

张方,陈友媛,戴立前,等.炭基菌剂高效还原土壤Cr(VI)的电子传递路径[J].中国环境科学,2025,45(6):3180-3189.

Zhang F, Chen Y Y, Dai L Q, et al. Electron transfer pathways for efficient reduction of soil Cr(VI) by biochar-based microbial agents [J]. China Environmental Science, 2025,45(6):3180-3189.

炭基菌剂高效还原土壤Cr(VI)的电子传递路径

张方¹,陈友媛^{1,2*},戴立前³,乔雪琴¹,颜雨欣¹,杨阳¹,刘乐成^{1,2} (1.中国海洋大学环境科学与工程学院,山东青岛266000; 2.中国海洋大学环境与生态教育部重点实验室,中国海洋大学山东省海洋环境地质工程重点实验室,山东青岛266000; 3.浙江省湖州市生态环境局安吉分局,浙江湖州313300)

摘要: 为了阐明生物炭和典型功能微生物希瓦氏菌 MR-1(*Shewanella oneidensis* MR-1)在电子传递中的协同作用,以Cr(VI)污染土壤为载体,开展了电化学,动力学,电子传递路径识别等研究.结果表明,炭基菌剂对Cr(VI)污染土壤具有较好的修复效果,修复机制以MR-1对Cr(VI)的生物还原为主,符合双过程动力学模型.25mg/kg Cr(VI)含量,5%炭基菌剂投加量,30%土壤含水率时,炭基菌剂还原土壤Cr(VI)的效率最高,可达96.30%.吸附法炭基菌剂还原Cr(VI)迅速,但持续性性能差;包埋法炭基菌剂还原Cr(VI)慢,但长期稳定发挥作用.生物炭作为微生物载体促进MR-1生长的同时,将MR-1表面的电子经由碳骨架传递至Cr(VI),提高了Cr(VI)还原效率.3个循环后炭基菌剂对Cr(VI)的还原率仍可达到60.44%,表明炭基菌剂在长期高效修复铬污染土壤方面有一定的应用前景.

关键词: 炭基菌剂; Cr(VI)还原; 土壤修复; MR-1; 电子传递

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)06-3180-10

Electron transfer pathways for efficient reduction of soil Cr(VI) by biochar-based microbial agents. ZHANG Fang¹, CHEN You-yuan^{1,2*}, DAI Li-qian³, QIAO Xue-qin¹, YAN Yu-xin¹, YANG Yang¹, LIU Le-cheng^{1,2} (1.College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2.Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Shandong Provincial Key Laboratory of Marine Environment and Geological Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 3.Anji Branch of Huzhou Ecological Environment Bureau in Zhejiang Province, Huzhou 313300, China). *China Environmental Science*, 2025,45(6): 3180-3189

Abstract: This study systematically investigated the synergistic interactions between biochar and the model electroactive microorganism *Shewanella oneidensis* MR-1 in electron transfer processes through comprehensive electrochemical analyses, kinetic modeling, and electron pathway characterization using chromium(VI)-contaminated soil as the experimental matrix. The biochar-based microbial agents demonstrated effective Cr(VI) bioremediation, with biological reduction mediated by MR-1 identified as the predominant mechanism following dual-process kinetics. Optimal remediation performance (96.30% Cr(VI) reduction efficiency) was achieved under conditions of 25mg/kg Cr(VI) contamination, 5% (w/w) biochar-based microbial agents dosage, and 30% soil moisture content. Comparative analysis revealed distinct temporal remediation patterns: adsorption-based biochar-microbial composites exhibited rapid initial Cr(VI) sequestration but limited long-term stability, whereas encapsulation-based formulations showed gradual but sustained reduction capacity. Mechanistic studies demonstrated that biochar functioned as an effective microbial carrier, simultaneously enhancing MR-1 proliferation and facilitating extracellular electron transfer from microbial cells to Cr(VI) contaminants through its conductive carbon matrix. Notably, the immobilized system maintained 60.44% reduction efficiency after three operational cycles, highlighting its potential for sustainable in situ remediation of chromium-contaminated soils.

Key words: biochar-based microbial agents; reduction of Cr(VI); soil remediation; MR-1; electron transport

自然状态下,土壤中的铬主要以稳定的Cr(VI)和Cr(III)存在,Cr(VI)的毒性是Cr(III)的100~1000倍,对人体有致癌,致畸,致突变的作用^[1].希瓦氏菌MR-1(*Shewanella oneidensis* MR-1)广泛分布于土壤,水体和沉积环境^[2],可利用环境中的电子将Cr(VI)还原为Cr(III),降低Cr(VI)的环境风险^[3-4].然而,暴露在Cr(VI)污染环境中,MR-1细胞膜受损,酶活性降

低,还原Cr(VI)的效果不佳^[5-6].

固定化菌剂通过吸附,包埋,共价结合等方式,将微生物固定在载体材料上,保护微生物免受外界环境的干扰,可提高微生物的活性^[7-8].生物炭是在限氧

收稿日期: 2024-11-17

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(42207060)

* 责任作者, 教授, youyuan@ouc.edu.cn

环境下热解产生的稳定碳质材料^[9],其多孔结构可以以为微生物的生长和繁殖提供理想的生存空间,官能团能够固定微生物,碳骨架等组分能够介导生物电子快速传递,是固定微生物的优良载体^[10].炭基菌剂具有环境友好,成本低,效果显著等优势,已广泛应用于重金属还原^[11],有机农药分解^[12],增塑剂降解^[13]等领域.一方面,生物炭作为载体,促进微生物生长,从而增加反应体系中生物电子的数量^[14];另一方面,生物炭的官能团,碳骨架将微生物产生的电子快速传递给污染物,提高了电子的利用率^[15].然而,当前主要关注炭基菌剂的宏观修复效果,生物炭如何影响微生物产生的电子运输到 Cr(VI)的具体路径尚不清楚.

基于此,本文通过分析炭基菌剂的特征及其还原土壤 Cr(VI)的动力学特性,探究环境因素对炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)的影响,阐明炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)的电子传递路径,了解炭基菌剂的作用机制.

1 材料与方 法

1.1 供试土壤

污染土壤的 Cr(VI)浓度设定参考其他实验研究^[16].本底土取自青岛市某农田表层 0~20cm,未检出 Cr(VI)和总铬,自然风干一周,过 10 目筛储存.将 3 份 1kg 本底土与 1L 浓度分别为 25,50 和 100mg/L 的 $K_2Cr_2O_7$ 溶液混合,风干混合物至恒重,所得污染土壤 Cr(VI)含量分别为 25,50 和 100mg/kg,实验前对铬污染土壤灭菌.

1.2 炭基菌剂的制备和表征

1.2.1 生物炭的制备与表征 花生壳生物炭的制备采用限氧慢速热解法.花生壳购自商丘市宁陵县.称取 70g 花生壳于 200mL 瓷坩埚中,置于气氛炉 (GR.AF80/14,上海),以 5°C/min 的速率升温至 700°C 并停留 2h,冷却至室温后,研磨过 100 目筛,记作 BC700.利用比表面积分析仪 (ASAP2460,美国)测定生物炭的比表面积;利用 pH 计以 1:20 的固水比测定生物炭悬浮液的 pH 值;利用元素分析仪 (Elementar UNICUBE,德国)测定生物炭的 C,H,O,N 和 S 元素;利用傅里叶变换红外光谱仪 (Tensor 27,德国)表征生物炭的官能团;采用电化学工作站 (Gamry reference 600+,美国)测定生物炭和炭基菌剂的循环伏安曲线.

1.2.2 细菌的培养 MR-1 购自中国典型培养物保藏中心,编号为 CCTCC AB 2013238.菌株活化后接种至 LB 培养基,在 30°C,180r/min 的振荡箱中培养 12h 至对数增长期,于 30°C,4500r/min 条件下离心 10min 收获 MR-1 悬浮液,用无机盐培养基洗涤 2 次后,调节菌液细胞密度 (OD₆₀₀) 至 1.0,4°C 保存备用^[13].

LB 培养基的配制:10g 蛋白胨,5g 酵母浸粉和 10g NaCl 用去离子水定容至 1L,用 0.1mol/L NaOH 或 0.1mol/L HCl 调节 pH 值至 7.2~7.4,于灭菌锅 (BXM-30R,上海) 121°C 灭菌 30min.

无机盐培养基的配制:11.91g HEPES,0.46g NaCl,0.225g (NH₄)₂SO₄,0.117g MgSO₄·7H₂O,0.225g K₂HPO₄,0.225g KH₂PO₄,10mL 微量元素和 20mmol/L 乳酸钠用去离子水定容至 1L,用 0.1mol/L NaOH 调节 pH 值为 7.2.使用高纯氮气 (N₂) 曝气 1h 除尽氧气后密封,于灭菌锅 (BXM-30R,上海) 121 °C 灭菌 30min.微量元素的配制:0.1g NaSeO₄,0.1g MnCl₂,0.04g CuSO₄,0.17g CoCl₂,0.3g FeSO₄,0.1g ZnCl₂,0.005g H₂BO₃,0.09g Na₂MoO₄,0.005g KAl(SO₄)₂·12H₂O,0.12g NiCl₂ 和 0.02g NaWO₄ 用去离子水定容至 1L.

1.2.3 炭基菌剂的制备 称取 2.5g 灭菌生物炭于 100mL 锥形瓶中,加入 50mL MR-1 悬浮液于 30°C,180r/min 的振荡箱培养 8h,用无菌去离子水清洗 2 次后,常温风干,获得吸附法炭基菌剂^[17-18],记作 AM.2.5g 灭菌生物炭,50mL MR-1 悬浮液和 50mL 20g/L 的海藻酸钠混合于 150mL 锥形瓶,30°C,180r/min 振荡培养 2h 后,使用注射器将混合物均匀滴至 2% CaCl₂(m:v)溶液中形成 3~4mm 的固定化微球,4°C 条件下固定 4h,用无菌去离子水清洗,获得包埋法炭基菌剂^[19-20],记作 EM.制备的 2 种炭基菌剂均置于无菌血清瓶中,4°C 保存备用.采用扫描电子显微镜 (SU8010,日本)观察炭基菌剂的表面形貌.

1.3 炭基菌剂电子传递系统活性测定

通过还原 2-(对碘苯基)-3-(对硝基苯基)-5-苯基四氮唑氯化物 (INT) 为三苯基甲烷,测定反应体系的电子传递系统活性 (ETSA)^[21].将 5mL MR-1 悬浮液,0.25g 生物炭和 1mL 0.2% 的 INT 溶液在 35°C,140r/min 条件下振荡培养 30min,加入 1mL 37% 的甲醇终止酶反应,8000r/min 离心分析 5min,加入 5mL 甲醇重新悬浮收集的细胞,再次进行振荡培养,离心

分离,于 485nm 波长处测定三苯基甲烷的吸光度,由式(1)计算 ETSA:

$$ETSA = \frac{D_{485} \times V}{k \times W \times t} \quad (1)$$

式中:ETSA 为电子传递系统活性, $\mu\text{g}/(\text{mg}\cdot\text{h})$; D_{485} 为 485nm 波长下的吸光度,无量纲; V 为萃取剂的体积, mL; k 为标准曲线斜率, mL/ μg ; W 为微生物量, mg; t 为反应时间, h.

1.4 影响土壤 Cr(VI)还原实验设计

1.4.1 还原动力学 为探究 BC700, MR-1, 2 种炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)的动力学特征,在 $\Phi 90\text{mm} \times 20\text{mm}$ 的无菌聚苯乙烯培养皿中进行动力学实验.称取 20g, 30% 含水率的 50mg/kg Cr(VI)污染土壤于无菌聚苯乙烯培养皿,均匀加入 1g BC700, 1mL MR-1 悬浮液, 1g AM, 1g EM, 每个处理组设置 3 个平行样,置于厌氧手套箱(COY-8304265, 美国)常温黑暗培养,分别于 1, 2, 3, 4, 6, 9, 13, 18 和 21d 取样,测定反应体系 Cr(VI)的含量.

采用拟一级动力学模型,拟二级动力学模型,双过程模型拟合 Cr(VI)还原动力学,探究 MR-1, AM 和 EM 的 Cr(VI)还原特性^[22-23].

双过程动力学模型:

$$C_t = C_0 - \left[r_s \times t + \frac{r_f}{k_d} (1 - \exp(-k_d' \times t)) \right] \quad (2)$$

式中: t 为反应时间, d; C_t , C_0 分别为 t 时刻和初始

Cr(VI)含量, mg/kg; r_s 和 r_f 为慢速、快速反应速率常数, mg/(kg·d); k_d' 为类似于—阶失活常数的系数, 无量纲.

1.4.2 影响因素实验 为探究土壤 Cr(VI)污染程度, 菌剂投加量, 土壤含水率在炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)过程的作用, 设置 MR-1 组, AM 组和 EM 组 3 个实验组, 在 $\Phi 90\text{mm} \times 20\text{mm}$ 的无菌聚苯乙烯培养皿中进行影响因素实验, 实验条件同上. 具体参数如表 1 所示.

表 1 影响土壤 Cr(VI)还原的因素实验设计

Table 1 Experimental design of factors influencing soil Cr(VI) reduction

土壤 Cr(VI)还原 实验设计	取样时间 (d)	Cr(VI)污染程 度(mg/kg)	菌剂投加量 (质量比)(%)	土壤含水率 (%)
Cr(VI)污染程度	7, 14, 21	25, 50, 100	3	30
炭基菌剂投加量	7, 14, 21	50	1, 3, 5	30
土壤含水率	7, 14, 21	50	3	10, 20, 30

1.4.3 电子抑制剂实验 为探究炭基菌剂促进 Cr(VI)还原的电子传递路径, 以 AM 为代表, 使用 3 种典型的电子抑制剂: 鱼藤酮, 双香豆素和抗霉素 A 进行电子抑制剂实验. 以不加电子抑制剂为对照 (CK), 分别向无菌聚苯乙烯培养皿中加入 0.2mL 0.1mmol/L 的鱼藤酮, 双香豆素和抗霉素 A, 其他反应条件同还原动力学实验. 21d 后, 测定反应体系 Cr(VI)含量. 各抑制剂的主要作用位点见表 2.

表 2 电子抑制剂的主要抑制作用

Table 2 Major inhibitory effects of electron inhibitors

抑制剂	浓度(mmol/L)	溶剂	主要抑制作用	参考文献
鱼藤酮	0.1	丙酮	抑制电子从 NADH-泛醌还原酶传递至泛醌	[24]
抗霉素 A	0.1	乙醇	抑制细胞色素 b 至细胞色素 c 的电子传递	[25]
双香豆素	0.1	NaOH	抑制醌, 氢醌的氧化还原循环	[26]

1.4.4 循环效能实验 为评估炭基菌剂的循环使用效能, 设计 MR-1, AM 和 EM 3 个处理组, 实验条件同上. 每隔 21d 向反应体系补充 Cr(VI), 使污染土壤 Cr(VI)含量恢复 50mg/kg, 定时取样测定反应体系 Cr(VI)含量.

1.5 数据处理

所有数据都显示为平均值 \pm 标准偏差, 采用 Microsoft Excel 2016 计算标准偏差, SPSS 27.0 进行单因素分析, 图中不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$).

Origin 2021 和 Adobe Illustrator 2021 绘图.

2 结果与分析

2.1 生物炭和炭基菌剂的表面结构特征

如表 3 所示, 700 $^{\circ}\text{C}$ 限氧热解条件下, 生物炭的产率为 39.82%, pH 值为 8.16, 呈弱碱性. 其比表面积为 170.69 m^2/g , 较大的比表面积为微生物的生长提供了更多的附着位点和生存空间^[27]. 生物炭富含营养元素, 其中, 碳, 氢, 氧, 氮, 硫的含量分别为 31.56%, 0.97%,

13.71%,0.72%和 2.90%,能够为微生物的生长提供碳源和营养,促进微生物的生长^[28].BC700 的 O/C 比为 0.43,表明生物炭表面可能含有-OH,-COOH 等多种含氧官能团,H/C 比仅为 0.03,意味着生物炭具有较强的芳香性^[29].

如图 1 (a)所示,生物炭在波数 1100,1430,1640,2900 和 3650 cm^{-1} 处有较强的吸收峰,分别对应着醚键(C-O-C),脂肪烃(-CH_n-),羰基(C=O),饱和碳氢键(C-H)和羟基(-OH)的伸缩振动,这些官能团与 MR-1 表面的分子形成范德华力,氢键等相互作用,增强了 MR-1 在生物炭表面的吸附稳定

性.此外,MR-1 代谢过程中会产生乙酸,碳酸等酸性产物,含氧官能团能够与代谢物中 H⁺结合,调节因细菌代谢而逐渐酸化的微环境 pH 值,为 MR-1 营造有利的生存环境^[13].

如图 1 (b)~(d)所示,生物炭表面凹凸不平,孔隙率较高,有利于长时间保持水分和养分,维持微生物的生长^[28].吸附法制备的炭基菌剂,MR-1 附着在生物炭凹凸不平的褶皱处;包埋法炭基菌剂外形似黑色小球,MR-1 镶嵌在微球的内部.2 种炭基菌剂 MR-1 形态均圆润饱满,在生物炭表面稳定生长.

表 3 生物炭的基本理化性质

Table 3 Basic physicochemical properties of biochar

生物炭	产率(%)	pH 值	比表面积(m^2/g)	灰分(%)	元素组成(%)					原子比	
					C	H	O	N	S	O/C	H/C
BC700	39.82	8.16	170.69	50.14	31.56	0.97	13.71	0.72	2.90	0.43	0.03

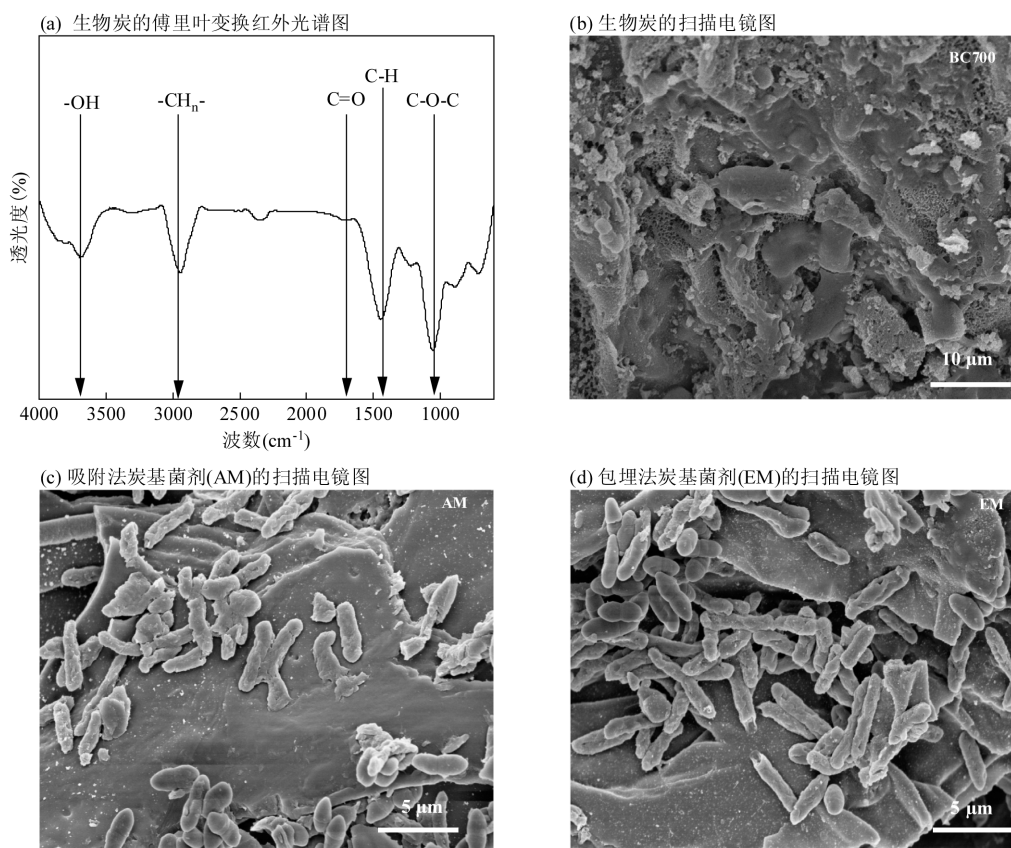


图 1 生物炭和炭基菌剂的形貌结构特性

Fig.1 Morphological and structural properties of biochar and biochar-based microbial agents

2.2 生物炭和炭基菌剂的电化学性能

如图 2 所示,生物炭的循环伏安曲线类似矩形,吸

附法炭基菌剂和包埋法炭基菌剂的循环伏安曲线类似梭形.理想电极材料的循环伏安曲线呈标准矩形,通过双电层电容储存和释放电子,由于生物炭疏松多孔,存在分散电容效应,导致其循环伏安曲线偏离理想矩形^[30].生物炭,吸附法炭基菌剂,包埋法炭基菌剂的循环伏安曲线面积分别为 5.81×10^{-6} , 6.49×10^{-6} 和 $6.01 \times 10^{-6} \text{ mA} \cdot \text{V}$.炭基菌剂的循环伏安曲线面积高于生物炭,

具有更好的电化学活性,可能是因为 MR-1 分解有机物产生的电子传递至生物炭的表面,增加了电流响应^[31].吸附法炭基菌剂和包埋法炭基菌剂的电子传递系统活性分别为 96.10 和 93.24 $\mu\text{g}/(\text{mg}\cdot\text{h})$,是 MR-1 处理组的 1.39 和 1.35 倍,这可能是由于生物炭的官能团,碳骨架等组分作为电子穿梭体,介导 MR-1 产生的电子快速转移,提高了反应体系的电子利用效率^[32].

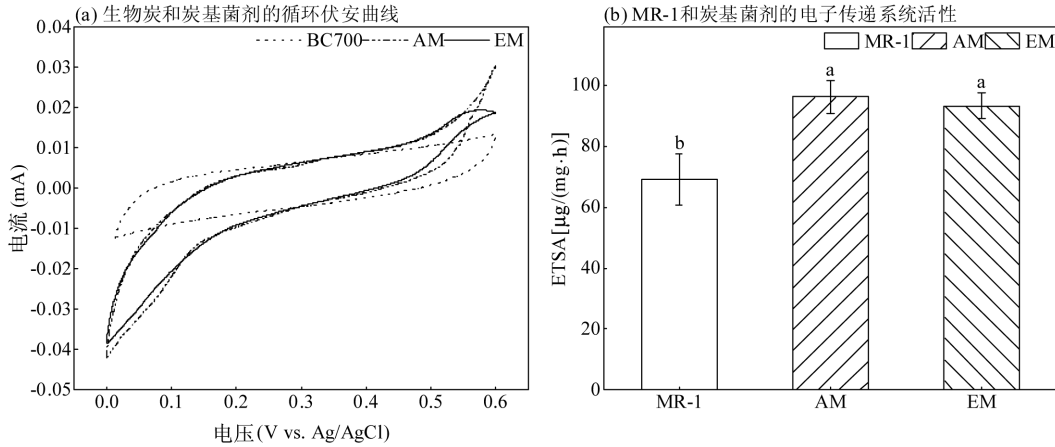


图2 炭基菌剂的电化学特征
Fig.2 Electrochemical characterization of soil biochar-based microbial agents

图(b)中不同字母表示差异显著,下同

2.3 炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)的动力学分析

如图 3 所示,反应的初始阶段,土壤 Cr(VI)被快速去除,随后,Cr(VI)还原速率减缓.21d 后,生物炭,MR-1,吸附法炭基菌剂和包埋法炭基菌剂对土壤 Cr(VI)的还原率分别为 15.68%,68.00%,83.40% 和 79.00%.MR-1 对 Cr(VI)还原率的贡献高于生物炭.生物炭对 Cr(VI)的还原率低主要因为生物炭表面带负电,与阴

离子 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 静电排斥,抑制了后续的还原过程^[33].2 种炭基菌剂的 Cr(VI)还原率高于单独 MR-1 处理组和单独生物炭处理组,这一方面是因为生物炭改善了 MR-1 的生存空间,促进 MR-1 的生长和繁殖,使得参与 Cr(VI)还原的生物量更多;另一方面由于生物炭的官能团,碳骨架等结构快速、高效地传导 MR-1 分解有机物产生的电子,提高了电子利用效率^[15,34].

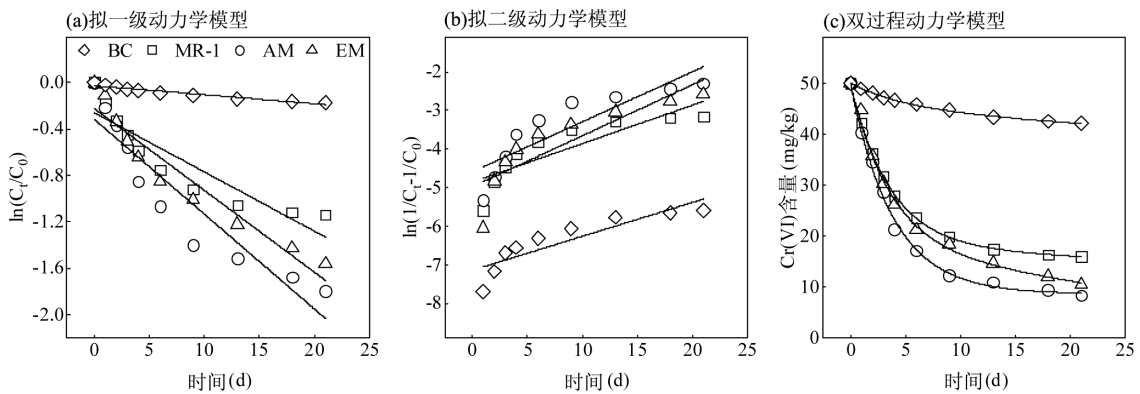


图3 Cr(VI)还原动力学
Fig.3 Cr(VI) reduction kinetics

如表 4 所示,土壤 Cr(VI)的还原更符合双过程模型($R^2>0.99$),即炭基菌剂对 Cr(VI)的生物还原由快速生物还原阶段和慢速生物还原阶段 2 个过程组成,快速生物还原阶段速率较高,但易衰减;慢速生物还原阶段速率较低,但能够长期发挥作用.吸附法炭基菌剂的快速生物还原阶段的速率常数是 MR-1 处理组的 1.21 倍,而慢速生物还原阶段的速率常数无明显增加,这说明生物炭主要通过影响快速生物还原阶段,加快反应体系 Cr(VI)还原^[23].

表 4 动力学模型拟合相关参数

Table 4 Kinetic model fitting of relevant parameters

类别	拟一级动力学模型		拟二级动力学模型		双过程模型		
	$k_1(d^{-1})$	R^2	$k_2(d^{-1})$	R^2	$r_s[mg/(kg \cdot d)]$	$r_f[mg/(kg \cdot d)]$	R^2
BC700	0.008	0.924	0.088	0.760	0.143	0.982	0.995
MR-1	0.051	0.823	0.010	0.694	0.112	8.879	0.999
AM	0.082	0.859	0.130	0.738	0.012	10.782	0.995
EM	0.070	0.912	0.132	0.715	0.338	8.833	0.992

2.4 环境因素对炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)的影响

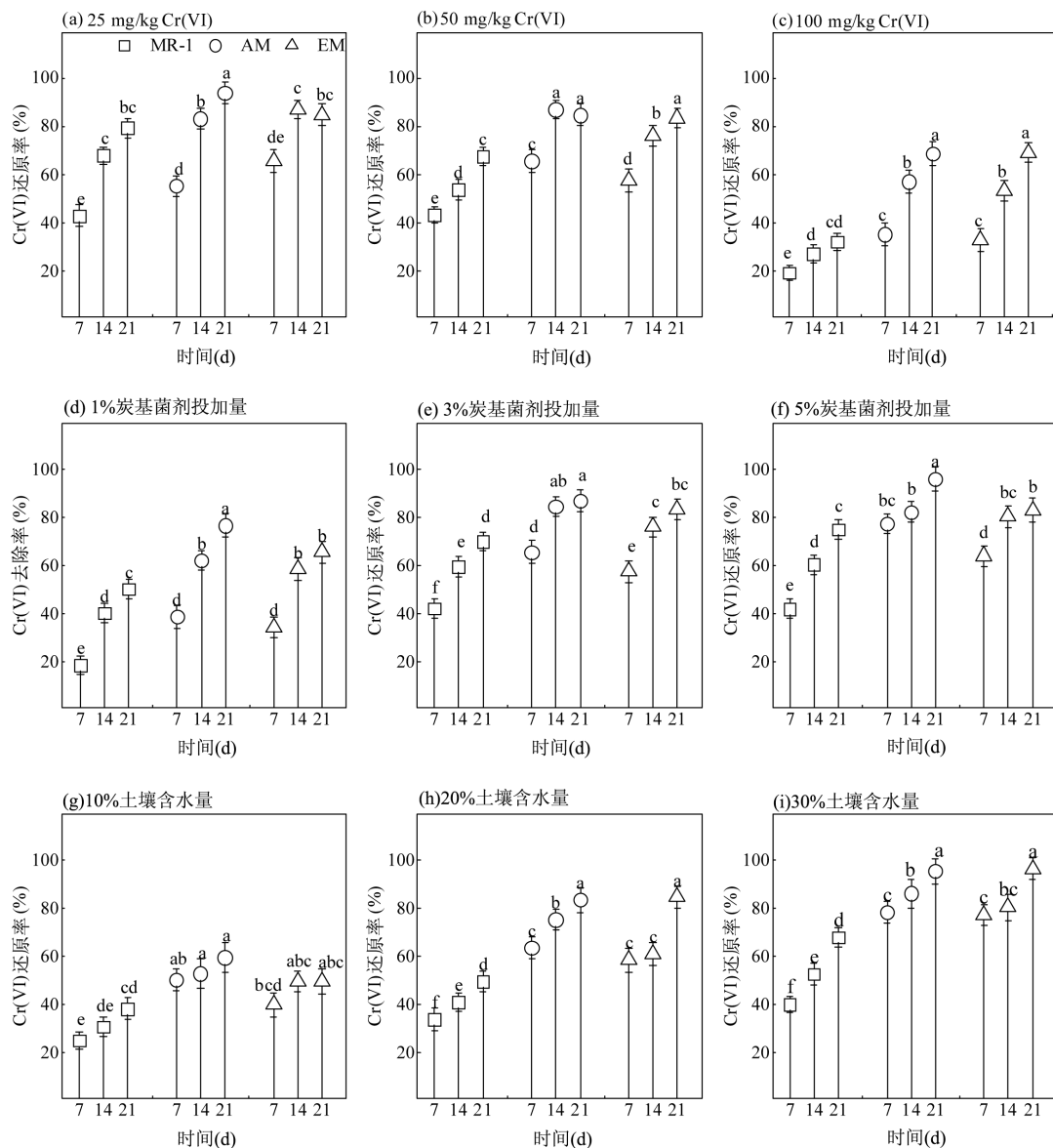


图 4 环境因素对炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)的影响

Fig. 4 Effect of environmental factors on Cr(VI) reduction of soil by biochar-based microbial agents

2.4.1 Cr(VI)污染程度 如图 4 (a)~(c)所示,随着土壤 Cr(VI)污染程度的加剧,Cr(VI)还原率逐渐降低.100mg/kg 时,MR-1 组 Cr(VI)还原率仅为 32.09%,

吸附法炭基菌剂和包埋法炭基菌剂的 Cr(VI)还原率为 68.80%和 69.05%.暴露于高 Cr(VI)污染环境,MR-1 的代谢活性和生理功能受到的损伤更严重,修

复能力变弱^[5].吸附法炭基菌剂和包埋法炭基菌剂的 Cr(VI)还原率分别降低了 26.81%和 18.48%,吸附法炭基菌剂的 Cr(VI)还原率减弱幅度更大是因为 MR-1 吸附在生物炭的表面,与土壤 Cr(VI)直接接触,而包埋法炭基菌剂表面有海藻酸钠,避免了 Cr(VI)直接毒害 MR-1^[35].

2.4.2 炭基菌剂投加量 如图 4 (d)~(f)所示,Cr(VI)还原率随着炭基菌剂投加量增加而上升.菌剂投加量从 1%提升至 5%,吸附法炭基菌剂对 Cr(VI)的还原率从 76.70%提升至 96.00%,包埋法炭基菌剂从 65.50%升高至 83.10%.投加到反应体系的炭基菌剂越多,生物炭的多孔结构,芳香碳和灰分对土壤理化性质的调节作用愈发显著.其中,多孔结构改变了土壤微观孔隙分布格局,增大了土壤孔隙度;芳香碳促进了土壤有机碳的分解;灰分中的无机矿物质增加了土壤的电导率和 pH 值,促进电荷传导^[36].同时,土壤中 MR-1 的微生物量增加,微生物与 Cr(VI)的接触几率升高,显著增强了土壤 Cr(VI)的还原效果^[19].

2.4.3 土壤含水率 如图 4 (g)~(i)所示,土壤水分含量越高,Cr(VI)的还原率越高.随着土壤含水率从 10%升至 30%,MR-1 组,吸附法炭基菌剂和包埋法炭基菌剂对土壤 Cr(VI)的还原率分别升高至 67.99%,95.50%和 96.30%.土壤含水率较低时,不利

于 MR-1 的生长,且土壤颗粒之间粘结紧密,Cr(VI)和炭基菌剂被限制在局部范围内,减少了 Cr(VI)和炭基菌剂直接接触的机会^[37-38].土壤含水率较高时,流动的孔隙水促进了炭基菌剂表面的活性位点和 Cr(VI)的充分接触,提高了从炭基菌剂到 Cr(VI)的电子传递效率.此外,随着土壤含水率的增加,土壤氧化还原电位降低,有利于 Cr(VI)的还原^[39].

2.5 电子抑制剂对炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)的影响

如图 5 所示,无电子抑制剂时,MR-1 和吸附法炭基菌剂对 Cr(VI)的还原率分别为 64.80%和 69.44%.鱼藤酮加入后,MR-1 组和吸附法炭基菌剂的 Cr(VI)还原率降低至 57.95%和 60.07%,从 NADH-泛醌还原酶传递至醌池的电子传递路径受到抑制^[24],因生物炭富含有机物,可被 MR-1 的多种酶分解,为醌池提供电子^[23],而鱼藤酮只能作用于 NADH 脱氢酶,故鱼藤酮对反应体系的 Cr(VI)还原抑制作用不明显.

双香豆素作用下,电子无法经由醌池的氧化还原循环传递至下游的细胞色素和纳米导线,MR-1 和吸附法炭基菌剂处理组的 Cr(VI)还原率仅为 10.84%和 20.26%,表明醌池在 MR-1 电子传递过程中发挥着关键作用^[40],而生物炭可能增强了醌池电子转移相关基因的表达,缓解了抑制剂的作用^[41-42].此时 Cr(VI)的还原可能发生在胞内铬还原酶,细胞膜外和生物炭表面^[43].

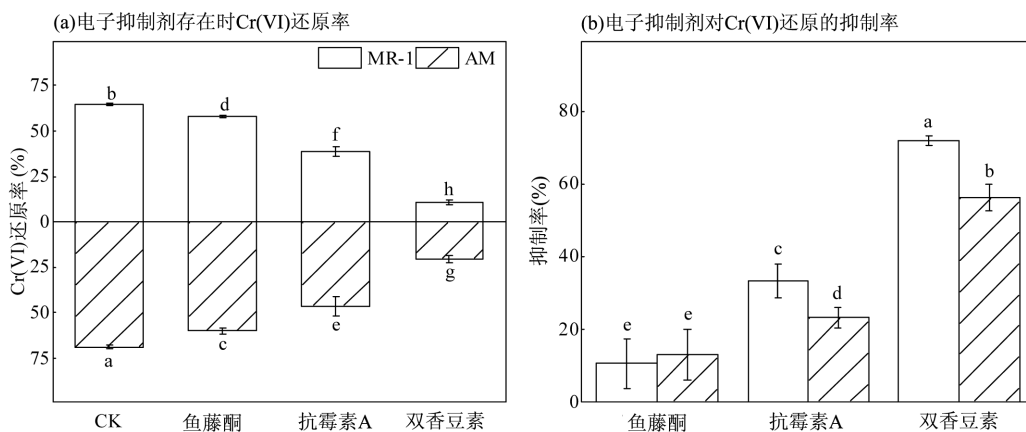


图 5 电子抑制剂对 MR-1 及炭基菌剂生物还原土壤 Cr(VI)的影响

Fig.5 Effect of electron inhibitors on soil Cr(VI) bioreduction by MR-1 and biochar-based microbial agents

抗霉素 A 阻断电子在细胞色素上的传递后,流出醌池的电子只能经由纳米导线传递至胞外,此时 Cr(VI)还原率为 38.63%和 46.17%,即 MR-1 和吸附法炭基菌剂 2 个处理组中电子经由纳米导线传递至

细胞表面,最终对 Cr(VI)还原的贡献率分别为 27.79%和 25.91%,而电子经由细胞色素传递至细胞表面对 Cr(VI)还原的贡献率分别为 26.17%和 23.27%.MR-1 完整的电子传递链涉及细胞质膜,细

胞膜的多种成分,细胞色素和纳米导线是 MR-1 胞外电子传递的必经路径^[44].

2.6 炭基菌剂还原 Cr(VI)的电子传递机制

推导炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)的电子传递机制如图 6 所示,厌氧条件下,生物炭孔隙中稳定生长的 MR-1 分解乳酸等有机物产生 H⁺和高能电子.其中,H⁺回流至 ATP 合成酶,驱动 ATP 的合成,为细胞供能;高能电子流向醌池.醌池接受电子后,利用醌和氢醌的氧化还原循环将电子传递至下游的细胞色素

系统和纳米导线.纳米导线将电子直接传递至胞外,细胞色素处的电子借助膜蛋白转运至细胞外^[45].细胞外表面的电子部分直接还原 Cr(VI),部分经由生物炭的碳骨架长距离传输,既能促进距 MR-1 较远处 Cr(VI)的还原,又减少了 Cr(VI)和 MR-1 直接接触对 MR-1 造成的细胞损伤^[46].此外,生物炭的 C-H,C=O 和 C-OH 等官能团也可直接作为电子供体将 Cr(VI)还原为 Cr(III),提高反应体系的 Cr(VI)还原率^[47].

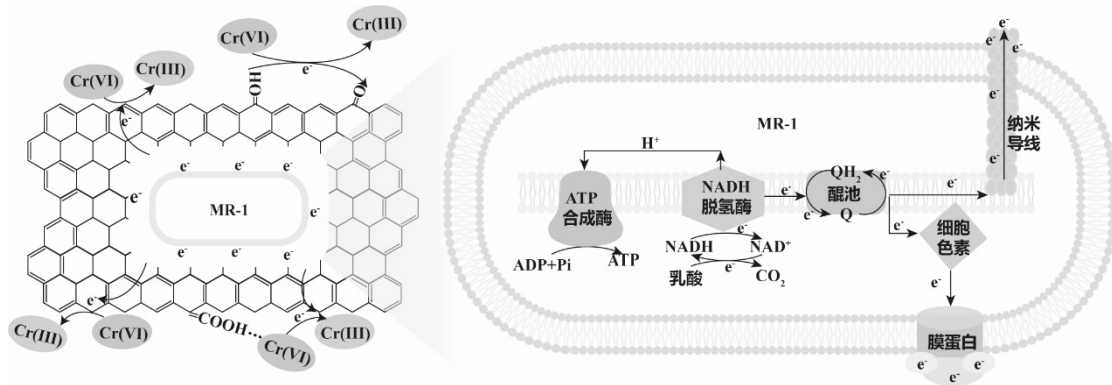


图 6 炭基菌剂还原 Cr(VI)的电子传递机制

Fig.6 Electron transfer mechanism for the reduction of Cr(VI) by biochar-based microbial agents

2.7 循环使用效能

如图 7 所示,3 个循环后,MR-1 组,吸附法炭基菌剂组和包埋法炭基菌剂组对 Cr(VI)的还原率分别为 11.44%,27.28%和 60.44%.炭基菌剂中,生物炭为 MR-1 提供必需的营养物质和生存空间,缓冲了不利环境对 MR-1 的影响^[48].因此,炭基菌剂处

理组 Cr(VI)还原率高于单独 MR-1 处理组.3 个处理组中,包埋法炭基菌剂受反应时间的影响最小,Cr(VI)还原率稳定在 60%以上,可能是由于包埋法炭基菌剂的交联剂海藻酸钠具有良好的包封和缓释微生物的能力,从而实现了长期高效的修复作用^[49].

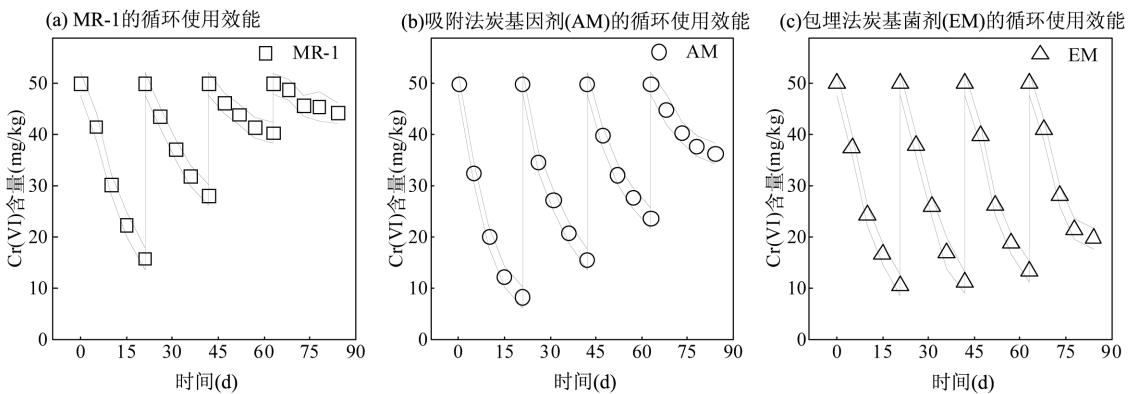


图 7 MR-1 及炭基菌剂的循环使用效能

Fig.7 Recycling efficacy of MR-1 and biochar-based microbial agents

3 结论

3.1 炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)的过程符合双过程

模型($R^2>0.99$),生物炭的导电特性能够将 MR-1 快速生物还原阶段的速率提高 1.21 倍,促进 Cr(VI)的还原.

3.2 炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)和多种环境因素有关.其中,炭基菌剂投加量,土壤含水率和 Cr(VI)的还原率呈正相关,炭基菌剂投加量为 5%时,土壤 Cr(VI)还原率最高为 96.00%;土壤 Cr(VI)污染程度和 Cr(VI)还原率呈负相关.实际工程中,若需在短时间内大幅降低 Cr(VI)含量,吸附法炭基菌剂是更优选择;若聚焦于长期的 Cr(VI)污染土壤治理工程,包埋法炭基菌剂更具潜力.

3.3 炭基菌剂还原土壤 Cr(VI)的机制为:MR-1 分解有机物产生的电子经由脱氢酶,醌池,纳米导线或细胞色素和膜蛋白到达细胞膜表面后,部分直接还原 Cr(VI),部分经由生物炭的碳骨架传导后还原 Cr(VI).

参考文献:

- [1] 周美梅,向婉婷,王鹏博,等.电纺 BiOCl@UiO-66-NH₂@TSPAN 纳米纤维可见光催化还原 Cr(VI) [J]. 中国环境科学, 2024,44(3):1366-1375.
Zhou M M, Xiang W T, Wang P B, et al. Electrospun BiOCl@UiO-66-NH₂@TSPAN nanofibers for visible-light-driven Cr(VI) photocatalytic reduction [J]. China Environmental Science, 2024,44(3): 1366-1375.
- [2] Harris H W, El-Naggar M Y, Bretschger O, et al. Electrokinesis is a microbial behavior that requires extracellular electron transport [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010,107(1):326-331.
- [3] 王贺飞,沈可,张文康,等.碳量子点调控希瓦氏菌还原二硝基联苯的机制 [J]. 中国环境科学, 2024,44(11):6418-6425.
Wang H F, Shen K, Zhang W K, et al. The mechanism of carbon quantum dots to regulate the reduction of 2,2'-dinitrobiphenyl by Shewanella [J]. China Environmental Science, 2024,44(11):6418-6425.
- [4] Feng H J, Xu L Y, Chen R Y, et al. Detoxification mechanisms of electroactive microorganisms under toxicity stress: A review [J]. Frontiers in Microbiology, 2022,13:1084530.
- [5] Wang C, Chen J, Hu W J, et al. Comparative proteomics reveal the impact of OmcA/MtrC deletion on Shewanella oneidensis MR-1 in response to hexavalent chromium exposure [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014,98(23):9735-9747.
- [6] Chen S, Ding Y Z. A bibliography study of Shewanella oneidensis biofilm [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2023,99(11):1-10.
- [7] Huang J, Tan X, Ali I, et al. More effective application of biochar-based immobilization technology in the environment: understanding the role of biochar [J]. Science of the Total Environment, 2023,872: 162021.
- [8] Gong Y Z, Niu Q Y, Liu Y G, et al. Development of multifarious carrier materials and impact conditions of immobilised microbial technology for environmental remediation: a review [J]. Environmental Pollution, 2022,314:120232.
- [9] Guo S S, Liu X M, Wang L, et al. Ball-milled biochar can act as a preferable biocompatibility material to enhance phenanthrene degradation by stimulating bacterial metabolism [J]. Bioresource Technology, 2022,350:126901.
- [10] Hou L G, Hu K Y, Huang F, et al. Advances in immobilized microbial technology and its application to wastewater treatment: a review [J]. Bioresource Technology, 2024,413:131518.
- [11] Sharma A, Maurya N, Singh S K, et al. Investigation on synergetic strategy for the rejuvenation of Cr (VI) contaminated soil using biochar-immobilized bacteria and cyanobacteria consortia [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2024,12(2):112034.
- [12] Yang Y, Wang X, Wang Y, et al. Pesticide contamination remediation by biochar-immobilized microorganisms: a review [J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2023,21:2225-2238.
- [13] Guan R, Wang L, Zhao Y, et al. The mechanism of DEHP degradation by the combined action of biochar and Arthrobacter sp. JQ-1: mechanisms insight from bacteria viability, degradation efficiency and changes in extracellular environment [J]. Chemosphere, 2023,341: 140093.
- [14] Jiang Y T, Yang F, Dai M, et al. Application of microbial immobilization technology for remediation of Cr(VI) contamination: a review [J]. Chemosphere, 2022,286:131721.
- [15] Gao Y, Sun Y R, Song W S, et al. Intrinsic properties of biochar for electron transfer [J]. Chemical Engineering Journal, 2023,475:146356.
- [16] Bian H, Wan J, Muhammad T, et al. Computational study and optimization experiment of nZVI modified by anionic and cationic polymer for Cr(VI) stabilization in soil: kinetics and response surface methodology (RSM) [J]. Environmental Pollution, 2021,276:116745.
- [17] 李启彪,张雪姣,徐磊,等.生物炭耦合芽孢杆菌对小白菜根际养分及细菌群落的影响 [J]. 作物杂志, 2024,6:1-9.
Li Q B, Zhang X J, Xu L, et al. Effects of biochar combined with bacilli on soil nutrients and bacterial communities in the rhizosphere of pakchoi [J]. Crops, 2024,6:1-9.
- [18] Qi X, Xiao S Q, Chen X M, et al. Biochar-based microbial agent reduces U and Cd accumulation in vegetables and improves rhizosphere microecology [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 436:129147.
- [19] He R H, Sun J, Bai X, Y et al. A novel alginate-embedded magnetic biochar-anoxygenic photosynthetic bacteria composite microspheres for multipollutant removal: mechanisms of photo-bioelectrochemical enhancement and excellent reusability performance [J]. Environmental Research, 2024,247:118158.
- [20] Xiao K M, Li Y Z, Sun Y, et al. Remediation performance and mechanism of heavy metals by a bottom up activation and extraction system using multiple biochemical materials [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017,9(36):30448-30457.
- [21] He Y, Guo J B, Song Y Y, et al. Acceleration mechanism of bioavailable Fe(III) on Te(IV) bioreduction of Shewanella oneidensis MR-1: promotion of electron generation, electron transfer and energy level [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021,403:123728.
- [22] 金晓英,杨露,林强,等.绿色合成纳米铁镍去除水中 Cr(VI)的动力学及机理 [J]. 环境科学学报, 2022,42(10):284-292.
Jin X Y, Yang L, Lin Q, et al. Investigation of kinetic process and removal mechanism of Cr(VI) in water by green synthesized Fe/Ni nanoparticles [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2022,42(10):284-

- 292.
- [23] Zhang P, Zhu B Q, Li S L, et al. Biochar conductivity and electron donating capability control Cr(VI) bioreduction [J]. *Chemosphere*, 2023,333:138950.
- [24] Ferreira G D, Calbet A. Caveats on the use of rotenone to estimate mixotrophic grazing in the oceans [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1):3899.
- [25] Buchert F, Scholz M, Hippler M. Electron transfer via cytochrome b 6f complex displays sensitivity to antimycin A upon STT7kinase activation [J]. *Biochemical Journal*, 2022,479(1):111-127.
- [26] Cheng S T, Hu J L, Ren J H, et al. Dicoumarol, an NQO1 inhibitor, blocks cccDNA transcription by promoting degradation of HBx [J]. *Journal of Hepatology*, 2021,74(3):522-534.
- [27] Foong S Y, Cheong K Y, Kong S H, et al. Recent progress in the production and application of biochar and its composite in environmental biodegradation [J]. *Bioresource Technology*, 2023,387: 129592.
- [28] Dai Z M, Xiong X Q, Hang Z, et al. Association of biochar properties with changes in soil bacterial, fungal and fauna communities and nutrient cycling processes [J]. *Biochar*, 2021,3:239-254.
- [29] 陈友媛,李培强,李闲驰,等. 浒苔生物炭对雨水径流中氨氮的吸附特性及吸附机制 [J]. *环境科学*, 2021,42(1):274-282.
Chen Y Y, Li P Q, Li X C, et al. Effect of enteromorpha prolifera biochar on the adsorption characteristics and adsorption mechanisms of ammonia nitrogen in rainfall runoff [J]. *Environmental Science*, 2021,42(1):274-282.
- [30] 冯诗慧,孙正一,张金硕,等. 热解温度对生物炭循环伏安曲线特性的影响 [J]. *环境化学*, 2021,40(3):828-833.
Feng S H, Sun Z Y, Zhang J S, et al. effect of carbonization temperature on the cycle voltammetry characteristics of biochar [J]. *Environmental Chemistry*, 2021,40(3):828-833.
- [31] Yang Z, Sun T R, Subdiaga E, et al. Aggregation-dependent electron transfer via redox-active biochar particles stimulate microbial ferrihydrite reduction [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 703:135515.
- [32] Huang J R, Chen X, Hu B B, et al. Bioaugmentation combined with biochar to enhance thermophilic hydrogen production from sugarcane bagasse [J]. *Bioresource Technology*, 2022,348:126790.
- [33] El-Naggar A, Mosa A, Ahmed N, et al. Modified and pristine biochars for remediation of chromium contamination in soil and aquatic systems [J]. *Chemosphere*, 2022,303:134942.
- [34] Wang Y, Ai Y, Zhou J, et al. Effects of biochar on heavy metal speciation and microbial activity in red soil at a mining area [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2023,20(12):13491-13502.
- [35] Sun H H, Jin J Y, Sun Y H, et al. Preparation of microbial agent immobilized composites for Cr(VI) removal from wastewater [J]. *Environmental Technology*, 2025,14:1-13.
- [36] Yang X, Hinzmann M, Pan H, et al. Pig carcass-derived biochar caused contradictory effects on arsenic mobilization in a contaminated paddy soil under fluctuating controlled redox conditions [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022,421:126647.
- [37] Li J T, Zhang Y, Chen H Y, et al. Low soil moisture suppresses the thermal compensatory response of microbial respiration [J]. *Global Change Biology*, 2023,29(3):874-889.
- [38] Siddika A, Islam M M, Parveen Z, et al. Remediation of chromium (VI) from contaminated agricultural soil using modified biochars [J]. *Environmental Management*, 2023,71:809-820.
- [39] Li K G, Xu W J, Song H J, et al. Superior reduction and immobilization of Cr(VI) in soil utilizing sulfide nanoscale zero-valent iron supported by phosphoric acid-modified biochar: Efficiency and mechanism investigation [J]. *Science of The Total Environment*, 2024,907:168133.
- [40] Lin X H, Yang F, You L X, et al. Liposoluble quinone promotes the reduction of hydrophobic mineral and extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *The Innovation*, 2021,2(2):100104.
- [41] Li D J, Ping Q, Mo R R, et al. Revealing synergistic mechanisms of biochar-assisted microbial electrolysis cells in enhancing the anaerobic digestion performance of waste activated sludge: extracellular polymeric substances characterization, enzyme activity assay, and multi-omics analysis [J]. *Water Research*, 2024,267: 122501.
- [42] Ahmad S, Liu X M, Liu L A, et al. Remediation of chromium contaminated water and soil by nitrogen and iron doped biochars [J]. *Science of the Total Environment*, 2024,954:176435.
- [43] 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 H W, Song Y Y, Zhang Y, 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.
- [44] Xu S, Barrozo A, Tender L M, et al. Multiheme cytochrome mediated redox conduction through *Shewanella oneidensis* MR-1 cells [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2018,140(32):10085-10089.
- [45] Grivennikova V G, Gladyshev G V, Vinogradov A D. Deactivation of mitochondrial NADH: ubiquinone oxidoreductase (respiratory complex I): extrinsically affecting factors [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 2020,1861(8):148207.
- [46] Xu Z B, Xu X Y, Tao X Y, et al. Interaction with low molecular weight organic acids affects the electron shuttling of biochar for Cr(VI) reduction [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019,378:120705.
- [47] Yang X Y, Wang B F, Zhang P, et al. Adsorption and reduction of Cr(VI) by N, S co-doped porous carbon from sewage sludge and low-rank coal: combining experiments and theoretical calculations [J]. *Science of The Total Environment*, 2024,912(20):169265.
- [48] Lin M X, Li F Y, Li X T et al. Biochar-clay, biochar-microorganism and biochar-enzyme composites for environmental remediation: a review [J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2023,21:1837-1862.
- [49] Lu W T, Tang H Y, Li Y K, et al. Preparation and application of a natural microspheric soil conditioner based on gelatin, sodium alginate, and zeolite [J]. *ACS Applied Polymer Materials*, 2023,5(7):5211-5220.

作者简介: 张 方(2001-),女,山东曹县人,中国海洋大学硕士研究生,主要从事土壤重金属生物修复工作.发表论文 2 篇.19511675120@163.com.