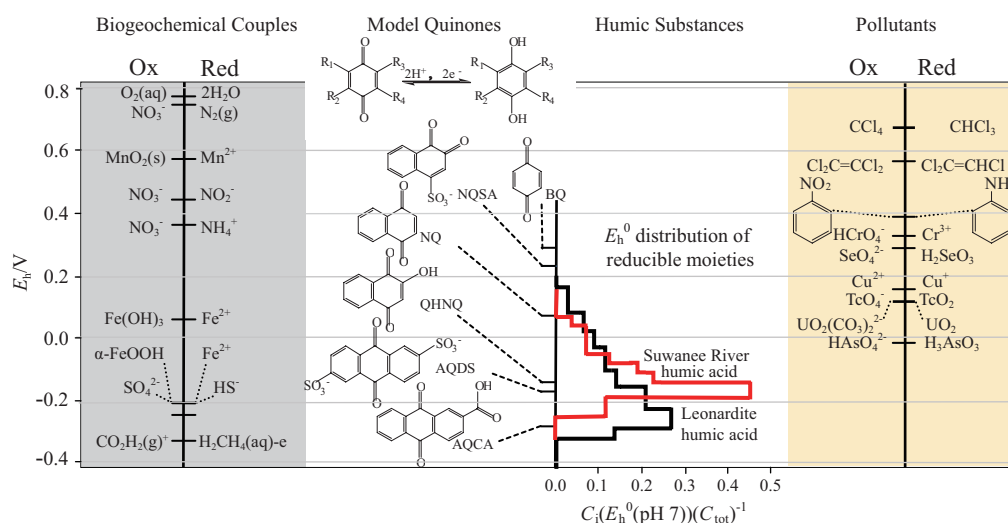


图3 两种腐殖酸以及几种醌类模式物单位总有机碳在pH 7时氧化还原电势 E_h 分布及可能介导的氧化还原反应的氧化还原电势分布^[39]。

Fig. 3 Estimated distributions of apparent standard reduction potentials at pH7 of two humic substances and model quinones, and the E_h^0 (pH7) of selected biogeochemical and pollutant redox couples^[39].

Bacillus sp. BT1还原Cr(VI)的速率分别为0.74、0.61、0.041 mg L⁻¹ h⁻¹, 加入浓度为1 mmol/L的AQS后, *Bacillus* sp. BT1还原Cr(VI)的速率分别为4.03、1.53、1.64 mg L⁻¹ h⁻¹ [53].

3.1.2 介导有机物的降解及染料脱色 Calaudia M等用升流式厌氧污泥床(Upflow anaerobic sludge blanket, UASB)处理印染废水(含苯酚及活性红2), 在厌氧污泥中加入腐殖质作为氧化还原中介体后, 活性红2脱色速率增加90%, 苯酚氧化率增加75% [54]. 王弋博等以*Comamonas koreensis* CY01为研究对象, 探索在厌氧条件下AQDS介导的2,4-D(2,4-二氯苯氧乙酸)微生物还原脱氯过程的影响, 发现AQDS加速了2,4-D还原脱氯降解 [55]. 柳广飞等发现*Shewanella oneidensis* MR-1在AQDS存在下可以加速苏丹红一号染料脱色, 浓度10、50和100 μmol/L的AQDS在10 h之后对苏丹红一号的去除效率分别为26.4%、42.8%、54.9%, 苏丹红一号的去除效率与一定浓度范围内的AQDS的浓度呈正比 [56]; 之后, 他又发现100 μmol/L的AQS可以提高*Shewanella oneidensis* MR-1还原石墨烯的速率1.6-2.8倍 [57].

3.1.3 生物电化学系统中作电子穿梭体促进生物电流产生

Lowy等人在沉积物燃料电池中以石墨为工作电极, 在沉积物中掺杂AQDS, 发现AQDS促进了电流的产生, 增加幅度达5倍 [58]. 李晓敏等 [59-60] 用*Shewanella decolorationis* S12和*Aeromonas hydrophila* HS01两种铁还原菌研究类腐殖质对针铁矿还原过程中的作用, 发现类腐殖质在氧化还原电位为-344 ~ -137 mV(相对于标准氢电极, pH 7)对Fe(III)的还原具有加速作用, 其中*Shewanella decolorationis* S12和*Aeromonas hydrophila* HS01在外加AQC后还原Fe(III)的效率分别增加了3倍、4倍 [59]; 之后她用直接电化学还原法测得AQC的EAC、EDC分别为487.8 mmol e⁻(mol AQC)⁻¹、470.2 mmol e⁻(mol AQC)⁻¹, 以它作电子穿梭体, *Klebsiella pneumoniae* L17以纤铁矿作为电子受体时, Fe(III)还原速率增加7倍, 以电极作为电子受体时, 电流从0.16 mA迅速增加到0.28 mA [60].

3.2 固态腐殖质介导的胞外电子传递

虽然固态腐殖质(胡敏素)分子量和基团组成与腐殖酸差别较大, 但是其同样可以作为电子传递中介体介导微生物与胞外电子受体的电子传递. 研究发现, 胡敏素作为电子穿梭体能够加速污染物的还原转化, 包括五氯酚(PCP)的脱氯、针铁矿异化还原、硝酸盐还原等, 其提供电子能力分别为0.013、0.15、0.30 mmol e⁻ g⁻¹ [61]. Zhang等从水稻土和底泥沉积物中提取了胡敏素, 发现它们能够作为电子穿梭体参与微生物的胞外电子转移, 并且偶联微生物还原PCP脱氯 [62]; 在生物电化学系统中, Zhang等将胡敏素固定在石墨电极, 并且加以-500 mV的电压(相比于标准氢电极), 发现固态腐殖质有效增加微生物对PCP的还原脱氯作用, 对比与加入溶解态的电子穿梭体, 固态腐殖质具有更高还原脱氯效率(Cl⁻/humins, 116 μmol g⁻¹ d⁻¹) [63]. 综上, 胡敏素作为腐殖质中的一部分在污染物降解过程中有重大作用, 在未来腐殖质作为电子中介体的研究中不能被忽略.

4 展望

腐殖质介导环境污染物的转化极有可能是影响污染物

环境行为及生物效应的重要机制之一, 也是污染物在天然环境中消减和解毒的重要途径 [64], 具有重要的环境意义. 未来的研究重点应注重解决如下问题: (1) 腐殖质介导的微生物胞外电子传递机制尚未明晰, 需要借助原子力显微镜、透射电镜、荧光光谱等先进的技术以更清楚地揭示腐殖质对污染物生物转化影响的微观机制. (2) 腐殖质中醌基是重要的具有电化学活性的基团, 醌基的含量与电子转移能力成正比. 因此, 对腐殖质进行醌基修饰, 增强腐殖质的电子转移能力, 加速介导反应速率也是新的研究方向. (3) 现阶段研究中, 对于固态腐殖质的研究甚少, 溶解态腐殖质与固态腐殖质在结构及功能上存在很大差异, 固态腐殖质电子转移能力及介导胞外电子传递机制应被进一步研究. (4) 腐殖质介导胞外电子传递能影响地球元素的循环, 如何将其扩大应用于实际污染物处理中, 需要多学科参与, 也是今后研究重点.

参考文献 [References]

- Mcknight DM, Boyer EW, Westerhoff PK, Doran PT, Kulbe T, Andersen DT. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity [J]. *Limnol Oceanogr*, 2001, **46**: 38-48
- Ning P, Wang HB, Pan B, Bart HJ, Yang M. Isolation and sorption behavior of humic acid from Zhongdian Peat of Yunnan Province [J]. *Pedosphere*, 2009, **19**: 606-614
- 牛育华, 李仲谨, 郝明德, 余丽丽, 朱雷. 腐殖酸的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, **36**: 4638-4639 [Niu YH, Li ZJ, Hao MD, Yu LL, ZHU L. Research development of humic acid [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2008, **36**: 4638-4639]
- 栾富波, 谢丽, 李俊, 周琪. 腐殖酸的氧化还原行为及其研究进展 [J]. 化学通报, 2009, **71** (11): 833-837 [Luan FB, Xie L, Li J, Zhou Q. Redox behavior and research progress of humic acid [J]. *Chemistry*, 2009, **71** (11): 833-837]
- 崔恒钊, 王育来, 邹丽敏, 李建华. 河岸带土壤溶解有机质垂直分布及其影响因素研究[J]. 环境科学与技术, 2015, **38** (6): 8-13 [Cui HZ, Wang YL, Zou LM, Li JH. Vertical distribution and impact factors of soil dissolved organic matter in riparian zones [J]. *Environ Sci Technol*, 2015, **38** (6): 8-13]
- Schinner F, Öhlinger R, Kandeler E, Margesin R. Methods in Soil Biology [M]. New York: Springer-Verlag, 2012
- Dell'Agnola G, Ferrari G. Molecular sizes and functional groups of humic substances extracted by 0.1 M pyrophosphate from soil aggregates of different stability [J]. *J Soil Sci*, 1971, **22** (3): 342-349
- Peretyazhko T, Sposito G. Reducing capacity of terrestrial humic acids [J]. *Geoderma*, 2006, **137** (1-2): 140-146
- 曾宪成, 成绍鑫. 腐植酸的主要类别[J]. 腐植酸, 2002, **2** (4): 6 [Zeng XC, Cheng SX. The major items of humic acid [J]. *Humic Acid*, 2002, **2** (4): 6]
- 窦森. 土壤有机质[M]. 北京: 科学出版社, 2010 [Dou S. Soil Organic Matter [M]. Beijing: Science Press, 2010]
- 窦森, 肖彦春, 张晋京. 土壤胡敏素各组分数量及结构特征初步研究[J]. 土壤学报, 2006, **43** (6): 934-930 [Dou S, Xiao YC, Zhang JJ. Quantities and structural characteristics of various fractions of soil humin [J]. *Acta Pedol Sin*, 2006, **43** (6): 934-940]
- Rice JA. Humins [J]. *Soil Sci*, 2001, **166** (11): 848-857

- 13 赵波. 腐殖酸分子中与多环芳烃作用的核心官能团研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2009 [Zhao B. Study on the interaction between the core functional group of humic acid and polycyclic aromatic hydrocarbons [D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture and Technology, 2009]
- 14 李会杰. 腐殖酸和富里酸的提取与表征研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2012 [Li HJ. Study on extraction and characterization of HA and FA [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2012]
- 15 Thorn KA, Arterburn JB, Mikita MA. Nitrogen-15 and carbon-13 NMR investigation of hydroxylamine-derivatized humic substances [J]. *Environ Sci Technol*, 1992, **26** (1): 107-116
- 16 Scott DT, McKnight DM, Blunt-Harris EL, Kolesar SE, Lovley DR. Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics-reducing microorganisms [J]. *Environ Sci Technol*, 1998, **32**: 2984-2989
- 17 Nurmi JT, Tratnyek PG. Electrochemical properties of natural organic matter (NOM), fractions of NOM, and model biogeochemical electron shuttles [J]. *Environ Sci Technol*, 2002, **36**: 617-624
- 18 Struyk Z, Sposito G. Redox properties of standard humic acids [J]. *Geoderma*, 2001, **102**: 329-346
- 19 McKnight D, Hood E, Klapper L. Trace organic moieties of dissolved organic material in natural waters [J]. *Aquat Ecol*, 2002: 71
- 20 Cory RM, McKnight DM. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, **39**: 8142-8149
- 21 Uchimiya M, Stone AT. Reversible redox chemistry of quinones: Impact on biogeochemical cycles [J]. *Chemosphere*, 2009, **77** (4): 451-458
- 22 Bauer M, Heitmann T, Macalady DL, Blodau C. Electron transfer capacities and reaction kinetics of peat dissolved organic matter [J]. *Environ Sci Technol*, 2007, **41**: 139-145
- 23 Ratasuk N, Nanny MA. Characterization and quantification of reversible redox sites in humic substances [J]. *Environ Sci Technol*, 2007, **41** (22): 7844-7850
- 24 Blodau C, Bauer M, Regenspurg S, Macalady D. Electron accepting capacity of dissolved organic matter as determined by reaction with metallic zinc [J]. *Chem Geol*, 2009, **260** (3): 186-195
- 25 Heitmann T, Blodau C. Oxidation and incorporation of hydrogen sulfide by dissolved organic matter [J]. *Chem Geol*, 2006, **235** (1): 12-20
- 26 Kappler A, Haderlein SB. Natural organic matter as reductant for chlorinated aliphatic pollutants [J]. *Environ Sci Technol*, 2003, **37** (12): 2714-2719
- 27 Aeschbacher M, Sander M, Schwarzenbach RP. Novel electrochemical approach to assess the redox properties of humic substances [J]. *Environ Sci Technol*, 2010, **44** (1): 87-93
- 28 Yuan T, Yuan Y, Zhou SG, Li FB, Zhi L, Zhuang L. A rapid and simple electrochemical method for evaluating the electron transfer capacities of dissolved organic matter [J]. *J Soils Sediment*, 2011, **11**: 467-473
- 29 Yong Y, Tao Y, Zhou SG, Yuan T, Lu Q, He J. Electron transfer capacity as a rapid and simple maturity index for compost [J]. *Bioresour Technol*, 2012, **116**: 428-434
- 30 Aeschbacher M, Vergari D, Schwarzenbach RP, Sander M. Electrochemical analysis of proton and electron transfer equilibria of the reducible moieties in humic acids [J]. *Environ Sci Technol*, 2011, **45** (19): 8385-8394
- 31 Gamage RS, McQuillan AJ, Peake BM. Ultraviolet-visible and electron paramagnetic resonance spectroelectrochemical studies of the reduction products of some anthraquinone sulphonates in aqueous solutions [J]. *J Chem Soc*, 1991, **87** (22): 3653-3660
- 32 Aeschbacher M. Electrochemical Redox Characterization of Humic Substances [M]. Zürich: ETH, 2011
- 33 Klüpfel L, Piepenbrock A, Kappler A, Sander M. Humic substances as fully regenerable electron acceptors in recurrently anoxic environments [J]. *Nat Geosci*, 2014, **7** (3): 195-200
- 34 Nurmi JT, Tratnyek PG. Electrochemical properties of natural organic matter (NOM), fractions of NOM, and model biogeochemical electron shuttles [J]. *Environ Sci Technol*, 2002, **36**: 617-624
- 35 Rimmer D, Smith A. Antioxidants in soil organic matter and in associated plant materials [J]. *Eur J Soil Sci*, 2009, **60** (2): 170-175
- 36 Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? [J]. *Lancet*, 1994, **344** (8924): 721-724
- 37 Rimmer DL, Abbott G. Phenolic compounds in NaOH extracts of UK soils and their contribution to antioxidant capacity [J]. *Eur J Soil Sci*, 2011, **62** (2): 285-294
- 38 Canonica S, Tratnyek PG. Quantitative structure-activity relationships for oxidation reactions of organic chemicals in water [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2003, **22** (8): 1743-1754
- 39 Hoigné J, Bader H. Kinetics of reactions of chlorine dioxide (OCIO) in water—I. Rate constants for inorganic and organic compounds [J]. *Water Res*, 1994, **28** (1): 45-55
- 40 Peretyazhko T, Sposito G. Reducing capacity of terrestrial humic acids [J]. *Geoderma*, 2006, **137** (1-2): 140-146
- 41 Argyropoulos DS, Zhang L. Semiquantitative determination of quinonoid structures in isolated lignins by ³¹P nuclear magnetic resonance [J]. *J Agric Food Chem*, 1998, **46** (11): 4628-4634
- 42 Matthiessen A. Humic substances in the global environment and implications on human health [M]. Italy: Applied Soil Ecology, 1994, 187-192
- 43 Felix M, Iso C, Ruben K. Reduction and reoxidation of humic acid: influence on spectroscopic properties and proton binding [J]. *Environ Sci Technol*, 2010, **44** (15): 5787-5792
- 44 沈萍, 陈向东, 卫扬保. 微生物学[M]. 武汉: 高等教育出版社, 2009 [Shen P, Chen XD, Wei YB. Microbiology [M]. Wuhan: Higher Education Press, 2009]
- 45 唐家桓, 刘毅, 周顺桂, 袁勇. 电话性生物膜: 形成、表征及应用[J]. 应用与环境学报, 2014, **20** (6): 1096-1103 [Tang JH, Liu Y, Zhou SG, Yuan Y. Electrochemically active biofilms: formation, characterization and application [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2014, **20** (6): 1096-1103]
- 46 Mehta T, Coppi MV, Childers SE, Lovley DR. Outer membrane c-type cytochromes required for Fe (III) and Mn (IV) oxide reduction in *Geobacter sulfurreducens* [J]. *Appl Environ Microb*, 2005, **71** (12): 8634-8641
- 47 Gu B, Chen J. Enhanced microbial reduction of Cr (VI) and U (VI) by different natural organic matter fractions [J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 2003, **67** (19): 3575-3582
- 48 Sutton R, Sposito G. Molecular structure in soil humic substances: the new view [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, **39** (23): 9009-9015
- 49 Hernández-Montoya V, Alvarez LH, Montes-Morán MA, Cervantes FJ. Reduction of quinone and non-quinone redox functional groups in different humic acid samples by *Geobacter sulfurreducens* [J]. *Geoderma*, 2012, **183**: 25-31

- 50 Curtis GP, Reinhard M. Reductive dehalogenation of hexachloroethane, carbon tetrachloride, and bromoform by anthrahydroquinone disulfonate and humic Acid [J]. *Environ Sci Technol*, 1994, **28** (9): 84
- 51 Wu CY, Zhuang L, Zhou SG, Yuan Y, Yuan T, Li FB. Humic substance-mediated reduction of iron(III) oxides and degradation of 2,4-D by an alkaliphilic bacterium, *Corynebacterium humireducens* 61MFC-5 [J]. *Microb Biotechnol*, 2012, **6**: 141-149
- 52 王秀娟. 腐殖质类物质对Se/Te及偶氮染料的介导还原研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2011 [Wang XJ. The mediated reduction of Se/Te and Azo Dye by humic-like substances [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2011]
- 53 Kavita B, Keharia H. Anthraquinone 2-sulfonic acid-mediated reduction of Cr(VI) by *Bacillus* sp. BT1 [J]. *Desalin Water Treat*, 2013, **53**(1): 221-229
- 54 Martinez CM, Celis LB, Cervantes FJ. Erratum to: Immobilized humic substances as redox mediator for the simultaneous removal of phenol and Reactive Red 2 in a UASB reactor [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, **97**: 9907
- 55 王弋博, 武春媛, 周顺桂. 腐殖质在 *Comamonas koreensis* CY01介导的2,4-二氯苯氧乙酸还原脱氯过程中的作用[J]. 草业学报 2011, **20** (1): 248-252 [Wang YB, Wu CY, Zhou SG. Effect of humic substances on the reductive dechlorination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by *Comamonas koreensis* CY01 [J]. *Acta Pratac Sin*, 2011, **20** (1): 248-252]
- 56 Liu G, Zhou J, Ji Q, Jing W, Jin R, Hong L. Accelerated removal of Sudan dye by *Shewanella oneidensis* MR-1 in the presence of quinones and humic acids [J]. *World J Microb Biot*, 2013, **29**: 1723-1730
- 57 Liu GF, Zhang X, Zhou JT, Wang AJ, Wang J, Jin RF, Lv H. Quinone-mediated microbial synthesis of reduced graphene oxide with peroxidase-like activity [J]. *Bioresource Technol*, 2013, **149**: 503-508
- 58 Reimers CE, Tender LM, Fertig S, Wang W. Harvesting energy from the marine sediment-water interface [J]. *Environ Sci Technol*, 2001, **35**: 192-195
- 59 Li XM, Liu TX, Liu L, Li FB. Dependence of the electron transfer capacity on the kinetics of quinone-mediated Fe(III) reduction by two iron/humic reducing bacteria [J]. *Rsc Adv*, 2013, **4**: 2284-2290
- 60 Li XM, Liu L, Liu TX, Yuan T, Zhang W, Li FB, Zhou SG, Li YT. Electron transfer capacity dependence of quinone-mediated Fe(III) reduction and current generation by *Klebsiella pneumoniae* L17 [J]. *Chemosphere*, 2013, **92**: 218-224
- 61 Zhang D, Zhang C, Xiao Z. Humin as an electron donor for enhancement of multiple microbial reduction reactions with different redox potentials in a consortium [J]. *J Biosci Bioeng*, 2014, **119** (2): 188-194
- 62 Zhang C, Katayama A. Humin as an electron mediator for microbial reductive dehalogenation [J]. *Environ Sci Technol*, 2012, **46**: 6575-6583
- 63 Zhang D, Zhang C, Li Z, Suzuki D, Komatsu DD, Tsunogai U, Katayama A. Electrochemical stimulation of microbial reductive dechlorination of pentachlorophenol using solid-state redox mediator (humin) immobilization [J]. *Bioresource Technol*, 2014, **164** (7): 232-240
- 64 陈蕾, 超峰, 王郑, 曹世玮. 天然有机质对环境污染物的转化过程的介导作用[J]. 生态环境学报, 2013, **22** (7): 1244-1249 [Chen L, CHao F, Wang ZH, Cao SW. Transformation of environmental pollutants mediated by natural organic matter [J]. *Ecol Environ*, 2013, **22** (7): 1244-1249]