

DOI:10.11918/201910014

BioMnO_x 对非甾体药物氧化协同 Fe(III) 吸附的研究

秦松岩¹, 吕务娟¹, 黄馨¹, 胡杰¹, 罗义², 赵立新¹

(1. 天津理工大学 环境科学与安全工程学院, 天津 300384; 2. 南京大学 环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210093)

摘要: 恶臭假单胞杆菌(*Pseudomonas Putida*)可氧化 Mn^{2+} 生成生物锰氧化物, 生物锰氧化物的形成过程及其吸附氧化活性对水体中有机/重金属复合污染的控制具有重要意义. 为此, 通过研究生物锰氧化物对 APAP(乙酰氨基酚, acetaminophen) 氧化以及 Fe(III) 吸附探讨其吸附氧化活性的相互影响. 结果表明, BioMnO_x 为无定型的纳米颗粒, 在形成过程中自身结构发生变化, 表面由平整变为密集、突出的颗粒状, 颗粒边界更为清晰, 颗粒粒径从约 49.9 nm 长至约 70 nm. BioMnO_x 在形成过程中对 Fe(III) 的吸附发生在对 APAP 的氧化之前, 对 Fe(III) 的吸附并未对 APAP 的氧化速率产生影响. APAP 氧化降解过程和 Mn^{2+} 氧化速率过程均符合一级动力学方程. BioMnO_x 的氧化活性对 APAP 降解造成一定的影响. Mn^{2+} 质量浓度增大, 可减少 APAP 的降解时间. GC-MS 结果显示, APAP 的降解途径为先被氧化为乙酰胺及对苯二酚、对氨基苯酚等苯酚类物质, 继而转化为乙二酸、苯醌等更加简单的物质后最终矿化.

关键词: 乙酰氨基酚; 生物锰氧化物; Fe(III) 吸附; 动力学; 降解途径

中图分类号: X703

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2021)05-0016-08

Mechanism of degradation of non-steroidal drugs and Fe(III) adsorption by BioMnO_x

QIN Songyan¹, LÜ Wujuan¹, HUANG Xin¹, HU Jie¹, LUO Yi², ZHAO Lixin¹

(1. School of Environmental Science and Safety Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300384, China;

2. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: *Pseudomonas putida* can oxidize Mn^{2+} to produce biological manganese oxide. The formation process and the adsorption oxidation activity of biogenic manganese oxide are crucial to the control of organic/heavy metal combined pollution in water. In this paper, the interaction between acetaminophen (APAP) oxidation and Fe(III) adsorption by biological manganese oxides was studied. Results show that BioMnO_x were amorphous nanoparticles. During its aging process, its structure evolved, and the surface appearance changed from flat to dense and protruding granule. The boundary of the particles became clearer. The average particle size ranged from about 49.9 nm to 70 nm. The adsorption of Fe(III) by BioMnO_x during the formation process occurred before the oxidation of APAP, and the adsorption of Fe(III) did not affect the oxidation rate of APAP. The oxidation degradation of APAP and the oxidation rate of Mn^{2+} all fitted well with the first-order kinetic equation. The oxidative activity of BioMnO_x had certain effect on the degradation of APAP. The increased concentration of Mn^{2+} reduced the degradation time of APAP. GC-MC results show that the degradation pathway of APAP was that it was firstly oxidized to acetamide and phenolic substances such as hydroquinone and p-aminophenol, then converted into simpler substances such as oxalic acid and benzoquinone, and finally mineralized.

Keywords: acetaminophen; biological manganese oxide; Fe(III) adsorption; kinetics; degradation pathway

乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)具有解热镇痛的作用, 是全世界使用量最高的非甾体抗炎药物^[1], 通过生物代谢物及过期或未用完废弃物进入环境, 导致其在污水处理厂、自然水环境、土壤中频频检出, APAP 在污水处理厂的出水中质量浓度可达到 8 025 ng/L^[2]. APAP 是中国近 45 个污水处理

厂活性污泥的主要污染物之一^[3]. 含有微量的 APAP 水体经过加氯消毒后会产生毒性更大的苯醌类物质^[4]; APAP 在水环境药物风险评价中风险值大于 1, 质量浓度超出了无生态风险浓度值^[5-6], 其残留已对水生生态系统和人体构成潜在危害^[7-9], 对其去除成为环境研究中的一个热点问题^[10]. 目前, 国内外研究用于降解 APAP 的方法主要有高级氧化法、TiO₂ 光催化、生物降解^[11-16] 等. 其中, 生物降解法由于不存在二次污染以及成本低等备受关注.

收稿日期: 2019-10-09

基金项目: 河北省重点研发计划(20373604D)

作者简介: 秦松岩(1978—), 女, 教授, 硕士生导师

通信作者: 赵立新, qinsongyan@vip.126.com

生物锰氧化物是由锰氧化细菌如恶臭假单胞球菌(*Pseudomonas Putida*)、纤发菌属(*Leptothrix*)、锰土微菌(*Pedomicrobium manganicum*)等以 O₂ 为电子受体,通过多铜氧化酶(MCOs)将 Mn(II) 氧化为 Mn(IV) 而形成高价态锰生物氧化物(BioMnO_x)。BioMnO_x 作为锰氧化细菌形成的初级产物,基本单元是 Mn(IV)O₆ 的正八面体结构,存在包括 Mn(IV) 空缺位点和晶体的边缘及内层位点, Mn(IV)/Mn(II) 间的氧化还原电位及强氧化剂 Mn(III) 为中间体的单电子转移,使其具有较强的氧化能力^[17]。因此, BioMnO_x 同时展现了较强的氧化和吸附能力。*Pseudomonas* sp. 作为锰氧化的模式菌株,其形成的锰氧化物已应用到多种重金属和有机物氧化去除的研究中。Owen^[18] 研究了 *Pseudomonas putida* GB-1 产生的 BioMnO_x 对草铵铁的吸附,发现 Fe(III) 在多个位点特异性地吸附到矿物结构上。菅之與等^[19] 在以锰氧化细菌 *Pseudomonas* sp. QJX-1 构建的生物体系中,通过 *Pseudomonas* sp. QJX-1 生成的 BioMnO_x 有效去除 2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮-5-磺酸(BP-4)。Zhang 等^[7] 通过在锰砂/石英砂好氧生物滤池启动时引入 *Pseudomonas* sp. 形成 BioMnO_x 生物膜,对卡马西平、双氯芬酸等通过开苯环降解。以往研究基于对实际工艺的模拟,对 *Pseudomonas* 的不同菌株 BioMnO_x 在水处理反应体系中,或对有机物氧化、或对重金属吸附进行了宏观评价。然而,实际水体中存在着多种金属离子,在被吸附占据吸附位点同时对 BioMnO_x 氧化有机物的影响鲜有研究。另外, BioMnO_x 具有较高的吸附及氧化活性,其微观结构和活性会随时间快速变化, *Pseudomonas* 的菌株活性、BioMnO_x 的形成过程及结构变化等对吸附和有机物的降解影响相关性研究,对于生物铁锰反应器的参数设计及启动运行具有重要意义。

本研究以具有强锰氧化能力的 *Pseudomonas putida* 作为模式菌种,以水体中常见的 Fe(III) 为共存离子,通过研究 *P. putida* 形成锰氧化物的过程对 Fe(III) 的吸附及对 APAP 降解效率,确定 BioMnO_x 吸附过程对氧化能力的影响;提出 BioMnO_x 生物量对 APAP 降解的动力学并推断 APAP 的降解途径,为 BioMnO_x 应用于水体残留非甾体药物类的去除提供新思路及理论支撑。

1 实验

1.1 实验试剂

实验中所用药品有乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)(纯度 > 99.0%, 上海润捷化学试剂有限公司)、四氢呋喃(99.9%, J&K Chemical)、N-O 双(三

甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA, 99%, TCI), 其他无机试剂均为分析纯或优级纯, 甲醇、乙腈等有机试剂均为色谱纯。

1.2 生物锰氧化物的形成

实验所用菌株为恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida* QYS-1, CGMCCNO:14390), 从某除铁锰的生物滤池中筛选分离出来。

培养基成分(g/L): 蛋白胨 0.8, 酵母浸粉 0.2, K₂HPO₄ 0.1, MgSO₄·7H₂O 0.2, NaNO₃ 0.2, CaCl₂ 0.1, NH₄Cl 0.1, MnSO₄·H₂O 0.2。配置一定量的培养基, 然后用饱和 NaOH 调节 pH(7.1~7.2), 分装后放于灭菌器中 121℃ 灭菌 30 min。然后将其转入生物安全柜中, 冷却至室温。取 100 mL 装入锥形瓶中, 将 *Pseudomonas putida* QYS-1 母液以 1% 的接种量接入, 然后将其置于恒温振荡器中培养(温度 25℃, 转速 125 r/min), 培养 40 h, 每隔 2 h 取样。测其 OD₆₀₀ 监测生物锰氧化物的形成过程。取上层清液测铁锰离子质量浓度, 考察 BioMnO_x 形成过程对 Fe(III) 吸附的影响。

1.3 BioMnO_x 的制备

配置一批培养基, 以相同的条件灭菌冷却, 将母液以 1% 的接种量接入新配置的培养基中, 将其置于恒温振荡器中培养(温度 25℃, 转速 125 r/min) 40 h 左右生成黑色颗粒沉淀, 即培养完全。将培养完全的培养基转入灭菌的离心管中, 置于高速离心机中离心 20 min(温度 25℃, 转速 5 000 r/min), 弃掉上清液用无菌水反复水洗 3 次, 反复离心, 得到 BioMnO_x。

1.4 BioMnO_x 的形成过程中 Fe(III) 吸附及 APAP 氧化相互影响

配置一定量的培养基, 加入不同质量浓度的 APAP 溶液(10, 100 mg/L)、Fe(III) 以柠檬酸铁铵形式加入(1 g/L) 以及 1% 的恶臭假单胞菌母液, 同时设置 3 组平行样。将 *Pseudomonas putida* 接入的时间记为零时刻, 每隔一定时间取样。通过 HPLC 和 ICP-OES 测定溶液中不同时刻 APAP 的剩余质量浓度和 Fe(III) 质量浓度, 考察 BioMnO_x 形成过程中 Fe(III) 吸附及 APAP 氧化相互影响。

另外, 配置不同 Mn²⁺ 质量浓度(8.13, 16.25, 24.38, 32.50 mg/L) 的培养基, 接种 1% 的 *Pseudomonas putida* 母液, 每组设置 3 个平行样。不同量的 BioMnO_x 生成后离心收集, 加入 APAP 溶液中, 将 BioMnO_x 接入的时间记为零时刻, 每隔一定时间取样, 检测剩余 APAP 质量浓度, 以此探讨 BioMnO_x 的量对 APAP 氧化的影响。

1.5 *Pseudomonas putida* 对 APAP 的氧化活性

制备 6 组相同条件下生成的 BioMnO_x , 振荡离心后弃掉上清液, 将 BioMnO_x 与 10 mg/L APAP 的无菌溶液混合, 同时向其中 3 瓶加入 50 mg/L 的叠氮化钠, 作为抑制组 1, 其余 3 瓶不加作为对照组 1^[9]. 将其置于恒温振荡器中振荡 (温度 25 ℃; 转速 125 r/min). 将加入 BioMnO_x 的时间记为零时刻, 在振荡 2 h 及 24 h 时各取一次样, 测定溶液中 APAP 质量浓度. 通过两组 APAP 去除情况的比较, 探讨 *Pseudomonas putida* 的氧化活性对 Fe(III) 吸附及 APAP 氧化的影响.

振荡 24 h 后, 将两组溶液分别超声 1 h, 取其上清液检测溶液中铁锰质量浓度, 探讨其在 APAP 降解过程中的作用.

1.6 降解产物分析

配置一定质量浓度的 APAP 溶液, 加入生成的 BioMnO_x , 将 BioMnO_x 接入的时间记为零时刻, 每隔一定时间取样, 通过 GC-MS 系统分析降解产物.

1.7 分析方法

1.7.1 样品分析

实验中不同时刻所取的样品于 20 ℃、4 000 r/min 条件下离心 20 min, 上清液经 0.22 μm 滤膜过滤后于 4 ℃ 下保存, 用于后续实验分析.

APAP 质量浓度通过 HPLC-UV 系统分析, 配置反向 C18 高效液相色谱柱 (150 $\times$ 4.6 mm, 5 μm). 柱温设为 30 ℃, 进样量 20 μL . 流动相, $V(\text{甲醇}): V(\text{超纯水})$ (含 0.05% 冰乙酸) = 20: 80, 流速 0.5 mL/min, 检测波长 240 nm^[9].

溶液中铁锰离子质量浓度通过电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-OES) 测定.

1.7.2 动力学实验

对 APAP 的降解、 Mn^{2+} 的氧化过程进行一级反应动力学拟合, 反应速率方程如下

$$-\frac{d\rho}{dt} = k\rho. \quad (1)$$

积分形式为

$$\ln \frac{\rho_0}{\rho} = Kt. \quad (2)$$

式中: t 为时间, h; ρ 为 t 时刻 APAP 或 Mn^{2+} 的质量浓度, mg/L; ρ_0 为 0 时刻 APAP 或 Mn^{2+} 的质量浓度, mg/L; K 为反应速率常数.

1.7.3 降解产物分析

采用 GC-MS 分析主要降解产物, GC-MS 条件^[20]: 进样口温度 280 ℃, 采用程序升温, 初始 60 ℃, 保持 3 min, 然后以 10 ℃/min 升至 280 ℃, 保持 3 min; He 为载气, 流量 1 mL/min, 分流 20 mL/

min, 进样量 1 μL ; EI 源为电离源, 70 eV. 样品前处理: 取水样 150 μL , 加入气相色谱瓶中, 以轻柔的氮气吹干, 然后加入 150 μL 无水四氢呋喃和 60 μL BSTFA, 加盖密封后置于 40 ℃ 烘箱中衍生 30 min, 用于 GC-MS 分析.

1.7.4 BioMnO_x 表征方法

分别收集培养 24, 44 h 时的 BioMnO_x , 将其置于冷冻干燥机中冷冻干燥, 分别取少许置于电镜样品台上作喷金处理, 然后采用扫描电镜 (SEM, Quanta FEG 250, 美国)、透射电镜 (TEM, Talos F200 X, 美国) 对 BioMnO_x 的微观结构进行观察.

2 结果与讨论

2.1 BioMnO_x 的形成过程

从 *P. putida* QSY-1 接种至 6 h, 培养基保持澄清透明, 颜色为橙黄色, 从 6 h 起培养基溶液颜色加深, 为红棕色, 观测到 10 h 无明显沉淀, 但溶液逐渐浑浊; 从 10 h 起开始逐渐出现棕黑色锰沉淀物, 到 20 h 之间培养基呈黑褐色胶体状溶液, 静置不分层; 20 h 后大量絮状棕黑色沉淀逐渐积累, 静置后固液边界清晰, 上清液澄清透明; 由图 2 可知, OD_{600} 也与观测现象吻合, 在 6 ~ 18 h 呈线性递增, 20 h 后 OD_{600} 几乎不再增加, 但误差棒增大, 是因为锰氧化物颗粒变化较大, 培养基由乳浊液变化至可分离悬浊态, 说明 BioMnO_x 在形成过程中自身结构发生变化.

BioMnO_x 生成过程中的微观结构变化见图 1. 可以看出, 在 BioMnO_x 形成初期, BioMnO_x 表面较为平整, 但内部嵌布颗粒, 粒径较小, 直径约为 49.9 nm, 可见此时生物氧化形成的锰氧化物结晶较弱^[21], 由 TEM 图可以看出, BioMnO_x 为无定型的纳米颗粒. 在 24 ~ 44 h, BioMnO_x 结构发生了变化, 由平整演变为密集、突出的颗粒状, 颗粒边界更为清晰, 粒径约 70 nm. Tebo 等研究发现生物锰氧化物初级产物的晶体结构会随时间发生变化, 在初级产物中共存着正六边形和假直角型两种晶体结构. 12 h 时正六边形结构占主导, 之后假直角结构逐渐变成主导^[22].

由图 2 可知, 溶解性锰离子在 0 ~ 10 h 质量浓度变化较小, 10 ~ 20 h 迅速降低, 从 44.44 mg/L 降至 0.86 mg/L, 尤其是在 14 ~ 16 h, 2 h 内减少了 40.8 mg/L. Mn 离子的急剧减少并非是 Mn 离子的完全氧化, 因为 OD_{600} 在 2 h 内没有急剧增加, 仍处于线性递增, Mn 离子的急剧减少应源于 BioMnO_x 对 Mn 离子的吸附. Forrez 等^[23] 观察到锰氧化物形成过程中表面可吸附大量的 Mn 离子, 培养 20 h 时 $\text{Mn}^{2+}/\text{Mn}^{4+}$ 的比率为 0.57 mg/mg. 20 h 后, Mn 离子

质量浓度再次处于缓慢降低的过程,最终 Mn 离子质量浓度稳定在 0.15 mg/L 左右。

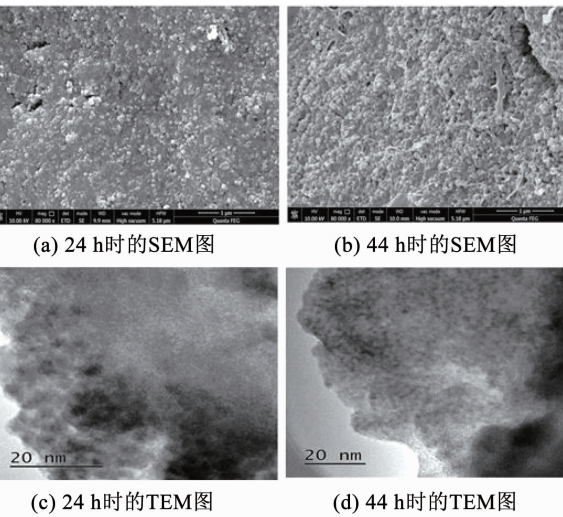


图 1 不同时刻 BioMnO_x 的 TEM 结构

Fig. 1 TEM structures of BioMnO_x at different time points

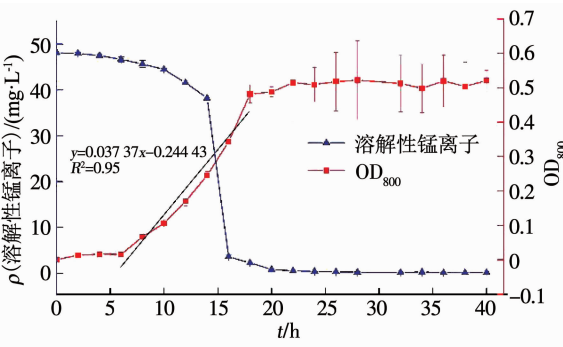


图 2 锰氧化物的形成

Fig. 2 Formation of manganese oxide

2.2 BioMnO_x 的形成过程对 Fe(Ⅲ) 的吸附及对 APAP 的氧化

由图 3 可知,BioMnO_x 对 Fe(Ⅲ) 的吸附发生在对 APAP 的氧化之前. 在 APAP 的共存体系中,无论 APAP 是低或高质量浓度(10,100 mg/L),Fe(Ⅲ) 的质量浓度变化趋势一致,即 0 ~ 12 h 质量浓度变化不大,保持在 123 mg/L 左右,而 12 ~ 16 h 急剧下降至 1.3 mg/L 左右,在 20 h 后少量回增又下降至稳定,保持在 1.2 mg/L 左右. 12 ~ 16 h 是锰氧化物初级产物形成期,其结构正逐渐由正六边形演化至假直角型^[22],Tebo 等^[22] 研究发现后者中的 Mn(Ⅳ) 缺位较少,而 Mn(Ⅳ) 空缺位点的数量直接影响到吸附能力. 因此,在 12 ~ 16 h BioMnO_x 对 Fe(Ⅲ) 显示出较强的吸附性能,16 ~ 20 h 则保持稳定. 20 h 以后 APAP 开始被 BioMnO_x 氧化,部分 Mn(Ⅳ) 氧化物作为电子受体转化为溶解性的 Mn(Ⅱ),结构改变致使吸附位点减少,已吸附的 Fe(Ⅲ) 被解吸释放.

通过比较 10 及 100 mg/L 的 APAP 体系可知,在 100 mg/L 体系中 Fe(Ⅲ) 的释放量(22.4 mg/L) 几乎为 10 mg/L 体系中(2.8 mg/L) 的 10 倍. 吸附后期随着 *P. putida* 的氧化作用,持续地将 Mn²⁺ 转化为 BioMnO_x,继而对释放的 Fe(Ⅲ) 重新吸附至接近 1.2 mg/L. 因此,APAP 与 Fe(Ⅲ) 共存时,BioMnO_x 对 APAP 的氧化影响了对 Fe(Ⅲ) 的吸附,致使其发生解吸,但解吸可通过持续的 BioMnO_x 生成而消除.

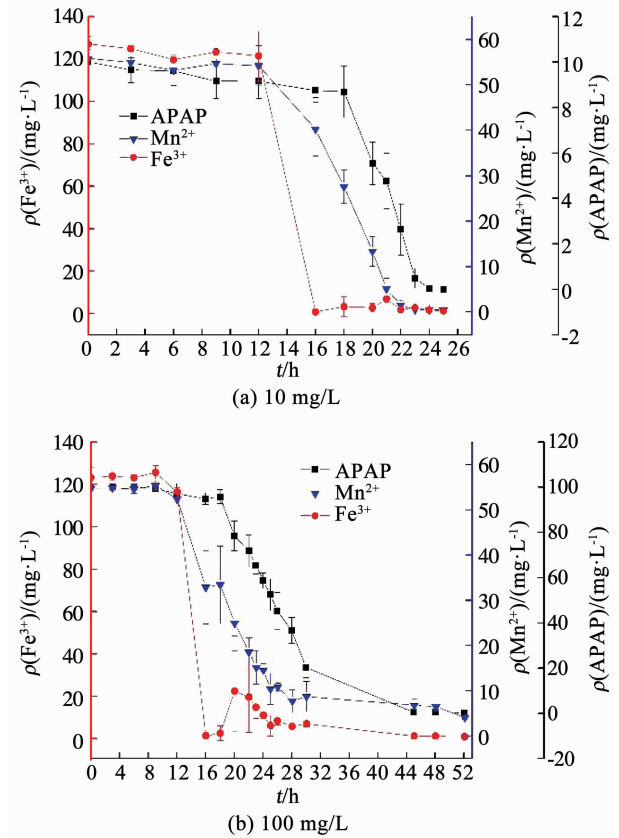


图 3 不同初始质量浓度 APAP 与 Fe³⁺、Mn²⁺ 质量浓度随时间的变化

Fig. 3 Variation of concentrations of Fe³⁺ and Mn²⁺ with time under different initial concentrations of APAP

BioMnO_x 对 APAP 的氧化滞后于对 Fe(Ⅲ) 急剧吸附,即在 18 h 左右 APAP 开始被氧化,此时溶液中已形成明显的固态 BioMnO_x,且 Fe(Ⅲ) 已分别降至 3.2,2.5 mg/L. 10 及 100 mg/L 的 APAP 降解趋势相似,即在 18 ~ 28 h 均呈线性降解,对其进行一级反应动力学拟合(图 4),一级反应线性相关系数均较好($R_{10}^2 = 0.93$; $R_{100}^2 = 0.982$),表明 APAP 在 18 ~ 28 h 降解反应均符合一级反应动力学模型. APAP 质量浓度为 10,100 mg/L 时,一级反应速率常数(K)分别为 0.241 08 和 0.084 57 h⁻¹(表 1). 表明 100 mg/L 质量浓度下 APAP 的降解速率慢,故 10 mg/L APAP 在 24 h 内就能实现完全降解,而 100 mg/L APAP 至少需要 52 h 左右才能完全降解.

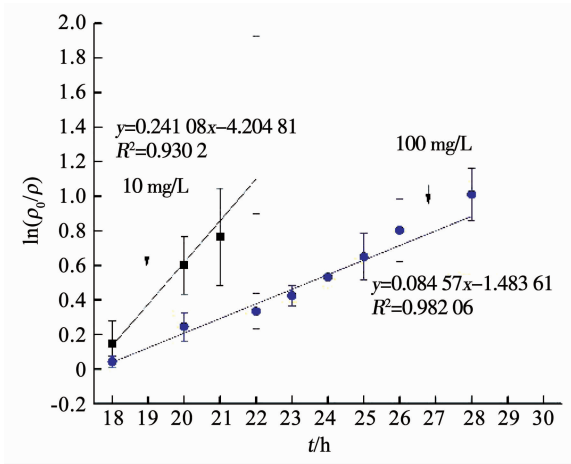


图 4 降解速率曲线

Fig. 4 Degradation rate curve

表 1 APAP 降解及锰氧化过程一级动力学方程参数				
Tab. 1 Parameters of first-order kinetic equation for APAP degradation and manganese oxidation				
实验组	$\rho_0/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	K/h^{-1}	$t_{1/2}/\text{h}$	R^2
APAP 降解	10	0.241 08	20.30	0.930
	100	0.084 57	25.70	0.982
Mn^{2+} 氧化	10	0.760 55	18.10	0.952
	100	0.134 36	19.14	0.971

APAP 的存在对 Mn^{2+} 的变化规律亦产生了影响. 由图 5 可知, 在只有 Fe^{3+} 存在而无 APAP 时, Mn^{2+} 在 14 ~ 16 h 由 38.2 mg/L 急剧减少至 3.62 mg/L, 然而在 APAP 存在时, Mn^{2+} 减少速率放缓(图 3). 为分析 APAP 质量浓度对 Mn^{2+} 氧化速率的影响, 取图 3(a) 中 18 ~ 23 h、图 3(b) 中 18 ~ 30 h Mn^{2+} 的氧化速率进行一级反应动力学拟合, 反应速率方程拟合曲线如图 6 所示, 可以看出, Mn^{2+} 的氧化速率符合一级动力学方程, 且速率常数与相对应质量浓度的 APAP 氧化速率常数接近, 即 10、100 mg/L APAP 质量浓度下的 Mn^{2+} 氧化速率常数 K_{Mn} 分别为 0.760 55 和 0.134 36 h^{-1} , $K_{(\text{Mn}, 10)}$ 远大于 $K_{(\text{Mn}, 100)}$, 同时 $K_{(\text{APAP}, 10)}$ 也远大于 $K_{(\text{APAP}, 100)}$ (表 1), 表明 100 mg/L 质量浓度下的 Mn^{2+} 氧化速率低, 导致该质量浓度下 APAP 的降解速率较慢. 锰氧化速率的降低应该是由 APAP 对 *Pseudomonas putida* 生长抑制作用导致, 本课题组前期实验表明, 高质量浓度下(100 mg/L)的 APAP 对 *Pseudomonas putida* 生长有抑制作用, 100 mg/L 的 APAP 培养基中细菌数量较 10 mg/L 减少了约 75%, 因此, 对 Mn^{2+} 的氧化速率产生影响, 进而导致高质量浓度 APAP 降解速率降低.

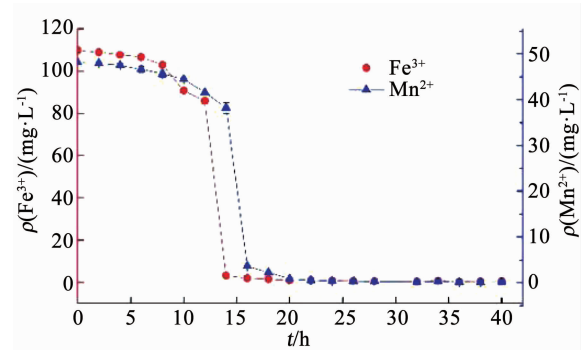


图 5 无 APAP 存在时铁锰离子质量浓度变化

Fig. 5 Variation of concentrations of Fe^{3+} and Mn^{2+} in the absence of APAP

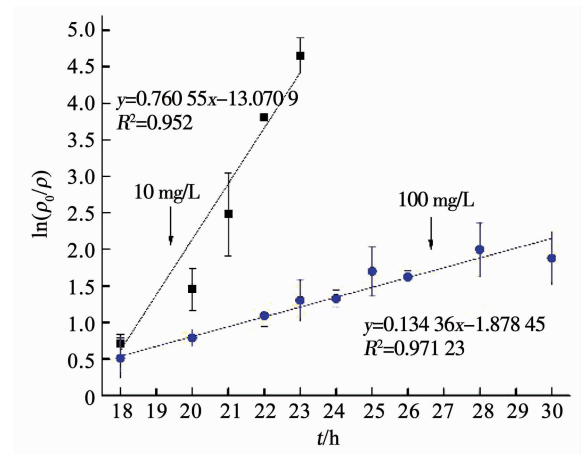


图 6 Mn^{2+} 氧化速率曲线

Fig. 6 Mn^{2+} oxidation rate curve

在 *Pseudomonas putida* 氧化 Mn^{2+} 生成 BioMnO_x 过程中, 虽然对 $\text{Fe}(\text{III})$ 的吸附先于对 APAP 的氧化, 但对 $\text{Fe}(\text{III})$ 的吸附并未对 APAP 的氧化速率产生影响; APAP 的氧化过程中则会导致 $\text{Fe}(\text{III})$ 解吸的发生, 但新增的 BioMnO_x 可对 $\text{Fe}(\text{III})$ 再吸附; APAP 质量浓度增加可抑制 Mn^{2+} 的氧化速率来减缓 APAP 的降解速率. 因此, *Pseudomonas putida* 对 Mn^{2+} 的氧化活性及 BioMnO_x 的量将会对 APAP 降解造成影响.

2.3 *Pseudomonas putida* 的氧化活性对 $\text{Fe}(\text{III})$ 吸附及 APAP 氧化的影响

本实验利用叠氮化钠抑制 *Pseudomonas putida* 的活性^[9]. 由图 7 可知, *Pseudomonas putida* 的活性被抑制后 APAP 的降解效果变差, 反应 2 h 时, 对照组 1 中 APAP 的去除率为 72%, 而抑制组 1 中其去除率只有 33%, 反应 24 h 时, 对照组 1 中 APAP 的去除率达 100%, 实现完全降解, 而抑制组 1 中 APAP 的去除率与反应 2 h 时相比几乎没有变化, 说明 *Pseudomonas putida* Mn^{2+} 氧化活性的抑制严重影响了 APAP 的降解. Sabirova 等^[24] 也发现了叠氮化钠可以抑制 *Pseudomonas putida* 的活性使其降解

17 α -炔雌醇的能力变差,这是因为由于叠氮化钠的抑制作用,*Pseudomonas putida* 活性受到抑制后就无法继续氧化培养基中的 Mn²⁺,使得培养基丧失持续产生 BioMnO_x的能力,进而导致有机污染物不能被完全降解.所以,抑制组1中 APAP 的去除率没有随反应时间的延长而有所变化.抑制组1中反应2 h 时达到的33%的去除率可能是加入叠氮化钠前培养基中已经生成的 BioMnO_x作用的结果.以上证明 APAP 质量浓度的增加可以抑制培养基中 Mn²⁺ 的氧化速率进而减缓 APAP 的去除速率.

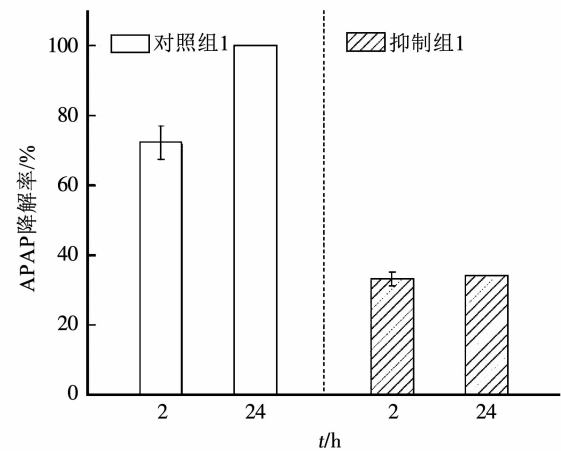


图7 APAP 降解效率
Fig. 7 Degradation efficiency of APAP

对照组1和抑制组1超声后检测溶液中溶解性铁锰离子质量浓度,结果显示两组中铁离子质量浓度均非常低,约为零,这表明*Pseudomonas putida* 的氧化活性抑制对 BioMnO_x吸附没有产生影响.抑制组1中 Mn²⁺ 质量浓度平均为9.3 mg/L,对照组1中 Mn²⁺ 质量浓度仅为0.5 mg/L.这也表明 BioMnO_x对 Fe(Ⅲ)的吸附并非为与 Mn²⁺ 的离子交换机制.结合上文实验结果,对照组1中 APAP 的去除率达100%,而抑制组1中 APAP 的去除率仅达33%,这说明培养基中 Mn²⁺ 的持续氧化是实现 APAP 能够达到完全降解的重要因素.对照组中由于 BioMnO_x 表面负载少量 Mn²⁺,在与 APAP 溶液混合后,表面的 Mn²⁺ 不断被释放出来,*Pseudomonas putida* 持续氧化 Mn²⁺,继而生生成新的 BioMnO_x,不断生成的 BioMnO_x能够促使溶液中的 APAP 持续降解,所以,对照组1中的 APAP 去除效果较抑制组1更为显著,同时,由于培养基中 Mn²⁺ 被不断消耗生成新的 BioMnO_x,其超声后的质量浓度较低.而抑制组1中,由于*Pseudomonas putida* 的活性被抑制,进而 Mn²⁺ 氧化作用被抑制,不能生成新的 BioMnO_x,APAP 的降解只能由培养基中原有的 BioMnO_x来实现,由于原有的 BioMnO_x量很少,抑制组1中的

APAP 不能实现完全降解,超声后的 Mn²⁺ 质量浓度也比对照组1中的高.因此,BioMnO_x量对 APAP 的氧化产生一定影响.

2.4 BioMnO_x量对 APAP 氧化的影响

BioMnO_x量对 APAP 氧化速率常数的线性关系采用一级反应动力学进行拟合(见图8和表2),其相关系数均较好($R^2=0.92\sim0.99$),符合一级反应动力学模型. Mn²⁺ 质量浓度为24.38,32.50 mg/L 时所生成的 BioMnO_x能够在14 h 内实现 APAP 降解完全,而 Mn²⁺ 质量浓度为8.13,16.25 mg/L 时所生成的 BioMnO_x分别在24,18 h 时才能实现 APAP 降解完全,说明 APAP 所需完全降解的时间与生成的 BioMnO_x的量成正相关.

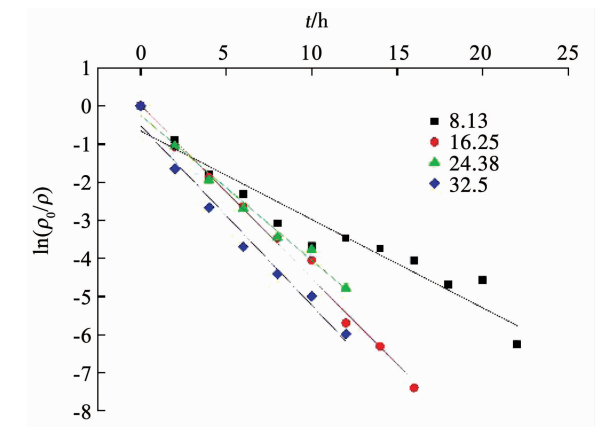


图8 速率常数曲线
Fig. 8 Rate constant curve

表2 速率常数曲线参数

Tab. 2 Rate constant curve parameters			
实验组	$\rho_{Mn}/(mg \cdot L^{-1})$	K/h^{-1}	$t_{1/2}/h$
1	8.13	0.232 09	0.155
2	16.25	0.453 24	1.562
3	24.38	0.380 47	1.189
4	32.5	0.471 53	0.378

2.5 APAP 的氧化降解途径推断

采用 GC-MS 对 APAP 氧化降解的中间产物进行分析^[12],结果列于表3,根据表3推测 APAP 氧化降解可能的降解途径,结果见图9.

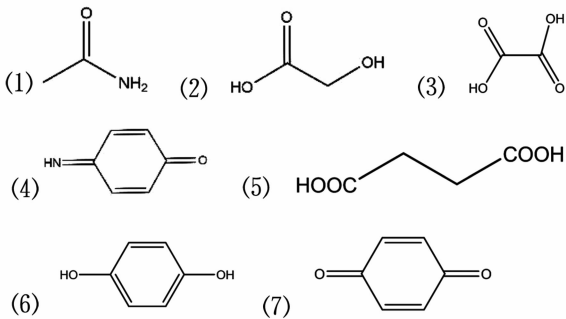
首先 APAP 苯环上的乙酰基被取代生成乙酰胺(1)、对氨基苯酚和对苯二酚(6),(1)进一步被氧化为乙醇酸(2),继而生生成乙二酸(3),最终氧化为二氧化碳和水;同时对氨基苯酚的-NH₂被取代生成(6),之后(6)脱下羟基生成苯醌(7),(7)进一步开环裂解、双键打开生成顺丁烯二酸,顺丁烯二酸继续被氧化生成(3)^[25],最终被矿化为二氧化碳和水,或者对氨基苯酚被氧化生成苯醌亚胺(4),进一步再

表 3 APAP 降解的中间产物结构推测

Tab. 3 Conjecture about structures of intermediate products in APAP degradation

编号	t_{R}/min	m/z (峰度)	硅烷化后相对分子质量	推测结构
I	6.637	113.2(30),112(11),91(1),85(17),71(100),70.1(46),57(64),56.1(12)	137.4	(1)
II	8.925	249.9(13),172(9),171(89),169(100),142.2(16),90.1(4),89.1(28),63(17)	249.9	(2)
III	10.684	168.9(3),142.2(48),91(33),89.2(46),78.9(35),71.1(100),57(84),51(56)	207	(3)
IV	11.209	159.1(7),145(66),127(9),115(2),103(18),76.1(1),75(100),73.1(62),59(7)	159.1	(4)
V	11.779	185.2(7),143.1(10),142.2(100),100.2(36),98.1(5),84.3(4),58.1(6)	207	(5)
VI	12.930	181.1(14),166(11),155(18),149.1(15),147(100),75(10),73.1(23)	182	(6)
VII	15.038	281(8),207(24),143.2(1),142.1(100),78(7),57.1(14)	281	(7)

生成(7),然后重复上述降解途径;(6)同时被氧化生成(7)和丁二酸(5),(5)继续氧化生成(3),而(7)重复上述降解途径,最终生成二氧化碳和水。



2) BioMnO_x 形成过程中对 Fe(III) 的吸附发生在对 APAP 的氧化之前,但对 Fe(III) 的吸附并未对 APAP 的氧化速率产生显著影响. APAP 氧化降解过程以及不同 APAP 质量浓度对 Mn^{2+} 氧化速率影响过程均符合一级动力学方程。

3) APAP 质量浓度增加可抑制 Mn^{2+} 的氧化速率来减缓 APAP 的降解速率. *Pseudomonas putida* 对 Mn^{2+} 的氧化活性及 BioMnO_x 的量对 APAP 降解有一定的影响。

4) 在 APAP 氧化降解过程中,生成了对苯二酚、乙酰胺、对氨基苯酚等一系列产物,随后继续被氧化为结构更简单的有机物,最后生成 CO_2 和 H_2O ,实现 APAP 的降解。

参考文献

[1] 张伦. 扑热息痛市场分析[J]. 中国药房, 2002, 13(1): 11
ZHANG Lun. Market analysis of paracetamol[J]. China Pharmacy, 2002, 13(1): 11. DOI: 10.3969/j.issn.1001-0408.2002.01.003

[2] VEACH A M, BERNOT M J. Temporal variation of pharmaceuticals in an urban and agriculturally influenced stream[J]. Science of the Total Environment, 2011, 409(21): 4553. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2011.07.022

[3] GIBSON R, DURAN-ÁLVAREZ J C, ESTRADA K L, et al. Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico[J]. Chemosphere, 2010, 81(11): 1437. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.09.006

[4] BEDNER M, MACCREHAN W A. Transformation of acetaminophen by chlorination produces the toxicants 1,4-benzoquinone and N-acetyl-p-benzoquinone imine [J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(2): 516. DOI: 10.1021/es0509073

[5] SANTOS J L, APARICIO I, ALONSO E. Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. A case study: Seville city (Spain) [J]. Environment International, 2007, 33(4): 596. DOI: 10.1016/j.envint.2006.09.014

[6] STUER-LAURIDSEN F, BIRKVED M, HANSEN L P, et al. Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use[J]. Chemosphere, 2000, 40(7): 783.

图 9 APAP 氧化降解可能的降解途径

Fig. 9 Possible degradation pathways of APAP oxidative degradation

3 结 论

1) BioMnO_x 为无定型的纳米颗粒,在形成过程中自身结构发生变化,表面由平整变为密集、突出的颗粒状,颗粒边界更为清晰,颗粒粒径从约 49.9 nm 长至约 70 nm. BioMnO_x 在形成过程中 Mn 离子的急剧减少主要是由于 BioMnO_x 对 Mn 离子的吸附。

DOI: 10.1016/S0045-6535(99)00453-1

[7] ZHANG Yongjun, ZHU Hong, SZEZYK U, et al. Removal of pharmaceuticals in aerated biofilters with manganese feeding[J]. Water Research, 2015, 72: 218. DOI: 10.1016/j.watres.2015.01.009

[8] JONES O A, LESTER J N, VOULVOULIS N. Pharmaceuticals: A threat to drinking water? [J]. Trends in Biotechnology, 2005, 23(4): 163. DOI: 10.1016/j.tibtech.2005.02.001

[9] 黄馨. 铁锰对 *Pseudomonas putida* 降解单苯环非甾体抗炎药的影响[D]. 天津: 天津理工大学, 2017

HUANG Xin. Effects of Fe and Mn on single benzene ring nonsteroidal anti-inflammatory drugs degradation by *Pseudomonas putida*[D]. Tianjin: Tianjin University of Technology, 2017

[10] 孙向阳, 胡正峰, 孙璐, 等. 典型 PhACs 的检测分析方法研究进展[J]. 黑龙江科学, 2016, 7(23): 6

SUN Xiangyang, HU Zhengfeng, SUN Lu, et al. Review of detection and analysis methods of typical PhACs[J]. Heilongjiang Science, 2016, 7(23): 6. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8646.2016.23.003

[11] BRILLAS E, SIRÈS I, ARIAS C, et al. Mineralization of paracetamol in aqueous medium by anodic oxidation with a boron-doped diamond electrode[J]. Chemosphere, 2005, 58(4): 399. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.09.028

[12] ANDREOZZI R, CAPRIO V, MAROTTA R, et al. Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and H₂O₂/UV system[J]. Water Research, 2003, 37(5): 993. DOI: 10.1016/S0043-1354(02)00460-8

[13] SKOUMAL M, CABOT P L, CENTELLAS F, et al. Mineralization of paracetamol by ozonation catalyzed with Fe²⁺, Cu²⁺ and UVA light[J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2006, 66(3/4): 228. DOI: 10.1016/j.apcatb.2006.03.016

[14] YANG Liming, YU L E, RAY M B. Degradation of paracetamol in aqueous solutions by TiO₂ photocatalysis [J]. Water Research, 2008, 42(13): 3480. DOI: 10.1016/j.watres.2008.04.023

[15] YANG Liming, YU L E, RAY M B. Photocatalytic oxidation of paracetamol: Dominant reactants, intermediates, and reaction mechanisms[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(2): 460. DOI: 10.1021/es8020099

[16] LI Tinggang, LIU Junxin, BAI Renbi, et al. Biodegradation of organonitriles by adapted activated sludge consortium with acetone nitrile-degrading microorganisms [J]. Water Research, 2007, 41(15): 3465. DOI: 10.1016/j.watres.2007.04.033

[17] 梁金松, 柏耀辉, 胡承志, 等. 锰生物氧化的研究进展及在水处理中的应用[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(1): 11

LIANG Jinsong, BAI Yaohui, HU Chengzhi, et al. Research progress of biogenic manganese oxides and application potential in water treatment process [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2013, 19(1): 11. DOI: 10.3724/SP.J.1145.2013.00011

[18] DUCKWORTH O W, BARGAR J R, SPOSITO G. Sorption of ferric iron from ferrioxamine B to synthetic and biogenic layer type manganese oxides[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2008, 72(14): 3371. DOI: 10.1016/j.gca.2008.04.026

[19] 菅之舆, 常洋洋, 王立新, 等. 化学预氧化耦合生物锰氧化对水中有机物的去除[J]. 环境科学, 2018, 39(3): 1188

JIAN Zhiyu, CHANG Yangyang, WANG Lixin, et al. Removal of organic matter from water by chemical preoxidation coupled with biological manganese oxidation[J]. Environmental Sciences, 2018, 39(3): 1188. DOI: 10.13227/j.hjxx.201707103

[20] 曹飞, 袁守军, 张梦涛, 等. 臭氧氧化水溶液中对乙酰氨基酚的机制研究[J]. 环境科学, 2014, 35(11): 4185

CAO Fei, YUAN Shoujun, ZHANG Mengtao, et al. Impact factors and degradation mechanism for the ozonation of acetaminophen in aqueous solution [J]. Environmental Sciences, 2014, 35(11): 4185. DOI: 10.13227/j.hjxx.2014.11.020

[21] 苏键镁. 细菌氧化锰的作用机理及生物锰氧化物的特性研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2015

SU Jianmei. Studies on the mechanism of bacterial Mn(Ⅱ) oxidation and characteristics of biological manganese oxides [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2015

[22] TEBO B M, BARGAR J R, CLEMENT B G, et al. Biogenic manganese oxides: Properties and mechanisms of formation [J]. Annual Review of Earth and Planetary Sciences, 2004, 32: 287. DOI: 10.1146/annurev.earth.32.101802.120213

[23] FORRZE I, CARBALLA M, FINK G, et al. Biogenic metals for the oxidative and reductive removal of pharmaceuticals, biocides and iodinated contrast media in a polishing membrane bioreactor [J]. Water Research, 2011, 45(4): 1763. DOI: 10.1016/j.watres.2010.11.031

[24] SABIROVA J S, CLOETENS L F F, VANHAECKE L, et al. Manganese-oxidizing bacteria mediate the degradation of 17 α -ethinylestradiol [J]. Microbial Biotechnology, 2008, 1(6): 507. DOI: 10.1111/j.1751-7915.2008.00051.x

[25] SANTOS A, YUSTOS P, QUINTANILLA A, et al. Route of the catalytic oxidation of phenol in aqueous phase [J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2002, 39(2): 97. DOI: 10.1016/S0926-3373(02)00087-5

(编辑 刘 彤)