

# 共基质促进生物电催化还原硝基苯研究

程浩毅, 梁斌, 张旭, 林娜, 王爱杰

(哈尔滨工业大学 城市水资源与水环境国家重点实验室, 150090 哈尔滨)

**摘要:** 为提高生物催化电解系统(BCES)定向还原硝基苯的能力, 促进难降解有机物的快速脱毒和进一步生物转化, 采用葡萄糖作为共基质, 探讨其质量浓度对于生物阴极催化性能和硝基苯还原效率的影响. 结果表明, 共基质能够作为额外电子供体加速硝基苯向苯胺的定向转化, 同时提高了生物阴极催化硝基苯还原的活性, 表现为硝基苯还原峰电位正移 70 mV. 为避免过度增加废水中的 COD, 共基质的引入量控制在  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  较为适宜, 此时苯胺的生成率在各外加电压条件下(0.15 ~ 0.5 V)均超过 97%, 硝基苯还原一级动力学常数较无共基质存在时平均提高  $(52 \pm 6) \%$ .

**关键词:** 共基质; 生物催化电解; 生物阴极; 硝基苯还原; 定向转化

中图分类号: X52

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2013)06-0043-05

## Enhanced efficiency and selectivity of bio-electrocatalyzed nitrobenzene reduction by employing co-substrate

CHENG Haoyi, LIANG Bin, ZHANG Xu, LIN Na, WANG Aijie

(State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China)

**Abstract:** To improve the selective reduction of nitrobenzene to aniline in biocatalyzed electrolysis system (BCES), glucose, as the co-substrate, was employed into the biocathode. The enhancement of nitrobenzene reduction efficiency and selectivity by adding co-substrate was observed. Cyclic voltammetry revealed nitrobenzene reduction peak was positively shifted by 70 mV with the present of co-substrate, indicating the enhanced performance was caused by not only the extra electrons donated by glucose but also the improvement of bioelectrocatalytic activity. To avoid the excess increase of COD in wastewater, the suggested concentration of co-substrate was  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , which resulted in aniline formation efficiency over 97% at all tested applied voltages (0.15 - 0.25 V), and increased the apparent first-order kinetic constant by  $(52 \pm 6) \%$  compared to that without co-substrate.

**Key words:** co-substrate; biocatalyzed electrolysis; biocathode; nitrobenzene reduction; selective transformation

硝基苯属于典型的难降解有机物对人体有致突变、致畸和致癌的潜在危害, 已被列入我国公布的 58 种优先控制有机污染物中<sup>[1]</sup>. 硝基的“吸电子”效应造成苯环电子云密度的降低是硝基苯在传统好氧生物处理中难以有效去除的主要原因<sup>[2]</sup>. 通过还原法先将硝基苯转化为苯胺, 可大大降低硝基苯对微生物的毒性, 且由于消除了“吸电子”效应

使得苯胺在后续的好氧生物处理工艺中更容易矿化<sup>[3]</sup>. 在基于生物法的“厌氧-好氧”两段法中, 硝基苯的厌氧生物还原被认为是整体工艺的限速步骤<sup>[4]</sup>. 因此, 加速硝基苯还原为苯胺是提高整体工艺处理速度的关键.

硝基苯还原为苯胺的电化学方法是一种较为绿色而高效的手段, 然而这一过程中容易伴随副反应的发生, 例如生成偶氮苯、对氨基苯酚等, 造成最终的苯胺转化效率较低<sup>[5-6]</sup>. 在所有的硝基苯还原产物中, 苯胺较容易在后续好氧生物处理工艺中矿化<sup>[6]</sup>. 因此, 提高硝基苯转化为苯胺的效率十分重要. 传统的电催化还原工艺中, 往往通

收稿日期: 2012-12-10.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51078100);

国家杰出青年科学基金项目(51225802).

作者简介: 程浩毅(1985—), 男, 博士研究生;

王爱杰(1972—), 女, 博士生导师, 长江学者特聘教授.

通信作者: 王爱杰, waj0578@hit.edu.cn.

过在电极上引入贵金属催化剂,或者降低废水的 pH 来实现苯胺产率的提升<sup>[7-9]</sup>. 这无疑增加了工艺成本,与后续中性条件下运行的好氧生物处理工艺也难以匹配. 前期的研究发现,利用微生物作为催化剂构建的生物阴极体系具有定向将硝基苯还原为苯胺的能力<sup>[10]</sup>. 微生物作为催化剂具有的绿色、低成本、可自我更新等优势,大大增加这项新技术应用于废水处理的潜力<sup>[11]</sup>. 最近的研究表明,在生物阴极中引入共基质有可能进一步提高效能. 一方面共基质可以作为额外的电子供体,使那些不能从电极上获得电子的微生物得以生存并参与到目标电子受体的还原反应中. 另一方面,生物阴极的催化性能有可能在共基质存在的情况下进一步提升<sup>[12]</sup>. 为此,利用葡萄糖作为共基质,以硝基苯的还原速率、苯胺的生成效率和电流效率为指标,考察多种外加电压操作条件下运行的生物催化电解反应器对于含有不同质量浓度共基质的硝基苯模拟废水的处理效能. 并探讨共基质引入质量浓度的合理范围.

## 1 实验

### 1.1 实验装置

生物催化电解系统(BCES)由两个体积相同的阴极室和阳极室组成(90 mL),两室之间通过一块阳离子交换膜分隔开(有效面积约 20 cm<sup>2</sup>, CMI-7000, Membranes International, Inc. US). 阴极为碳布(直径 5 cm),通过和钛丝紧密接触后与外电路相连. 阳极为一个预先挂有电极活性微生物膜的自制碳纤维刷(直径 4 cm, 长度 3.5 cm, 挂膜过程在一个微生物燃料电池装置中完成,接种物活性污泥取自哈尔滨太平污水处理厂,挂膜过程中的电子供体为乙酸钠). 阴、阳极室均设有 3 个开孔(直径 1 cm),分别用于取样、换液以及放置饱和甘汞参比电极(SCE, +0.247 V vs 标准氢电极(SHE), 217 型,雷磁仪器厂,上海). 阳极与一个直流电源的正极直接相连,阴极通过串联一个电流采样电阻(5 Ω)后连接到电源的负极.

### 1.2 阴极功能微生物富集

阴极功能微生物富集的具体方法见文献[10],富集过程中每个批次实验均监测硝基苯、苯胺以及亚硝基质量浓度的变化. 当亚硝基苯不能被检测出并且硝基苯转化为苯胺的效率大于 95% 时认为富集生物阴极完成.

### 1.3 实验方法

阳极电解液由乙酸钠(1.5 g/L)和营养元素配制而成,阴极电解液(硝基苯模拟废水)由硝基

苯((65 ± 3) mg · L<sup>-1</sup>)、不同质量浓度的葡萄糖(作为共基质)以及营养元素配制而成. 其中营养元素的组成和质量浓度与文献[10]一致. 葡萄糖选取质量浓度为 0, 100, 200, 500, 1 000 mg · L<sup>-1</sup> 5 个梯度,考察在 0.15, 0.25, 0.4, 0.5 V 4 个梯度电压下对于硝基苯还原产物、去除效率、苯胺的生成效率以及电流效率的影响. 实验环境为室温(~25 ℃).

### 1.4 循环伏安曲线测定

利用电化学工作站(model-660D, CH Instruments Inc. U. S.)进行循环伏安曲线测定,生物阴极或没有微生物附着的非生物阴极作为工作电极,生物阳极作为对电极,饱和甘汞电极作为参比电极. 扫描速度为 2 mV/s.

### 1.5 分析方法

阴、阳两极间的电压,阴极电位,电流采样电阻两端的电压通过数据记录仪连续测定并记录(model 2700, Keithley Instruments Inc. US),流过阴极的电流通过欧姆定律并根据电流采样电阻两端的电压值计算获得.

硝基苯、亚硝基苯以及苯胺的质量浓度测定采用高效液相色谱法(HPLC, model e2695, Waters Co., USA). 化学需氧量(COD)的测定采用重铬酸钾盐法(GB 11914—89).

硝基苯的去除效率( $E_{NB}$ )、苯胺的生成效率( $E_{NB-AN}$ )以及电流效率( $E_i$ )的计算方法见文献[13].

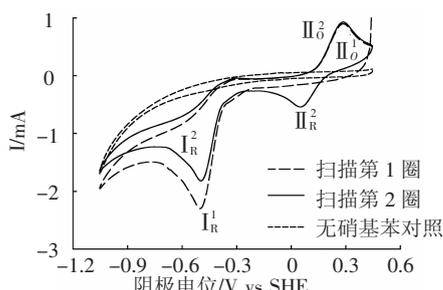
## 2 结果与讨论

### 2.1 生物阴极还原硝基苯的循环伏安特征

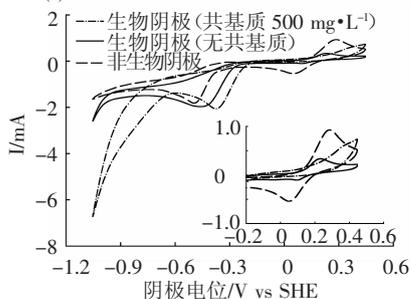
图 1(a)显示的是硝基苯在非生物阴极上反应的循环伏安曲线. 可以看出,在第一圈电位负向扫描中只出现一个不可逆的还原峰( $I_R^1$ ),峰电位为 -0.483 V. 没有硝基苯的空白实验中并未出现此峰,因此, $I_R^1$  应为硝基苯的还原峰. 反向扫描时,电位为 0.267 V 处出现一个氧化峰( $II_0^1$ ),此峰与第二圈电位负向扫描时新出现的还原峰( $II_R^2$ , 峰电位为 0.07 V)呈现出准可逆关系. 根据文献报道,这对氧化还原峰是由中间产物亚硝基苯和苯胺互相发生电化学转化而产生的<sup>[2]</sup>.

在图 1(b)中比较了相同质量浓度的硝基苯水溶液(65 mg · L<sup>-1</sup>, pH = 7)中非生物阴极、没有共基质存在的生物阴极以及有共基质存在(500 mg · L<sup>-1</sup>)的生物阴极的循环伏安曲线. 可以看出,与非生物阴极相比,硝基苯在生物阴极上还原峰表现为峰电位正移以及峰电流提高,说明阴极微生物参与了催化硝基苯电化学还原的过

程.值得注意的是,当溶液中加入共基质后,微生物的催化能力得到增强,表现为硝基苯还原峰的电位进一步正移.另外,从图1(b)内插图还可以看出,在阴极微生物催化作用下,硝基苯还原过程产生的中间产物显著下降,特别是当共基质存在的情况下,循环伏安图上中间产物的信号峰消失.这一结果很好地印证了生物阴极还原硝基苯没有中间产物积累的现象<sup>[10]</sup>.也进一步说明了生物阴极具有定向还原硝基苯为苯胺的能力.此外,生物阴极还具有催化析氢反应的能力,特别是在有共基质存在的条件下,生物阴极的电流(图1(b),在循环伏安曲线反扫电位,  $-1.053\text{ V}$ )分别是没有共基质的生物阴极和非生物阴极的2.61和4.12倍.总体来说,通过循环伏安曲线分析可以看出,生物阴极明显提高了硝基苯还原的效能,表现为反应电位的正移以及中间产物积累的减少.共基质的加入可以使这种催化性能进一步提升.



(a) 硝基苯在非生物阴极上的循环伏安曲线



内插图为循环伏安曲线在阴极电位为  $-0.2 \sim 0.6\text{ V}$  的局部放大

(b) 硝基苯在非生物阴极和生物阴极上的循环伏安曲线比较

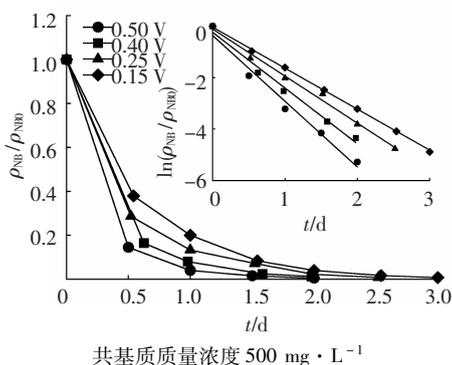
图1 硝基苯在非生物阴极和生物阴极的循环伏安曲线

## 2.2 共基质质量浓度对 BCES 定向还原硝基苯效能的影响

### 2.2.1 对硝基苯还原速率的影响

由图2可以看出,废水中硝基苯(NB)的质量浓度随反应时间的增加不断降低.  $\ln(\rho_{\text{NB}}/\rho_{\text{NB}0})$  与反应时间( $t$ )呈现较好的线性关系( $R^2 > 0.97$ ),说明硝基苯在阴极的还原过程符合表观一级动力学规律.表1列出了各实验条件下,硝基苯还原的表观一级动力学常数( $k_{\text{app}}$ ).通过这些数据可以绘制出不同共基质质量浓度和外加电压( $U$ )条件下  $k_{\text{app}}$  的等值线图(如图3所示).可以

看出,在所有的外加电压操作条件下,  $k_{\text{app}}$  均随共基质质量浓度的增加而增大.反应器施加较高的外加电压时( $\geq 0.4\text{ V}$ ),增加单位共基质质量浓度(每  $100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )对  $k_{\text{app}}$  的平均增量为  $(0.13 \pm 0.01)\text{ d}^{-1}$ ,是其在较低外加电压时的1.4倍( $\leq 0.25\text{ V}$ ).共基质的引入能够提高硝基苯的还原速率一方面是因为其能够作为额外电子供体参与硝基苯的还原,另一方面则是如前面循环分析中所述,能够提高生物定向催化硝基苯还原的活性.另外,共基质的加入还有明显促进生物阴极发生析氢反应的能力,特别是阴极电位负向扫描至  $-0.6\text{ V}$  以后,析氢电流明显增加(如图1所示).有文献表明氢气也能作为硝基苯生物还原的电子供体<sup>[14]</sup>,这可能是在外加电压较高时,增加共基质质量浓度  $k_{\text{app}}$  增加更为显著的原因.



共基质质量浓度  $500\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

图2 不同外加电压条件下硝基苯质量浓度随时间的变化

表1 不同条件下硝基苯还原的表观一级动力学常数  $\text{d}^{-1}$

外加电压/V	$\rho(\text{共基质}) / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$				
	0	100	200	500	1000
0.15	0.89	1.32	1.44	1.61	1.85
0.25	1.18	1.56	1.68	1.80	2.11
0.40	1.30	1.68	1.97	2.16	2.42
0.50	1.46	1.85	2.21	2.54	2.86

需要特别注意的是,在所有实验条件中,COD 的去除率均小于15%,因此,过量地引入共基质是不利的,将增加后续好氧工艺对废水矿化过程中的有机物负荷.另外有研究表明,较高的共基质质量浓度还可能抑制微生物好氧降解苯胺的速度<sup>[15]</sup>.因此,需要控制共基质的引入量.从图4中可以看出,在共基质质量浓度较低的范围( $\leq 200\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),  $k_{\text{app}}$  随共基质质量浓度增加而提高的速度较快,此时,增加单位质量浓度的共基质(每  $100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )对  $k_{\text{app}}$  的平均增量为  $(0.31 \pm 0.04)\text{ d}^{-1}$ ,是其在共基质质量浓度较大范围( $\geq 200\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )的5.1倍.因此,将废水中共基质质量浓度控制在  $200\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  左右是比较合理的,此时  $k_{\text{app}}$  较没有共基质时平均提高  $(52 \pm 6)\%$ .

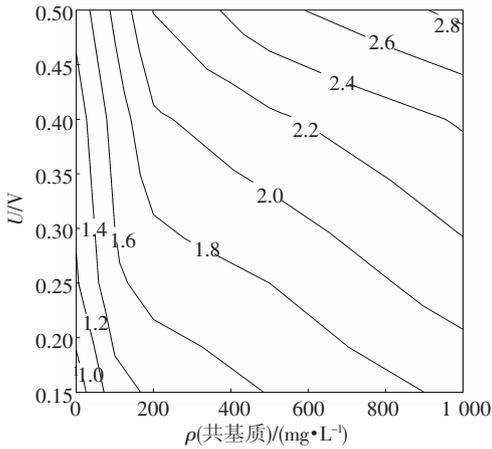


图3 不同共基质质量浓度和外加电压范围内硝基苯还原表现一级动力学常数的等值线图

### 2.2.2 对苯胺生成效率的影响

在大多数实验条件下,苯胺的生成效率( $E_{NB-AN}$ )都大于95%(如图4所示),说明富集获得的阴极功能微生物有较强的定向还原硝基苯的能力。 $E_{NB-AN}$ 较低的情况主要出现在外加电压和共基质质量浓度均较低时。当废水中没有共基质且外加电压为0.15和0.25V时,硝基苯还原过程中都有极少量的亚硝基苯被检出( $< 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。这可能是由于此时较高的阴极电位(分别为0.31~0.39V vs SHE和0.43~0.47V vs SHE)造成生物电催化还原硝基苯的速率降低,部分硝基苯在阴极上发生非生物催化的直接电化学还原,少量中间产物积累并降低苯胺生成效率。从图4中可以看出,废水中存在少量的共基质即可明显提升 $E_{NB-AN}$ 。当共基质质量浓度达 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,所有外加电压条件下的 $E_{NB-AN}$ 均可达97%以上。

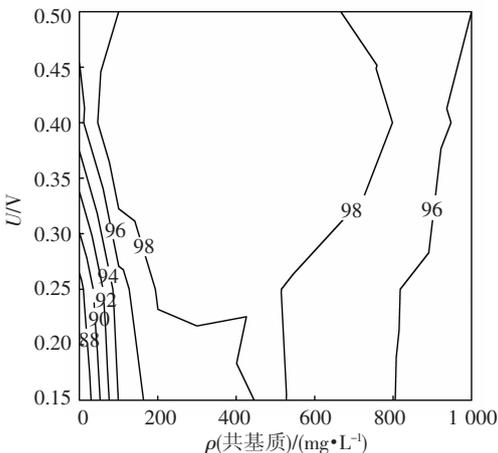


图4 不同共基质质量浓度和外加电压范围内苯胺生成效率的等值线图

从之前的循环伏安分析得知,共基质的存在可以明显促进硝基苯的生物电催化还原,共基质也可以作为额外电子供体参与到硝基苯的还原过程中,因此,当废水中引入共基质后,单位时间内

在电极表面附近通过生物还原(包括生物电催化还原和利用共基质作为电子供体的生物还原)的硝基苯量将得到增加,这样有利于在阴极生物膜内形成一个较大的硝基苯质量浓度梯度以削弱硝基苯的直接电化学还原作用,从而减少中间产物的积累。另外,文献表明微生物还具有催化还原亚硝基苯的能力<sup>[16]</sup>,因此,即使仍有少量硝基苯通过直接电化学作用生成亚硝基,微生物也有可能迅速将其转化为苯胺,防止其转化为副产物,从而提高硝基苯转化为苯胺的效率。

### 2.2.3 对电流效率的影响

电流效率( $E_i$ )描述的是外电路中的电子最终流向硝基苯的效率。当 $E_i$ 小于100%时说明部分电子没有参与到硝基苯的还原反应中,而大于100%时说明部分硝基苯的去除不是通过电化学还原的作用。在本研究中,共基质可以作为额外电子供体参与到硝基苯的还原过程中,因此,从图5中可以看出,整体上 $E_i$ 随着共基质质量浓度的增加而升高。如前所述,在外加电压为0.15V时,阴极电位已经接近理论析氢电位( $-0.411 \text{ V}$ ,  $\text{pH}=7$ ),进一步提高外电压,可能在阴极上发生了析氢副反应(额外消耗了电子),于是呈现出 $E_i$ 随外加电压增大而降低的趋势。需要特别注意的是,当共基质存在时,上述两种作用可能同时存在。当共基质额外提供的电子数多于析氢额外消耗的电子数时,电流效率超过100%,反之则小于100%。从图5可以看出, $E_i$ 小于100%的情况总出现在外加电压较高时。

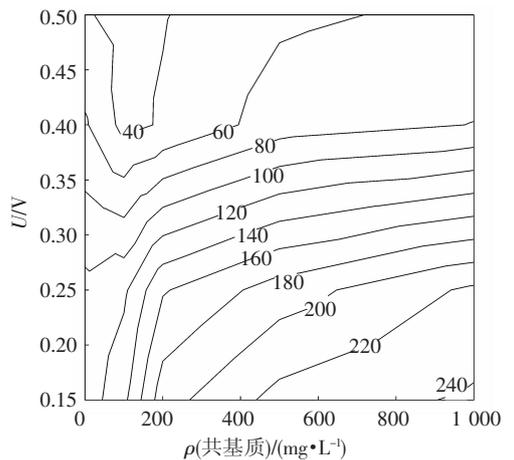


图5 不同共基质质量浓度和外加电压范围内电流效率的等值线图

另外,从等值线的密度和走向还可以看出, $E_i$ 并不总是随着共基质质量浓度的增加而提高。如果施加较高的外加电压( $> 0.35 \text{ V}$ ,此时阴极电位 $< -0.6 \text{ V}$ ), $E_i$ 随共基质质量浓度的提高表现出先降低后升高的趋势。从之前的循环伏安分析可

知,共基质的加入能够促进生物阴极析氢反应.因此可以推测, $E_i$ 下降的原因是当共基质质量浓度很低时( $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),其额外提供电子还原硝基苯的能力低于其促进生物阴极析氢额外消耗电子的能力,当共基质质量浓度进一步增加时,其提供电子的能力得到增强,表现出 $E_i$ 增加.

在外加电压较低( $< 0.25 \text{ V}$ )的情况下,由于阴极电位较正( $> -0.5 \text{ V}$ ),阴极的析氢反应可以基本忽略<sup>[12, 17]</sup>.因此, $E_i$ 总是随着共基质质量浓度的提高而增加.另外,在这一区域内还可以从电流效率的大小估计出硝基苯还原的电子来源比例,例如当 $E_i$ 为150%时,1/3的电子来源于共基质,2/3来源于电极.这一估算的意义在于,当废水中硝基苯质量浓度一定时,向废水中引入适量的共基质可以减少阴极向硝基苯供给的电子数,表现为电流下降,从而降低 BES 运行的能耗.

### 3 结 论

1) 共基质的引入能够降低硝基苯在生物阴极上还原的过电位,提升生物阴极的催化性能.

2) 硝基苯在生物阴极上的还原过程符合表现一级动力学规律.共基质的引入能够提高一级动力学常数,在共基质质量浓度较低、外加电压较高的范围内( $\leq 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\geq 0.4 \text{ V}$ ),增加共基质质量浓度对于一级动力学常数增加的效果较其在共基质质量浓度较高、外加电压较低的范围( $\geq 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\leq 0.25 \text{ V}$ )更为明显.

3) 在低外加电压条件下( $\leq 0.25 \text{ V}$ ),共基质的引入十分重要,可以消除硝基苯还原中间产物的积累,明显提高硝基苯转化为苯胺的效率.

4) 为避免过度增加废水中的 COD,共基质的引入量控制在  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  左右较为适宜,此时苯胺的生成率在各外加电压条件下( $0.15 \sim 0.5 \text{ V}$ )均超过 97%,硝基苯还原一级动力学常数较无共基质存在时平均提高( $52 \pm 6$ )%.

### 参考文献

[1] 周文敏,傅德黔,孙宗光.中国水中优先控制污染物黑名单的确定[J].环境科学研究,1991,6:9-12.  
 [2] LI Y P, CAO H B, LIU C M, *et al.* Electrochemical reduction of nitrobenzene at carbon nanotube electrode [J]. *J Hazard Mater*, 2007, 148 (1/2): 158-163.  
 [3] DONLON B A, RAZOFLORES E, LETTINGA G, *et al.* Continuous detoxification, transformation, and degradation of nitrophenols in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors [J]. *Biotechnol Bioeng*, 1996, 51 (4): 439-449.

[4] DICKEL O, HAUG W, KNACKMUSS H J. Biodegradation of nitrobenzene by a sequential anaerobic-aerobic process [J]. *Biodegradation*, 1993, 4: 187-193.  
 [5] HARWOOD W H, HURD R M, WADE H, *et al.* Electrochemical reduction of nitrobenzene at controlled potentials [J]. *Ind Eng Chem Proc Des Dev*, 1963, 2 (1): 72-77.  
 [6] 李玉平,曹宏斌,张懿,等.硝基苯在温和条件下的电化学还原[J].环境科学,2005,1:117-121.  
 [7] NOEL M, RAVICHANDRAN C, ANANTHARAMANAN P N. Electrochemical technique for the reduction of aromatic nitrocompounds in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  medium on thermally coated Ti/TiO<sub>2</sub> [J]. *J Appl Electrochem*, 1995, 25: 690-698.  
 [8] SWAMINATHAN K, ANANTHARAMAN P N, SUBRAMANIAN G S, *et al.* Preliminary studies on the electrolytic reduction of nitrobenzene to aniline [J]. *J Appl Electrochem*, 1972, 2: 167-173.  
 [9] CYR A, HUOT P, BELOT G, *et al.* The efficient electrochemical reduction of nitrobenzene and azoxybenzene to aniline in neutral and basic aqueous methanolic solutions at devarda copper and Raney-nickel electrodes-electrocatalytic hydrogenolysis of N-O and N-N bonds [J]. *Electrochim Acta*, 1990, 35 (1): 147-152.  
 [10] WANG A J, CHENG H Y, LIANG B, *et al.* Efficient reduction of nitrobenzene to aniline with a biocatalyzed cathode [J]. *Environ Sci Technol*, 2011, 45 (23): 10186-93.  
 [11] HE Z, ANGENENT L T. Application of bacterial biocathodes in microbial fuel cells [J]. *Electroanalysis*, 2006, 18 (19/20): 2009-2015.  
 [12] JEREMIASSE A W, HAMELERS H V, CROESE E, *et al.* Acetate enhances startup of a H(2)-producing microbial biocathode [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2012, 109(3): 657-664.  
 [13] MU Y, ROZENDAL R A, RABAEY K, *et al.* Nitrobenzene removal in bioelectrochemical systems [J]. *Environ Sci Technol*, 2009, 43 (22): 8690-8695.  
 [14] CAO H B, LI Y P, ZHANG G F, *et al.* Reduction of nitrobenzene with H-2 using a microbial consortium [J]. *Biotechnol Lett*, 2004, 26 (4): 307-310.  
 [15] WANG D Z, ZHENG G Y, WANG S M, *et al.* Biodegradation of aniline by *Candida tropicalis* AN1 isolated from aerobic granular sludge [J]. *Journal of Environmental Sciences-China*, 2011, 23 (12): 2063-2068.  
 [16] SPAIN J C. Biodegradation of nitroaromatic compounds [J]. *Annu Rev Microbiol*, 1995, 49: 523-555.  
 [17] HAMELERS E V M, JEREMIASSE A W, BUISMAN C J N. Microbial electrolysis cell with a microbial biocathode [J]. *Bioelectrochemistry*, 2010, 78 (1): 39-43.