

学校编码: 10384  
学号: 20620141151435

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_  
UDC\_\_\_\_\_

廈門大學

硕士学位论文

2-羟基 1,4-萘醌对希瓦氏菌 (*Shewanella xiamenensis*) 还原 Cr(VI) 的影响研究

Study on the effect of 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone on  
Cr(VI) reduction of *Shewanella xiamenensis*

李华

指导教师姓名: 王远鹏 教授

企业导师姓名: 石泰山 高级工程师

企业导师单位: 北京博城立新环境科技股份  
有限公司厦门分公司

专业名称: 化学工程

论文提交日期: 2017 年 05 月

论文答辩时间: 2017 年 05 月

学位授予日期: 2017 年 月

答辩委员会主席:

评阅人:

2017 年 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文(包括纸质版和电子版)，允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

(        )1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
年 月 日解密，解密后适用上述授权。

(        )2.不保密，适用上述授权。

(请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。)

声明人(签名)：

年 月

## 摘要

铬是一种常见的工业用品，主要用于皮革、电镀和制造钢铁，含铬工业废水的不规范处理会对环境造成污染，进而对动植物和地下水构成严重的威胁。在环境中，铬主要有两种存在形式：Cr(VI)和Cr(III)，前者的毒性更高，所以将Cr(VI)还原为Cr(III)是一个潜在的解毒过程，主要有化学还原和生物还原，本研究采用生物还原方式。*Shewanella xiamenensis* 是一种异化金属还原菌，它可以还原很多金属氧化物，本论文主要研究电子中介体对 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)的影响和探究电子中介体介导 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)的机制，主要包括以下三部分：

(I) 探究可溶性的醌类化合物对 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)的影响；(II) 探究固态的醌类化合物对 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)的影响；(III) 采用多种表征方式探究醌类化合物介导 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)的机制。结论如下：

1、采用三种不同的可溶性醌类化合物蒽醌-2,6-磺酸钠 (AQDS)、辅酶 Q 和 2-羟基-1,4-萘醌 (NQ) 分别介导 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)，其中 NQ 能显著促进 *S. xiamenensis* 对 Cr(VI)的还原，Cr(VI)的还原量和还原速率分别是  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $74 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g cell}^{-1}$ 。经过  $121^\circ\text{C}$  处理的 NQ 比  $25^\circ\text{C}$  处理的 NQ，其介导 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)的能力更强。

2、NQ 介导 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)的机制包括直接还原和间接还原。直接还原是 *S. xiamenensis* 直接还原 Cr(VI)和利用纳米导线促进 Cr(VI)的还原。间接还原是 *S. xiamenensis* 先将电子供体乳酸钠提供的电子传递给 NQ，使其变成还原态的半醌中间体，然后还原态的半醌中间将电子传递给 Cr(VI)变成 Cr(III)，醌类物质回到最初的状态，在还原过程中，NQ 的浓度不变。

3、将可溶的 NQ 负载到氧化石墨烯上 (GO) 制备成为固态的醌类化合物 (NQ/GO)，该固态醌类化合物分散到培养基中，可以促进 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)，Cr(VI)的还原量和还原速率分别为  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $99 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g cell}^{-1}$ ，比 NQ 介导 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)快。

4、进一步将负载材料制备成 NQ/GO 和 NQ/GO/PVA 膜，介导 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)，Cr(VI)的还原量和还原速率分别为  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $49 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g cell}^{-1}$ ，与之前的结果对比，还原速率变慢，但所制备的膜可以重复利用。通过

SEM 表征分析可得, *S. xiamenensis* 会先吸附在膜表面与膜作用, 进而促进 *S. xiamenensis* 还原 Cr(VI)。

**关键词:** *S. xiamenensis*; Cr(VI); 醌类化合物; 还原; 2-羟基-1,4-萘醌.

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## Abstract

Chromium is a common industrial chemical used in tanning, leather, plating chrome and manufacturing steel. The improper treatment of industrial effluents containing chromium can result in the contamination of environment, eventually threatening health of plants and animals. There are two stable environmental forms of hexavalent chromium(Cr(VI)) and trivalent chromium (Cr(III)). Cr(VI) has more toxicity than that of Cr(III). Therefore, the reduction of Cr(VI) to Cr(III) means a potential detoxification process that might be achieved chemically or biologically. This study adopts the biological reduction method. *Shewanella xiamenensis* is a dissimilatory metal reduction bacterium that can reduce a variety of metal oxide. Therefore, the research mainly aimed to explore the electronic intermediaries mediated Cr(VI) reduction mechanism of *S. xiamenensis*. This study includes the following three parts:(I) exploring the effect of soluble quinone compounds on Cr (VI) reduction by *S. xiamenensis*. (II) exploring the effect of insoluble quinone compounds on Cr (VI) reduction by *S. xiamenensis*. (III) analysing the mechanisms of quinone compounds mediated Cr(VI)reduction mechanism by *S. xiamenensis* with a variety of characterization methods. The main conclusion could be summarized as below:

1. The 2-hydroxy-1,4-naphthaquinone (NQ) was the most suitable quinone compound to enhance Cr(VI) reduction rate by *S. xiamenensis*. 50 mg ·L<sup>-1</sup> Cr(VI) could be reduced in 48 h . The Cr(VI) reduction was 74 mg ·L<sup>-1</sup> ·h<sup>-1</sup> ·g cell<sup>-1</sup>. The NQ after treatment with 121 °C had a better effect on Cr(VI) reduction than that of 25 °C treatment.

2. The mechanisms of NQ mediated Cr(VI) reduction of *S. xiamenensis* include direct reduction and indirect reduction. The direct reduction of Cr(VI) by *S. xiamenensis* was probably through pili nano wires. The indirect reduction was through NQ mediated electron transfer from that sodium lactate to NQ, and NQ

changed to semiquinone for Cr(VI) reduction. The semiquinone was oxidized by Cr(VI). The quinone turned to original state and concentration.

3. The NQ modified graphene was prepared to form solid quinone compounds for Cr(VI) reduction by *S. xiamenensis*. The solid quinone compounds dispersed in culture medium, thus improved Cr(VI) reduction. 50 mg · L<sup>-1</sup> Cr(VI) was reduced in 36 h. The reduction rate was 99 mg · L<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup> · g cell<sup>-1</sup>, which was higher than NQ mediated Cr(VI) bioreduction.

4. The solid quinone compounds were prepared to form NQ/GO and NQ/GO/PVA membrane, which could improve Cr(VI) reduction rate by *S. xiamenensis*. 50 mg · L<sup>-1</sup> Cr(VI) was reduced in 72 h. The reduction rate was 49 mg · L<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup> · g cell<sup>-1</sup>. Although it was slower than NQ mediated Cr(VI) bioreduction, the membrane could be recycled and reused. And their effects on mediated Cr(VI) reduction of *S. xiamenensis* still existed. The bacterium was adsorpedon the surface of membrane based on SEM analysis, and then promoted Cr (VI) reduction by *S. xiamenensis*.

**Key words:** *S. xiamenensis*; Cr(VI); quinine compounds; reduction; 2-hydroxy-1,4-naphthaquinone

目 录

摘 要.....	I
Abstract .....	i
目 录.....	I
Contents.....	I
<b>第一章 绪论 .....</b>	<b>1</b>
1.1 铬的生物治理方法.....	1
1.2 微生物还原 Cr(VI)的研究现状.....	4
1.3 希瓦氏菌对 Cr(VI)等金属的还原过程.....	5
1.3.1 希瓦氏菌的介绍 .....	5
1.3.2 希瓦氏菌的电子受体.....	7
1.3.3 希瓦氏菌金属呼吸代谢系统.....	8
1.4 醌型化合物的介导作用 .....	11
1.5 研究目标和主要内容.....	13
1.5.1 研究目标.....	14
1.5.2 主要内容.....	14
<b>第二章 实验材料与方法.....</b>	<b>16</b>
2.1 实验材料与设备.....	16
2.1.1 实验试剂及仪器 .....	16
2.1.2 实验菌种 .....	16
2.1.3 培养基.....	16
2.1.4 培养条件.....	16
2.2 实验方法 .....	17
2.2.1 <i>S. xiamenensis</i> 厌氧条件下的培养实验 .....	17



2.2.2 <i>S. xiamenensis</i> 对 Cr(VI)还原实验.....	17
<b>2.3 测定分析方法 .....</b>	<b>18</b>
2.3.1 Fe(II)浓度测定方法 .....	18
2.3.2 Cr(VI)浓度测定方法.....	19
2.3.3 总铬浓度测定方法.....	20
2.3.4 显微镜制样方法 .....	21
2.3.5 二-羟基-1,4-萘醌测定方法 .....	22
2.3.6 NQ/GO 膜制备方法.....	23
2.3.7 红外表征方法 .....	24
<b>第三章 醌类化合物对 <i>S. xiamenensis</i> 还原 Cr(VI)的影响研究.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1 前言.....</b>	<b>25</b>
<b>3.2 结果与讨论 .....</b>	<b>25</b>
3.2.1 厌氧条件下希瓦氏菌 ( <i>S. xiamenensis</i> ) 的生长曲线.....	25
3.2.2 厌氧条件下 <i>S. xiamenensis</i> 耐受 Cr(VI)浓度分析 .....	26
3.2.3 不同的醌类化合物对 <i>S. xiamenensis</i> 还原 Cr(VI)的影响 .....	28
3.2.4 Cr(VI)初始浓度对 NQ 介导 <i>S. xiamenensis</i> 还原 Cr(VI)的影响 .....	34
3.2.5 NQ 的添加方式介导 <i>S. xiamenensis</i> 还原 Cr(VI)的影响.....	35
3.2.6 还原后产物的表征分析.....	37
3.2.7 电子中介体 NQ 介导 <i>S. xiamenensis</i> 还原 Cr(VI)的过程分析.....	39
<b>3.3 本章小结 .....</b>	<b>44</b>
<b>第四章 醌类负载材料对 <i>S. xiamenensis</i> 还原 Cr(VI)的影响研究....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 前言 .....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 结果与讨论 .....</b>	<b>46</b>
4.2.1 醌类负载材料的氧化石墨烯表征 .....	46
4.2.2 负载材料对 <i>S. xiamenensis</i> 还原 Cr(VI)还原的影响 .....	47
4.2.3 负载材料的成膜 .....	49
4.2.4 NQ/GO 膜介导 <i>S. xiamenensis</i> 还原 Cr(VI).....	50
4.2.5 NQ/GO/PVA 膜介导 <i>S. xiamenensis</i> 还原 Cr(VI).....	52

---

4.2.6 还原产物的表征 .....	53
4.2.7 NQ 的释放 .....	55
4.3 本章小结 .....	56
<b>第五章 结论与展望 .....</b>	<b>58</b>
5.1 主要结论 .....	58
5.2 创新点 .....	59
5.3 建议 .....	59
参考文献 .....	60
附录 .....	71
在读硕士期间科研成果 .....	77
致谢 .....	78

---

## Contents

<b>Chinese Abstract.....</b>	<b>I</b>
<b>English Abstract.....</b>	<b>i</b>
<b>Chapter 1 Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 The biological methods of chromium .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 The research status of Cr(VI) bioreduction .....</b>	<b>4</b>
<b>1.3 The Cr(VI) reduction process of <i>Shewanella</i> .....</b>	<b>5</b>
1.3.1 The introduction of <i>Shewanella</i> .....	5
1.3.2 The electron acceptor of <i>Shewanella</i> .....	7
1.3.3 Metal respiratory metabolism system of <i>Shewanella</i> .....	8
<b>1.4 The mediated role of quinone compounds .....</b>	<b>11</b>
<b>1.5 Targets and main contents of this thesis.....</b>	<b>13</b>
1.5.1 Targets.....	14
1.5.2 Main contents .....	14
<b>Chapter 2 Materials and methods.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 Materials and equipments.....</b>	<b>16</b>
2.1.1 Reagents and instruments.....	16
2.1.2 Bacterial species .....	16
2.1.3 Culture medium .....	16
2.1.4 Culture conditions.....	16
<b>2.2 Experiments.....</b>	<b>17</b>
2.2.1 Anaerobic culture of <i>S. xiamenensis</i> .....	17
2.2.2 Cr(VI) reduction of <i>S. xiamenensis</i> .....	17
<b>2.3 Analytical method .....</b>	<b>18</b>
2.3.1 Determine of Fe(II).....	18

2.3.2 Determine of Cr(VI) .....	19
2.3.3 Determine of total Cr .....	20
2.3.4 Microscopy characterization .....	21
2.3.5 Determine of 2 - hydroxy - 1, 4 - naphthoquinone .....	22
2.3.6 Modification of NQ-GO membrane .....	23
2.3.7 FTIR characterization of NQ-GO .....	24
<b>Chapter 3 Quinone compounds on Cr(VI) reduction of <i>S.xiamenensis</i></b> .....	<b>25</b>
<b>3.1 Introduction.....</b>	<b>25</b>
<b>3.2 Results and discussion.....</b>	<b>25</b>
3.2.1 The anaerobic growth curve of <i>S.xiamenensis</i> .....	25
3.2.2 Resistance of Cr(VI) of <i>S. xiamenensis</i> .....	26
3.2.3The different quinone compounds on Cr(VI) reduction of <i>S. xiamenensis</i> ..	28
3.2.4 The effect initial Cr(VI) concentration on NQ mediated Cr(VI) bioreduction .....	34
3.2.5 The effect of adding mode of NQ mediated Cr(VI) bioreduction .....	35
3.2.6 The charaterization of reduced products .....	37
3.2.7 The process analysis of NQ mediated Cr(VI) bioreduction .....	39
<b>3.3 Chapter summary .....</b>	<b>44</b>
<b>Chapter 4 Quinone load material on Cr(VI) reduction of <i>S.</i></b> <b><i>xiamenensis</i> .....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 Introduction.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 Results and discussion.....</b>	<b>46</b>
4.2.1 The characterization of modificatory NQ-GO .....	46
4.2.2 Modificatory NQ/GO on Cr(VI) bioreduction .....	47
4.2.3 The preparation of membrane .....	49
4.2.4 NQ/GO membrane mediated Cr(VI) bioreduction .....	50

4.2.5 NQ/GO/PVA membrane mediated Cr(VI) bioreduction .....	52
4.2.6 The characterization of reduced product.....	53
4.2.7 The release of NQ.....	55
<b>4.3 Chapter summary .....</b>	<b>56</b>
<b>Chapter 5 Conclusions and suggestions.....</b>	<b>58</b>
5.1 Conclusions.....	58
5.2 Highlights .....	58
5.3 Suggestions .....	59
<b>References .....</b>	<b>69</b>
<b>Appendix .....</b>	<b>71</b>
<b>Publications .....</b>	<b>77</b>
<b>Acknowledgements .....</b>	<b>78</b>

## 第一章 绪论

铬是一种用途非常广泛的金属，同时是一种重要的工业原料，被广泛使用于很多的工业生产过程中，比如电镀、精炼、金属电镀和染色过程等<sup>[1]</sup>，与此同时也产生了很多的工业废水，而这些含铬的工业废水的不规范处理会导致自然水资源和土壤污染，从而威胁到人类的健康。在生活中，受到铬污染的地区很多，在这些地区中铬有两种存在形式，分别是 Cr(VI)和 Cr(III)，Cr(VI)具有高毒性、致癌等特点，且极易溶解在水中，而 Cr(III)毒性较低，因此将 Cr(VI)转化为 Cr(III)或者将铬沉降去除等都可以降低铬的毒性。

在生产生活中，通常采用生物和化学方法来处理铬污染。利用化学方法来处理铬通常会产生二次污染且成本过高，而利用生物方法处理则可以避免这些问题，因此研究采用生物方法来降低铬的毒性对环境有重要的意义，其中，利用微生物来处理六价铬也受到了很大的关注，研究微生物与铬的作用原理和机制等对废水中铬污染防治有着重要的理论依据和实际意义。

### 1.1 铬的生物治理方法

微生物与铬的生物作用机制引起了人们的广泛关注，因为微生物有很多的特性能够影响和改变 Cr 的形成、毒性和迁移方式。因此这些具有铬解毒作用的微生物可以应用于铬从污染区的转移。微生物与铬的相互作用机制涉及到一些主动和被动的过程，这些原理都被列在图 1.1 中，这些过程包括转移、积累、生物吸附、酶促还原和非酶促还原等。

(1) 转移：由于 Cr(VI)和  $\text{SO}_4^{2-}$  的结构相似性，所以它很容易通过细菌生物膜上活性硫酸盐转运蛋白转移<sup>[2]</sup>。铬转移系统是由 ChrA 蛋白表现的，这个蛋白属于包含几百种同系物的铬离子转移蛋白家族。铬酸盐的转移是细菌中 ChrA 蛋白所赋予的一种抵抗机制，它的作用是化学渗透学说泵，即铬酸盐从细胞质中流出是通过质子泵实现的<sup>[3]</sup>。

(2) 生物积累和吸附：微生物的细胞壁是接触金属离子的第一道屏障，因此主要是负责金属的生物吸附<sup>[4]</sup>。细胞壁的化学功能组参与到 Cr 的吸附中已经得

到证实, 吸附耦合减少  $\text{Cr(VI)}$  也是在水相阶段或者是生物质中通过接触电子供体将  $\text{Cr(VI)}$  还原为  $\text{Cr(III)}$  的过程。表 1.1 总结了细菌和真菌通过吸附移除  $\text{Cr}$  的结果。

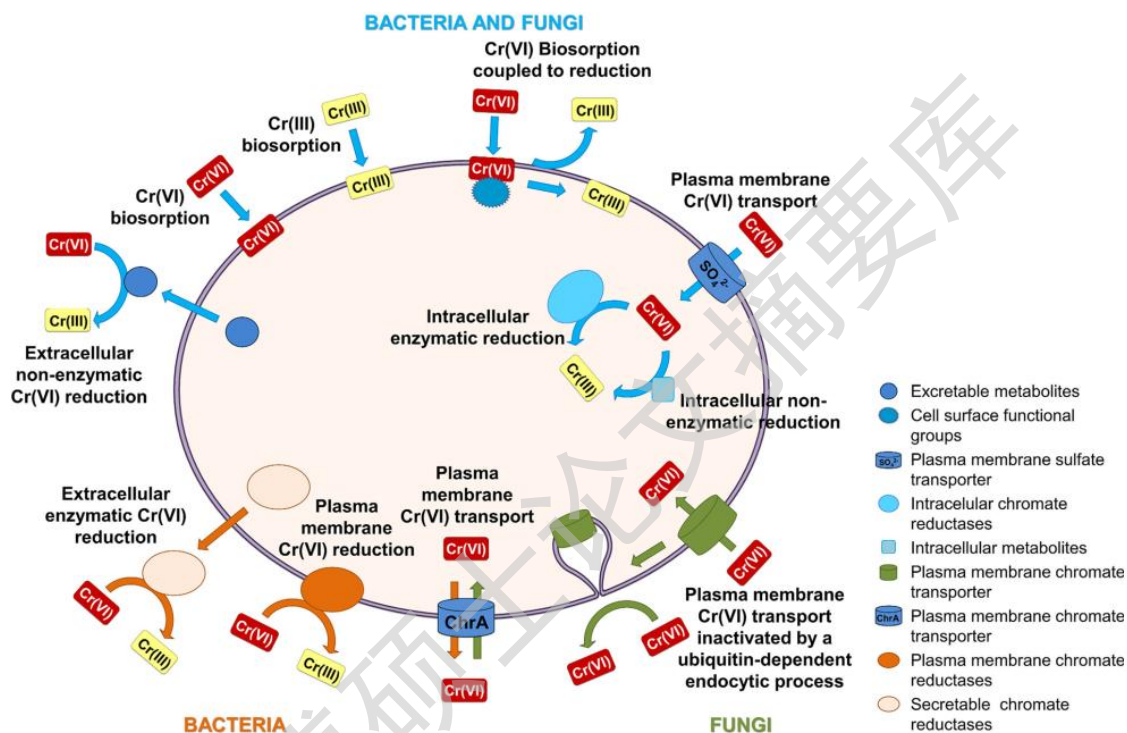


图 1.1 微生物与铬作用的原理总结图<sup>[5]</sup>

Figure 1.1 Schematic summary of microbial interactions with chromium<sup>[5]</sup>

(3) 酶促还原: 主要是指由酶催化的反应。在细菌中, 酶促  $\text{Cr(VI)}$  还原机制一方面是由可溶的细胞质蛋白催化, 另一方面是由不可溶的细胞膜上的酶催化的<sup>[3, 6, 7]</sup>, 许多的细菌种, 包括 *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter* 等都可以在厌氧或者是好氧条件下通过酶促反应来还原  $\text{Cr(VI)}$ <sup>[6, 7]</sup>, 这些  $\text{Cr(VI)}$  还原酶存在于这些菌体的不同位置上, 另外在最近的研究中也发现在一些微生物培养液的上清液中也存在  $\text{Cr(VI)}$  还原酶。同时这些酶发挥作用的条件也不尽相同, 有的是在厌氧条件下作用, 有的是在好氧条件下作用, 有的在好氧和厌氧条件都可以发挥作用。

(4) 非酶促还原: 是指不通过酶催化的反应。在微生物代谢过程中会产生很多的胞内胞外复合物, 如氨基酸、核苷酸、糖类、维生素和有机酸等, 这些物质

可以通过化学反应来还原 Cr(VI)<sup>[2, 8]</sup>, 例如抗坏血酸能够还原 Cr(VI), 核黄素派生物 FAD 和 FMN 是铬酸盐黄素酶的必要辅酶<sup>[2]</sup>。这些物质都可以不经过微生物而直接通过化学作用将 Cr(VI)还原为 Cr(III)。

表 1.1 真菌和细菌通过吸附去除 Cr(VI)<sup>[5]</sup>

Table 1.1 Cr(VI) removal by biosorption with bacterial and fungal biomass<sup>[5]</sup>

Organism	Initial concentration of Cr(VI) (mg/L)	Cr(VI) removal (%)	Reference
<b>Bacteria</b>			
<i>Pseudomonas</i> sp.	200	66	[9]
<i>Arthrobacter viscosus</i>	100	64	[10]
<i>Acinetobacter junii</i>	100	44	[11]
<i>Mesorhizobium amorphae</i>	100	36	[12]
<i>Bacillus subtilis</i> SS-1	100	99	[13]
<i>Streptomyces werraensis</i> LD22	100	82.5	[14]
<b>Fungi</b>			
<i>Penicillium chrysogenum</i>	50	40.3	[15]
<i>Aspergillus niger</i>	400	95	[16]
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	100	93.2	[17]
<i>Penicillium griseofulvum</i>	67.8	79.8	[18]



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库