

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2016.02.2015071002

李丽, 檀文炳, 王国安, 等. 腐殖质电子传递机制及其环境效应研究进展[J]. 环境化学, 2016, 35(2): 254-266

LI Li, TAN Wenbing, WANG Guoan, et al. Electron transfer mechanisms of humic substances and their environmental implications: A review[J]. Environmental Chemistry, 2016, 35(2): 254-266

腐殖质电子传递机制及其环境效应研究进展*

李 丽¹ 檀文炳^{2,3} 王国安^{1**} 何小松^{2,3} 席北斗^{2,3}

(1. 中国农业大学资源与环境学院环境科学与工程系, 北京, 100193;

2. 中国环境科学研究院环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京, 100012;

3. 中国环境科学研究院国家环境保护地下水污染模拟与控制重点实验室, 北京, 100012)

摘 要 腐殖质通过充当微生物的电子受体和氧化物的电子供体可以加速微生物与胞外电子受体间的电子传递速率。腐殖质的电子传递能力受自身结构、来源和外界条件等多种因素的影响。腐殖质不仅能够很大程度地加速电子传递进程, 且具有结构和性质稳定等特点, 是自然环境中较理想的电子穿梭体。与经过化学提取、纯化后的腐殖质相比较, 土壤固相腐殖质更能反映实际环境中的电子传递过程。目前, 已有很多研究将腐殖质的电子传递应用于土壤污染治理、温室效应的缓解和水污染处理等多个领域。但在腐殖质电子传递机制及其环境应用的研究中还存在诸多不足, 需要广大学者做更进一步的探究。

关键词 腐殖质, 电子穿梭体, 电子传递机制, 环境效应。

Electron transfer mechanisms of humic substances and their environmental implications: A review

LI Li¹ TAN Wenbing^{2,3} WANG Guoan^{1**} HE Xiaosong^{2,3} XI Beidou^{2,3}

(1. Department of Environmental Sciences and Engineering, College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing, 100193, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing, 100012, China; 3. State Environmental Protection Key Laboratory of Simulation and Control of Groundwater Pollution, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing, 100012, China)

Abstract: Humic substances (HS) can serve as electron shuttles that promote the electron transfer from microorganisms to extracellular electron acceptors. The electron transfer capacity of HS could be influenced by many factors, including molecular structure, source, and environmental conditions. HS can not only accelerate the process of electron transfer, but also have stable structure and chemical properties, and this is why HS can be used as an ideal electron shuttle in the natural environments. Compared with dissolved HS which are extracted and purified by chemical reagents, the solid phase HS could better reflect the electron transfer processes in the real environment. In this review article, we highlight recent advances in the understanding of the applications of HS on the remediation of soil pollution, the mitigation of greenhouse effect, and the treatment of water pollution. Although many researches have been conducted on electron transfer via HS, some issues with respect to the electron transfer mechanism of HS and its environment implications should be addressed further.

2015 年 7 月 10 日收稿 (Received: July 10, 2015).

* 国家杰出青年科学基金 (51325804) 资助。

Supported by the China National Funds for Distinguished Young Scientists (51325804).

** 通讯联系人, Tel: 15600660773, E-mail: caugawang@126.com

Corresponding author, Tel: 15600660773, E-mail: caugawang@126.com

Keywords: humic substances, electron shuttles, electron transfer mechanism, environmental implications.

腐殖质是由动、植物或微生物残体等经生物酶或微生物的分解、氧化及合成等过程形成的一种有机高分子化合物,广泛分布于土壤、沉积物和水生环境中.通常根据分子量和不同酸碱度条件下溶解度的大小,将腐殖质分为富里酸、胡敏酸和胡敏素等 3 种组分^[1].许多研究表明,腐殖质既有接受电子能力也有提供电子的能力^[2-3],因而能够作为电子穿梭体加速微生物对矿物、有机污染物的还原转化,这种电子穿梭能力主要得益于醌、酚等官能团的存在,尤其是醌基团在电子传递中起到了重要的作用^[4].与硫化物、生物炭等其它电子穿梭体相比较,腐殖质有较大的优势^[5-6].近年来,对于固相腐殖质^[7]以及胡敏素^[8]电子传递作用的研究越来越多,并且许多学者正试图将腐殖质的电子传递功能应用于污染物的生物修复和新型能源的开发^[4,9],在有机污染物和重金属的生物修复、温室效应缓解、水污染处理工程以及微生物产氢、微生物燃料电池等领域都有一定的贡献.

本文将对腐殖质的电子传递机制进行详细介绍(以 Fe(Ⅲ)矿物的还原为例),并对其传递电子的特点及优势和环境意义等方面进行综述,为进一步研究和应用腐殖质的电子传递功能提供基础.

1 腐殖质电子传递机制

厌氧环境中的氧化性矿物,尤其是 Fe(Ⅲ)矿物是微生物呼吸过程中重要的电子受体.微生物与矿物间存在着多种电子传递机制,如直接接触机制,往往由于矿物表面积较小而使得电子传递难以实现^[10-11].除此之外,还有纳米导线机制^[12-13]、应电运动机制^[14]或微生物自身分泌介体等电子传递方式^[15],但具有这些能力的微生物种类和数量有限,而且只能在细胞与电子受体直接接触的情况下或者是纳米级的距离内才可以进行电子传递.还有一种方式即电子穿梭机制,电子穿梭体可作为电子受体被微生物还原,然后充当电子供体将电子传递给 Fe(Ⅲ)矿物,再次成为氧化态后充当微生物的电子受体^[2].如此循环往复,避免了微生物与矿物间距离较远和矿物表面积小等诸多问题,而且此类微生物种类繁多^[4],这不仅加速了微生物与 Fe(Ⅲ)矿物间电子传递速率,对环境中其它矿物、有机污染物与重金属的生物修复也有很大的推动作用^[2,4,9].在自然环境中,腐殖质就是一种广泛存在且发挥重要作用的电子穿梭体.

1.1 胞外电子传递的两个步骤

腐殖质在微生物与末端电子受体间传递电子有两个步骤:第一步(如图 1a),微生物将电子传递给腐殖质,腐殖质被还原,属于生物还原过程;第二步(如图 1b),腐殖质将电子传递给 Fe(Ⅲ)矿物,矿物被还原,属于非生物还原过程.第二步完成后腐殖质并未被消耗,而是被氧化后又一次作为微生物的电子受体,再次进行电子传递^[16].

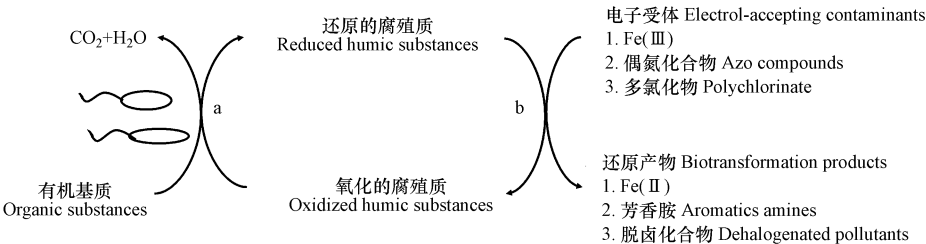


图 1 腐殖质参与微生物还原污染物的电子传递机制^[16]

Fig.1 Humic substances acting as redox mediators during anaerobic biotransformation of electron-accepting contaminants^[16]

在第一步中,腐殖质不仅能被微生物还原,还可以通过化学方法还原.微生物还原即利用腐殖质还原菌还原腐殖质,最常用的方式是利用接种腐殖质还原菌的细胞悬浮液^[2,5];化学还原即利用化学试剂将腐殖质还原,其中最常用的是钨催化剂加氢还原法^[17-19].有研究证明,两种还原方式下腐殖质中发挥电子传递作用的功能团是相同的,亦即两种还原方式下腐殖质的还原能力是相同的^[6,18],由此很多实验

研究中直接用化学还原的腐殖质或其类似物来代替微生物法还原的腐殖质或其类似物进行实验研究^[20-22],以避免生物还原法操作复杂的问题.但应该明确的是,化学还原法有可能会影响腐殖质的物化性质,且钼离子可能对腐殖质或其类似物的氧化还原能力有一定的影响.因此,有学者提出一种较新颖的还原方法——电化学电池^[23],在此方法中腐殖质是在电极表面被还原,能够精准地控制氧化还原反应的终点.Aeschbacher 等^[24]成功地应用了玻碳电极将腐殖质还原,避免了 H^+ 与腐殖质抢夺电子,从而更精准地测定传递到腐殖质的电子量,而且比微生物还原法简单易行,也避免了化学试剂对腐殖质性质的影响.

接下来是电子从胞内向胞外传递的过程.电子从胞内传递到电子穿梭体与微生物直接还原 Fe(III) 矿物过程中所利用的大都是同一种蛋白质^[25-27],这两种传递过程都是通过醌基团和 c 细胞色素携带电子,经细胞质氧化还原酶,穿过细胞质膜和周质送达细胞外膜(图 2).胞外溶解性电子受体可以渗入细胞外膜直接从周质蛋白获得电子,而难溶电子受体只能通过外膜上的 c 细胞色素获得电子^[25],所以胞外膜上的 c 细胞色素对于铁锰氧化物及其氢氧化物等难溶电子受体的还原有着重要作用.也有研究发现,腐殖质和蒽醌双磺酸盐(AQDS,一种常用的腐殖质模板物)被输入入细胞内获取电子的现象^[29-30],但对于这一现象还需要更充足的实验验证.从目前的研究来看,腐殖质和 AQDS 主要是通过细胞外膜上的细胞色素获取电子的.

电子传递到胞外膜上的细胞色素后,接着被传递给 AQDS 等电子穿梭体或直接还原矿物^[25-27](如图 2a 和 c 过程),在这过程中细胞色素起到了重要作用,并且具有这种功能的细胞色素不止一种^[31].Voordeckers 等^[27]通过逐次移除 *G.sulfurreducens* 胞外膜上的细胞色素,对比发现只有一种细胞色素不具备还原 AQDS 的能力,由此判断这一电子传递过程是由多种细胞色素协助完成的.然而,有些蛋白质和活性位点位于周质中或较难结合,阻碍了难溶矿物的还原^[26-27],因此就需要通过腐殖质等电子穿梭体获取电子,在自然环境中,这一过程还有可能与 Fe(III) 矿物的直接生物还原同时进行^[32-33].

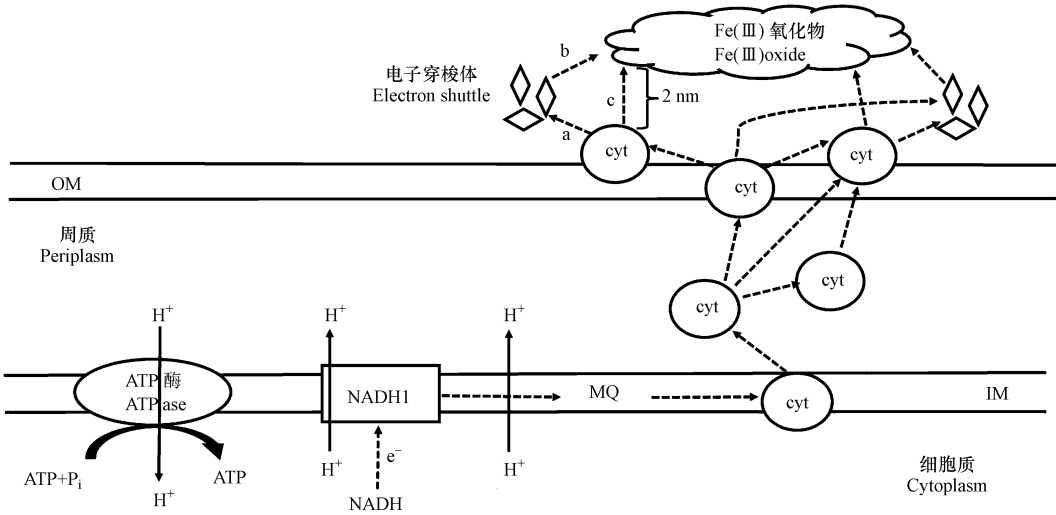


图 2 异化铁还原菌在还原难溶性 Fe(III) 矿物和电子穿梭体过程中的电子传递^[28]
(OM:外膜; IM:内膜; NADH1/NADH:还原型辅酶; MQ:甲基萘醌; cyt:细胞色素)

Fig.2 Schematic illustration of the pathway of electron flow to poorly soluble Fe(III) oxides and dissolved electron shuttles in Fe(III) -reducing bacteria^[28]

(OM:outer membrane; IM:inner membrane; NADH1/NADH:dehydrogenase; MQ:menaquinone pool; cyt:cytochrome of the electron transfer system)

第二步,电子穿梭体将电子传递给末端电子受体(如图 1b,图 2b).腐殖质从微生物接受电子,将之传递给 Fe(III) 矿物等末端电子受体后再次成为氧化态,从而又作为微生物的电子受体,完成下一轮 Fe(III) 矿物的还原过程.

这个过程在很大程度上受限于腐殖质氧化还原的可逆性程度.之前有很多研究表明,在胞外电子传递过程中,腐殖质在接受电子和供给电子上具有很强的可逆性^[24,34-35],这意味着腐殖质作为胞外电子穿

梭体具有良好的可持续性.然而,需要指出的是,之前的大部分研究都是基于化学或电化学的还原方法,而实际上,环境基质中腐殖质并不是通过化学或电化学的途径获得电子,而主要是通过与微生物相互作用接受电子,因此,采用化学或电化学的还原方法并不能真实反映出腐殖质在实际环境存在的间歇性缺氧和曝气循环过程中作为胞外电子穿梭体的持续能力.在今后研究中,应当注重微生物还原和氧气重新氧化的循环周期实验研究,以便更好地表征腐殖质作为胞外电子穿梭体的持续性.

1.2 腐殖质电子传递的影响因素

虽然腐殖质能够加速微生物与末端电子受体间的电子传递,但其电子传递能力也会受到自身结构、来源、外界条件等诸多因素的影响^[20,24,36],为了更深入地理解及研究腐殖质电子传递的机制和特性,有必要对其影响因素有更加全面的认识.

首先,腐殖质之所以具有很强的电子转移能力主要是由于其结构中含有丰富的电子穿梭官能团.之前很多开创性的工作都是基于腐殖质对硝基芳香化合物还原的影响研究,研究结果显示,腐殖质中奎宁能够刺激氧化还原过程的电子转移^[37-38],说明奎宁具有电子穿梭功能.后来有很多证据都支持了这个假设,即醌类是腐殖质中主要的电子穿梭官能团.电子自旋共振波谱分析直接证明了腐殖质中的醌基团是微生物还原过程中真正接受电子的官能团^[39].基因的研究结果显示,*S. oneidensis* 对奎宁和腐殖质的还原都是基于一个共同的生物化学过程^[40],说明腐殖质确实存在与奎宁相类似的官能团.进一步的研究表明,在腐殖质和 AQDS 的微生物还原过程中,甲基萘醌是 *S. oneidensis* 电子传递链必不可少的物质,而缺乏合成甲基萘醌能力的突变体则无法还原 AQDS 与腐殖质^[40].通常情况下,腐殖质中的醌含量与腐殖质的电子转移能力存在很好的一致性^[41],这也说明了醌基团对腐殖质电子转移具有很大的贡献.还有报道显示,从不同富含有机物环境介质中提取的各种胡敏酸,其电子转移能力与其对应于醌基团的红外光谱强度之间有着很强的联系^[42],这间接证实了腐殖质中存在醌类的电子穿梭官能团.Aeschbacher 等^[24]采用电化学的方法对从商业上购买的各种腐殖质标准品进行了电子接受能力的测定,发现腐殖质标准品的电子接受能力与 C/H 物质的量之比及芳香性之间都存在着线性关系,暗示着醌基团可能是影响这些氧化还原反应的主要因子,这也与 Ratasuk 和 Nanny^[34]所报道的结果相一致.

实际上,土壤腐殖质中的非醌官能团对其电子转移能力也有显著贡献.Hernández-Montoya 等^[42]采用 H_2/Pd 反应体系在 $pH=8$ 的实验条件下对腐殖质进行还原后,发现腐殖质在红外光谱 1360 cm^{-1} 处会表现出与对苯二酚基团有关的光谱信号;相反,采用 H_2/Pd 反应体系和 $pH=6.5$ 的实验条件下对腐殖质进行还原后,却发现腐殖质并没有表现出对苯二酚的红外光谱信号,但其芳香酮基团却没有变化.上述现象表明,在 H_2/Pd 反应系统中, $pH=6.5$ 时可以很好地规避腐殖质中醌基团的电子穿梭功能的有效性,这主要是由于在这种体系下醌会被质子化形成酚基($pK_a=9.9$),从而阻碍了醌基团的电子转移.Ratasuk 和 Nanny^[34]的研究表明,在 $pH=6.5$ 的实验条件下,采用 H_2/Pd 反应系统对胡敏酸进行还原后,发现胡敏酸并没有失去电子转移能力,仍然能够促进柠檬酸铁的还原,说明腐殖质中还存在其它非醌类的电子穿梭官能团.基于类似这种规避醌基团电子穿梭功能有效性的方法,人们对来自各种富含有机物的环境介质中的腐殖质样品进行了分析,结果显示,腐殖质中非醌类官能团可占其总电子转移能力的 44%—58%^[34,42].进一步的研究表明,在 $pH=6.5$ 时, H_2/Pd 反应系统对规避醌基团电子穿梭功能的机理是可逆的,许多微生物(例如地杆菌 *G. sulfurreducens*)能够同时还原各种腐殖质中的醌类及非醌类官能团^[42].在这些腐殖质样品中检测到的具有明显的电子转移能力的非醌官能团可能与含氮及含硫氧官能团有关,例如二甲基砷、3-甲硫基-丙酸、*n*-甲基苯胺、1-甲基-2,5-吡咯烷二酮等^[43].此外,还有研究显示,腐殖质中络合金属的氧化还原电对也会对腐殖质的电子穿梭功能起到一定的贡献^[44],但这种作用可能相对较小,这主要与腐殖质中络合金属含量较低有关.

第二,腐殖质的来源和成因也会影响其电子传递能力.还原能力方面,由于腐殖质的来源和成因的多样性,其结构也不尽相同,使得实验测得的腐殖质供电子能力范围很大,可在 $50\text{—}1000\text{ }\mu\text{eq}\cdot\text{g}^{-1}\text{ HS}$ 之间波动^[6,18,20,35,44-45];氧化能力方面,有研究表明,从同一来源提取的胡敏酸电子接受能力强于富里酸^[24,34],土壤和沉积物中提取的腐殖质含有较多的芳烃结构,所以它们的电子接受能力强于水体腐殖质^[24,34,39].姜杰等^[46]通过测定腐殖酸的得失电子能力,也发现不同来源提纯的腐殖酸得失电子能力有一定差别,再次验证了这一结论.然而,也正是因为各种来源腐殖质氧化还原能力的不确定性,无法将其

电子传递能力统一表示.另外,不同来源的腐殖质氧化还原电势(E_h)是不同的,同样不能用某一特定值表示.一般在 $\text{pH}=7.0$ 时,腐殖质的 E_h 在 -0.3 — $+0.4$ V *vs* 标准氢电极 (SHE) 之间^[19,47-48].腐殖质的 E_h 决定着其在电子穿梭中的作用,只有其 E_h 在其电子供体与受体的标准电势之间时才可完成电子传递.有研究表明,电子穿梭体进行电子传递时的最适宜 E_h 范围是在 -225 — -137 mV 之间^[45].

第三,腐殖质与 $\text{Fe}(\text{III})$ 矿物间的电子传递受地球化学条件的影响也很大.腐殖质能够还原多种微生物无法直接还原的 $\text{Fe}(\text{III})$ 矿物,如针铁矿、赤铁矿和黏土矿物中的铁^[21],但电子传递量与 $\text{Fe}(\text{III})$ 相的 E_h 有很大关系.Bauer 和 Kappler 等^[35] 研究发现,与向赤铁矿 ($E_h = -287$ mV) 和针铁矿 ($E_h = -274$ mV) 电子传递相比,腐殖质向柠檬酸铁 ($E_h = +372$ mV) 和水铁矿 ($E_h = 0$ mV) 电子传递的量和速率均较大.Liu 等^[49] 研究发现,腐殖质还原铁矿时受铁矿浓度影响很大,当赤铁矿浓度过高时,还原产物 $\text{Fe}(\text{II})$ 或磷酸盐会吸附于矿物表面阻碍 AQDS 的电子传递.正是受到这些因素的影响,环境中腐殖质还原 $\text{Fe}(\text{III})$ 矿物的速率和程度难以被确定,还需要进行更加深入的研究.

第四,环境因素对腐殖质的电子传递能力也有影响.

环境 pH 的改变会影响腐殖质中氧化还原基团的结构和状态,从而影响其氧化还原能力^[50-52].Gamage^[51] 通过实验使 AQSH_2 向 AQSH^- 转变, AQSH^- 再向 AQSD 转变,描绘出了氢醌的氧化还原电势 (pK_a s (标准氢电极)).实验发现,当 $\text{pH} < \text{pK}_{a1}$ 时,还原和氧化过程中转移的两个电子与两个 H^+ 结合;当 $\text{pK}_{a1} < \text{pH} < \text{pK}_{a2}$ 时,与一个 H^+ 结合; $\text{pH} > \text{pK}_{a2}$ 时,没有电子转移到质子上,氧化还原电势被认为具有 pH 依赖性^[52].当 $\text{pH} < \text{pK}_{a2}$ 时,第一个转移的电子电势低于第二个电子.

Gu 和 Chen^[53] 研究发现,适当升温可以加快电子传递速率,即腐殖质的氧化还原能力增强,说明温度对腐殖质的电子传递能力有一定影响.

土壤中存在的其它电子受体,如硝酸盐、硫酸盐、 $\text{Mn}(\text{IV})$ 、 $\text{Fe}(\text{III})$ 等的还原可能与腐殖质的还原存在竞争关系,从而影响传递到腐殖质的电子量.Cervantes 等^[54] 研究表明,在厌氧污泥中以乳酸或乙酸为电子供体时,微生物代谢就会以腐殖质还原和反硝化作用为主,当以丙酸为电子供体后却以反硝化作用和硫酸盐的还原为主;在厌氧沉积物中以乙酸或丙酸为微生物的电子供体时,体系以反硝化作用和硫酸盐还原为主,而以乳酸作为电子供体时发现,腐殖质还原、硫酸盐还原和反硝化作用的贡献相当,这表明环境中存在的电子供体种类也会影响腐殖质电子传递.

还有大量研究表明,腐殖质也可以在富氧环境下被氧气氧化^[24,34-35],而由于腐殖质的部分氧化还原位点被氧气的氧化作用保护起来,氧化后的腐殖质电子接受能力较之前减弱,并没有完全恢复到原本的状态,但足以说明氧气条件对腐殖质的电子传递能力也有很大影响.

另外,还有研究表明,光照强度增强会使腐殖质供电子能力降低^[55],以及微生物活性和数量等亦会影响腐殖质的电子传递能力^[2,22,39].所以,在研究腐殖质电子传递作用时,需要综合考虑环境因素对实验的影响.

2 腐殖质作为电子穿梭体的优势

2.1 与直接接触还原方式对比

实际环境中, $\text{Fe}(\text{III})$ 多以固体矿物的形式存在,即使微生物与矿物直接进行电子传递,二者之间依然存在至少 2 nm (如图 2c) 的距离,降低了电子传递效率^[56].然而,许多微生物能够利用腐殖质或 AQDS 等电子穿梭体来避免距离较远的问题而加速电子传递.异化铁还原菌 *G. metallireducens* 和 *S. alga* 是最先被发现能够还原腐殖质的微生物^[2].此外,发酵细菌^[20]、卤素呼吸菌、硫酸盐还原细菌、产甲烷菌^[57] 等也都具有还原腐殖质的能力,因此,微生物与 $\text{Fe}(\text{III})$ 矿物间的电子传递不再限制于直接接触的还原方式.Jiang 和 Kappler^[6] 实验发现微生物还原腐殖质 (如图 2a) 的速率比直接还原水铁矿 (如图 2c) 的速率大 27 倍,腐殖质还原水铁矿 (如图 2b) 比微生物直接还原水铁矿 (如图 2c) 至少加速 7 倍.这说明,虽然腐殖质还原铁矿是其参与电子传递过程的限速步骤,但仍然比微生物直接还原铁矿的途径快.但是,并不是所有情况下腐殖质都可以加速电子传递,当某些环境中腐殖质的量很少时,它们会吸附在矿物表面致使还原位点屏蔽,甚至使更多的矿物颗粒聚集而阻碍矿物进一步还原^[58-59],对于这些现象还需要进行更多的探索和验证.

2.2 与其它电子穿梭体对比

目前,大多实验研究常用模板醌物质来研究腐殖质的电子传递能力,如 AQDS、胡桃醌(JQ)、萘醌(NQ)、蒽醌二羧酸盐(AQC)等,其中最常用的模板物是 AQDS.同腐殖质一样,醌模板物质的电子传递过程也是可逆的^[60],因此能够利用这些模板物来反映腐殖质电子传递过程.而且腐殖质中含有的大多数活性基团的 E_h 都偏高^[61],而 ADQS 的 E_h 接近发生电子穿梭的理想电势^[45],更利于实验进行.但 AQDS 也存在一些不足.Wolf 等^[45]实验发现 AQDS 对铁矿物的吸附能力比腐殖质弱,有可能影响到电子传递能力^[28],这还需要广大学者进行更加深入、明确的研究.另外,腐殖质本身就含有多种醌基团、非醌类基团及金属络合物,且均已被证实具有电子传递能力^[34,42,44],说明腐殖质的电子传递是多种基团共同作用的结果,因此在不同的实验或环境基质中腐殖质的适应性可能比 AQDS 强.另外,高浓度的 AQDS 对微生物有毒性作用,腐殖质则没有表现出这种毒性^[5],再次证明腐殖质比 AQDS 更加适合作为微生物的电子受体.所以,在利用模板物进行实验研究时,应该明确这些模板物并不能完全反映腐殖质在环境中的电子传递特性.

除了腐殖质和醌类物质以外,环境中还存在着多种天然电子穿梭体——外生源载体.这些外生源载体并不同腐殖质一样大量地存在于多种复杂的环境当中,电子传递能力也比腐殖质弱,这是腐殖质成为研究最多的电子穿梭体的原因之一.此外,微生物也能够自身分泌多种电子穿梭体,即内生源载体,如醌类物质、 H_2 、 H_2S 、氨、黑色素、吩嗪类色素等^[40,62-65],但是这些物质很容易被其它微生物分解,并不能长久地发挥电子传递作用,且微生物在分泌这些电子穿梭体会消耗部分能量,阻碍自身的生长,而腐殖质的结构和性质不易受微生物活动影响,电子传递过程中消耗能量少^[28,45],所以腐殖质成为较理想的电子穿梭体.

2.3 与生物炭电子传递对比

生物炭是由生物残体在缺氧情况下经高温慢热解产生的一类富含芳香性和醌类结构的物质^[66-67],具有很强的氧化还原活性^[68],能参与环境中许多非生物过程的氧化还原反应^[69-70].基于电化学方法的研究表明,每克生物炭能够接受和供给数百摩尔电子,其具体数值因生物炭来源和炭化温度的不同而异^[68].实际上,生物炭不仅能够参与和促进非生物的氧化还原过程,而且在微生物介导的氧化还原过程中也具有重要作用.Kappler 等^[71]的研究表明,过低的生物炭浓度($< 1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)对水铁矿的微生物还原起反作用,说明其浓度在合适的范围内时才能够扮演电子穿梭体的角色.进一步的控制实验发现,生物炭之所有具有很强的电子穿梭体的功能并不是因为生物炭中可溶性部分的有机结构在起作用,而与生物炭本身的微粒性质有关,生物炭电子传递的方式是依靠电子在微生物、生物炭、矿物间的跃迁而完成(图 3).而在实际土壤等环境介质中,生物炭作为胞外电子穿梭体并不能克服微生物细胞与电子受体间距离的阻碍(至少 2 nm),这时还是需要腐殖质或 AQDS 等电子穿梭体来辅助完成电子传递,从而也间接体现了腐殖质电子传递的优势与重要性.

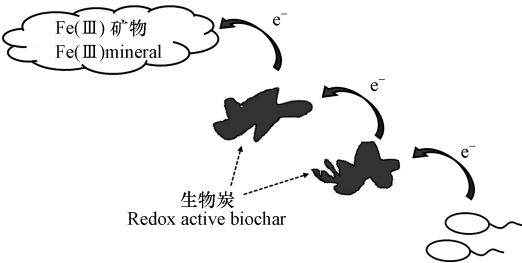


图 3 电子在微生物、生物炭与铁矿物间的跃迁^[71]

Fig.3 Electron hopping among microorganism, biochar, and Fe(III) minerals^[71]

3 固相腐殖质的电子传递能力

尽管目前对土壤腐殖质的电子传递机制的研究已经取得了很大进展,但大部分的研究结果都是基于提取纯化后的、溶解性的腐殖质得出的,关于土壤固相腐殖质电子传递能力的研究鲜有报道.其实提取纯化后的溶解性腐殖质并不能等同于土壤固相腐殖质,因为土壤固相腐殖质的许多理化特性和所处

的微环境是提取纯化后的溶解性腐殖质所没有的,这主要体现以下几个方面:(1)采用碱性溶液提取土壤腐殖质并非完全是一种非破坏性方法^[72],导致提取纯化后的溶解性腐殖质与土壤的固相腐殖质在化学结构上存在一定差异^[73],尤其是在分子量大小和官能团组成上更为明显^[74-75],因此,提取纯化后的溶解性腐殖质在许多理化性质上并不能真实地代表土壤的腐殖质;(2)土壤的腐殖质大部分是与黏土矿物相结合,以固相微粒的形式存在,具有不可移动性,黏土矿物可以稳定土壤腐殖质,而土壤腐殖质则可以通过架桥等作用将土壤矿物颗粒连接起来形成稳定的团聚体,尤其是在腐殖质含量较高的土壤中,几乎所有的腐殖质都是与黏土矿物相互包裹在一起^[1].正是土壤中黏土矿物的存在,使得腐殖质的许多官能团的活性降低,而且不同的官能团与黏土矿物之间的相互作用也存在较大差异^[76],这些特征在提取纯化后的溶解性腐殖质中都没有得以体现;(3)在实际的土壤环境介质中,微生物代谢产生的电子传递过程是一个非常复杂的体系,胞外电子传递可能由电子穿梭机制、直接接触机制、纳米导线机制和应电运动机制等多种机制构成,其中基于腐殖质介导的电子穿梭机制是土壤中非常重要的一种途径,它与其它电子传递机制是以共存和竞争的关系而存在于土壤环境基质中,因此,如果将土壤腐殖质提取纯化后进行研究,在一定程度上则无法真实地体现出这种共存和竞争关系以及土壤腐殖质电子穿梭机制在土壤整个电子传递体系中的地位.

最近,Roden 等^[7]验证了固相腐殖质的电子传递能力,他们发现异化铁还原菌 *G. sulfurreducen* 和 *S. oneidensis* 可以向只含固相腐殖质的湿地沉积物传递电子,只是与溶解性腐殖质相比固相腐殖质的电子接受能力较弱.但只是实验条件下得出的结论,在实际环境中固相腐殖质是否真的能够作为微生物的电子受体或电子穿梭体还需要更多的验证.另外,还有研究表明固相腐殖质可以通过形成导电网络而进行比溶解性腐殖质更长距离的电子传递^[28],此距离可达 1 cm 以上(图 4).Nielsen 等^[77]实验发现,海底沉积物表面的 O₂ 能够迅速将底层的硫化物氧化,即发生了电子长距离运输的现象.但这样的导电网络也有可能是由微生物纳米导线或黄铁矿颗粒聚集组成的,因此,对于固相腐殖质对导电网络的贡献还需更深入的探究.

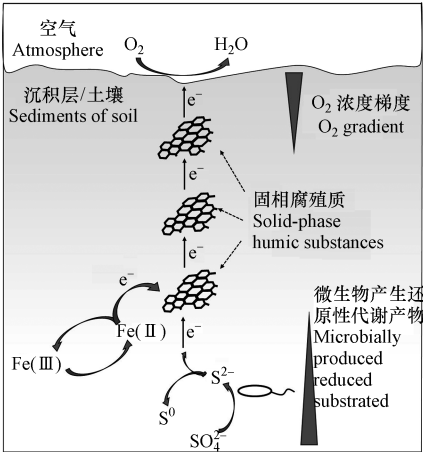


图 4 基于固相腐殖质形成的导电网络进行的电子传递过程^[28]

Fig.4 Electron transfer from microbially produced reduced metabolites (Fe(II), S²⁻, etc.) to electron acceptors with a more positive redox potential, e.g., O₂ over mm- or even cm- long distances via a conductive network including redox-active dissolved and solid-phase humic substances in sediments or soils^[28]

其实,除了溶解性腐殖质和固相腐殖质外,腐殖质中还有一种固相组分,即胡敏素.由于胡敏素酸碱不溶且难以提取,目前对其结构、特性甚至电子传递能力的研究都非常少.最近 Zhang 和 Katayama^[8]研究表明,胡敏素确实也有电子传递的能力,同腐殖质一样,胡敏素也可以在微生物与末端电子受体间传递电子,且主要发挥电子传递作用的基团也是醌基.当用胡敏素与腐殖酸对比探究卤素呼吸菌对五氯酚的脱卤作用时发现,发挥主要作用的电子穿梭体不是腐殖质而是胡敏素^[8],这说明在某些环境条件下胡敏素的电子传递作用会占主导.基于这些发现,加之胡敏素能适应更极端、更广泛的 pH 范围以及性质更稳定等特点,值得对其电子传递作用进行更深入的研究.

4 腐殖质电子传递在环境中的应用

腐殖质在许多生物地球化学的氧化还原过程中扮演着胞外电子穿梭体的角色,能够实现电子的长距离运输,在很大程度上对有机和无机污染物的氧化还原动力学过程与降解途径产生深刻影响^[9],尤其是对于不溶性物质的地球化学行为显得更为重要.随着不断的探索研究,发现腐殖质及其模板物的电子传递作用在能源和水处理工程等领域也有很广泛的应用^[4].由此可见,研究腐殖质的电子传递具有十分重要的意义.

4.1 加速土壤污染物的降解和还原转化

环境基质中存在相当多种类极难溶于水的氧化态重金属,而腐殖质作为电子穿梭体促进了这些重金属由难溶的氧化态向相对易溶的还原态转化^[78-83],从而有效提高了其生物可利用性并加速了微生物修复的进程.早先对于腐殖质电子传递作用的研究主要集中于 Fe(Ⅲ)矿物的还原,土壤中的 Fe(Ⅲ)矿物多呈固相,微生物不与其直接接触的情况下,很难将其还原,而腐殖质就可以充当电子穿梭体将电子间接传递给 Fe(Ⅲ)矿物,使其还原成易溶的还原态 Fe(Ⅱ)^[2].腐殖质还能加速微生物还原 Ag(Ⅰ)和 Cd(VI)^[84]、Hg(Ⅱ)^[82,85]、Cr(VI)^[86]等有毒金属.Wang 等^[87]利用腐殖质及其模板物 AQDS 的实验研究发现,这些电子穿梭体还可以促进 *E.coli* 对稀有元素 Se(Ⅳ)、Te(Ⅳ)的还原.

腐殖质还能作为末端电子受体加速有机物矿化和生物降解.Bradley 等^[88]研究发现,在有机物丰富的厌氧沉积环境中,腐殖质的还原会偶联氯乙烯、二氯乙烯的矿化分解.还有研究发现,厌氧条件下甲苯的矿化也与微生物还原 HA 或 AQDS 有密切关系^[89-90].此外,苯^[91]、菲^[92]等有机污染物也能够以腐殖质作为末端电子受体,使降解速率加快.但目前发现的能够以腐殖质或其模板物作为末端电子受体的污染物是有限的,还需要进行更广泛的探索.表 1 列出了几种利用腐殖质或其模板物作为电子受体的优先污染物.

表 1 微生物降解过程中能够以腐殖质或其类似物作为末端电子受体的优先污染物^[4]

Table 1 Priority organic pollutants biodegraded with humic substances or humic substances analogues serving as terminal electron acceptor^[4]

优先污染物 Pollutants	末端电子受体 Terminal electron acceptor	接种方式 Inocula	参考文献 References
顺-二氯乙烯	AQDS	沉积物	[88]
氯乙烯	AQDS, HA	沉积物	[88]
甲苯	AQDS, HA	富集培养	[89-90]
菲	AQDS	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 纯培养	[92]
对甲苯酚	AQDS	厌氧污泥	[93]
苯酚	AQDS	厌氧污泥	[93]
甲基叔丁基醚	AQDS	沉积物	[94]
苯	AQDS, HA	沉积物	[95]
	AQDS	<i>Geobacter</i> sp. 纯培养	[91]

4.2 缓解温室效应

CO₂、N₂O 和 CH₄ 是地球大气中主要的温室气体,CH₄ 的温室效应比 CO₂ 大很多.Bradley 等^[88]研究表明,当用腐殖质作为微生物矿化氯乙烯和二氯乙烯的末端电子受体后,抑制了 CH₄ 的生成,转而生成为 CO₂,减少了 CH₄ 的产量.这可能是因为细菌腐殖质呼吸与产甲烷呼吸的竞争所致,或与细菌新陈代谢的多样性有关^[57,96],但还需要更多的实验来明确其中机制.另外,还有研究表明,利用腐殖质作为反硝化细菌唯一的电子供体能够促进细菌对亚硝酸盐和 N₂O 的还原^[97].由此可见,腐殖质的电子传递作用对温室效应的缓解具有一定的贡献.

4.3 水处理工程及能源方面的应用

偶氮染料使污水染色严重,工程上用生物反应器脱除污水中的染色往往需要较长的水力停留时间,利用腐殖质及其类似物等电子穿梭体能够加速偶氮染料的还原,缩短水力停留时间^[9].还有许多研究都

证明,腐殖质及其类似物能够加速偶氮染料、多卤代烃、硝基芳烃和氧化性准金属等的氧化还原转化^[98-100],并且有学者通过把电子穿梭体固定在琼脂、离子交换树脂或聚酯泡沫上的方法提高了污水处理系统的效率^[101-102]。

Ye 等^[103]用 $2000\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的还原性 AQDS 作为电子穿梭体后,发现 *C. beijerinckii* 的产氢率提高了 1.94 倍,这说明利用腐殖质有望解决生物法制氢产率低的问题。有很多研究都表明以腐殖质或其模板物作为电子穿梭体可以提高微生物产氢的速率和产率^[104-105],但是,目前研究发现适用的微生物主要是 *C. beijerinckii*,对其它的微生物的研究还鲜有报道,因此还需探索更多能够利用腐殖质作为电子穿梭体而加速产氢的微生物。

微生物的催化作用可将储存于有机化合物中的化学能直接转化为电能,即微生物燃料电池。胞外电子传递是微生物燃料电池的关键步骤,细胞与电极间的电子传递可通过多种介体完成^[106],因为腐殖质可以作为电子穿梭体加速电子传递,同样在微生物产电的过程也能够以腐殖质作为电子穿梭体,从而提高微生物燃料电池效率^[107-108]。

电子穿梭体还可以应用于微生物纳米催化剂的制备。在微生物还原 Se(IV) 、 Te(IV) 、 Pb(II) 等时,腐殖质模板物可以加速它们的还原,促进纳米催化剂 Se(0) 、 Te(0) 、 Pb(0) 等在胞外的积累,提高了催化剂的收集效率^[109-110]。

5 展望

在过去的 20 年里,针对腐殖质电子传递特性的研究很多,但由于腐殖质中包含复杂多样的氧化还原官能团,对于这些官能团在电子传递过程中的作用大小和机制还需要进一步研究。虽然腐殖质是较理想的电子穿梭体,但其电子传递能力还是受到自身结构和外界环境因素的影响,值得广大学者做更深入的研究。作为自然界中广泛存在的一种电子穿梭体,与其它电子穿梭体相比较,腐殖质具有很多优势与特点,同时也存在一些缺点,因此需要更好地发挥其优势、克服缺陷,造福于生态环境,这将成为未来研究的一个重要方面。目前大多研究都是针对溶解性腐殖质进行的,对于固相腐殖质和不溶性的胡敏素的研究还较少,但已经有一些实验证明了固相腐殖质和胡敏素是较有潜力的电子穿梭体,对此需要更深入的实验验证和机制探究。腐殖质电子传递作用不仅有着重要的环境意义,对水处理工程和新能源开发也有一定的推动作用,在未来的研究中应该更广泛地开发腐殖质电子传递能力在其它领域的应用。

参考文献 (References)

- [1] STEVENSON F J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions [M]. 2nd Edition. New York: Wiley, 1994: 17.
- [2] LOVLEY D R, COATES J D, BLUNT-HARRIS E L, et al. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration [J]. Nature, 1996, 382(6590): 445-448.
- [3] PIEPENBROCK A, SCHRÖDER C, KAPPLER A. Electron transfer from humic substances to biogenic and abiogenic Fe(III) oxyhydroxide minerals [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(3): 1656-1664.
- [4] MARTINEZ C M, ALVAREZ L H, CELIS L B, et al. Humus-reducing microorganisms and their valuable contribution in environmental processes [J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2013, 97(24): 10293-10308.
- [5] NEVIN K P, LOVLEY D R. Potential for nonenzymatic reduction of Fe(III) via electron shuttling in subsurface sediments [J]. Environmental Science & Technology, 2000, 34(12): 2472-2478.
- [6] JIANG J, KAPPLER A. Kinetics of microbial and chemical reduction of humic substances: implications for electron shuttling [J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42(10): 3563-3569.
- [7] RODEN E, KAPPLER A, BAUER I, et al. Extracellular electron transfer through microbial reduction of solid-phase humic substances [J]. Nature Geoscience, 2010, 3(6): 417-421.
- [8] ZHANG C F, KATAYAMA A. Humic acid as an electron mediator for microbial reductive dehalogenation [J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(12): 6575-6583.
- [9] VAN DER ZEE F P, CERVANTES F J. Impact and application of electron shuttles on the redox (bio)transformation of contaminants: A review [J]. Biotechnology Advances, 2009, 27(3): 256-277.
- [10] KAPPLER A, STRAUB K L. Geomicrobiological cycling of iron [J]. Reviews in Mineralogy & Geochemistry, 2005, 59(1): 85-108.
- [11] WEBER K A, ACHENBACH L A, COATES J D. Microorganisms pumping iron: Anaerobic microbial iron oxidation and reduction [J]. Nature Reviews Microbiology, 2006, 4(10): 752-764.
- [12] REGUERA G, MCCARTHY K D, MEHTA T, et al. Extracellular electron transfer via microbial nanowires [J]. Nature, 2005, 435

- (7045);1098-1101.
- [13] 许杰龙,周顺桂,袁勇,等. 有“生命”的电线;浅析微生物纳米导线电子传递机制及其应用[J]. 化学进展,2012,24(9):1794-1800.
XU J L, ZHOU X G, YUAN Y, et al. Live wire: A review on electron transfer mechanism and applications of microbial nanowires[J]. Progress in Chemistry, 2012, 24(9):1794-1800(in Chinese).
- [14] 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.
- [15] LOVLEY D R, WOODWARD J C, CHAPPELLE F H. Stimulated anoxic biodegradation of aromatic hydrocarbons using Fe(III) ligands[J]. Nature, 1994, 370(6485):128-131.
- [16] ALVAREZ L H and CERVANTES F J. (Bio) nanotechnologies to enhance environmental quality and energy production[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2011, 86:1354-1363.
- [17] KAPPLER A, BENZ M, SCHINK B, et al. Electron shuttling via humic acids in microbial iron(III) reduction in a freshwater sediment[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 47(1):85-92.
- [18] PERETYAZHKO T, SPOSITO G. Reducing capacity of terrestrial humic acids[J]. Geoderma, 2006, 137(1-2):140-146.
- [19] VISSER S A. Oxidation-reduction potentials and capillary activities of humic acids[J]. Nature, 1964, 204(495):581.
- [20] BENZ M, SCHINK B, BRUNE A. Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting bacteria[J]. Applied and Environment Microbiology, 1998, 64(11):4507-4512.
- [21] LOVLEY D R, FRAGA J L, BLUNT-HARRIS E L, et al. Humic substances as a mediator for microbially catalyzed metal reduction[J]. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 1998, 26(3):152-157.
- [22] LOVLEY D R, FRAGA J L, COATES J D, et al. Humics as an electron donor for anaerobic respiration[J]. Environmental Microbiology, 1999, 1(1):89-98.
- [23] KAPPLER A, HADERLEIN S B. Natural organic matter as reductant for chlorinated aliphatic pollutants[J]. Environmental Science & Technology, 2003, 37(12):2714-2719.
- [24] AESCHBACHER M, SANDER M, SCHWARZENBACH R P. Novel electrochemical approach to assess the redox properties of humic substances[J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(1):87-93.
- [25] GESCHER J S, CORDOVA C D, SPORMANN A M. Dissimilatory iron reduction in *Escherichia coli*: identification of cymA of *Shewanella oneidensis* and napC of *E. coli* as ferric reductases[J]. Molecular Microbiology, 2008, 68(3):706-719.
- [26] LIES D P, HERNANDEZ M E, KAPPLER A, et al. *Shewanella oneidensis* MR-1 uses overlapping pathways for iron reduction at a distance and by direct contact under conditions relevant for biofilms[J]. Applied and Environment Microbiology, 2005, 71(8):4414-4426.
- [27] VOORDECKERS J W, KIM B C, IZALLALEN M, et al. Role of *Geobacter sulfurreducens* outer surface c-type cytochromes in reduction of soil humic acid and anthraquinone-2,6-disulfonate[J]. Applied and Environment Microbiology, 2010, 76(7):2371-2375.
- [28] PIEPENBROCK A, KAPPLER A. Humic substance and extracellular electron transfer. In Microbial Metal Respiration: From geochemistry to potential applications[M]. Germany:Springer, 2012: 107-128.
- [29] KULIKOVA N A, PERMINOVA I V, BADUN G A, et al. Estimation of uptake of humic substances from different sources by *E. coli* cells under optimum and salt stress conditions estimated with a use of tritium-labeled humic materials[J]. Applied and Environment Microbiology, 2010, 76(18):6223-6230.
- [30] SHYU J B H, LIES D P, NEWMAN D K. Protective role of tolC in efflux of the electron shuttle anthraquinone-2,6-disulfonate[J]. Journal of Bacteriology, 2002, 184(6):1806-1810.
- [31] 马晨,周顺桂,庄莉,等. 微生物胞外呼吸电子传递机制研究进展[J]. 生态学报,2011,31(7):2008-2018.
MA C, ZHOU S G, ZHUANG L, et al. Electron transfer mechanism of extracellular respiration; A review[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(7):2008-2018(in Chinese).
- [32] CLARKE T A, EDWARDS M J, GATES A J, et al. Structure of a bacterial cell surface decaheme electron conduit[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(23):9384-9389.
- [33] MACDONALD L H, MOON H S, JAFFÉ P R. The role of biomass, electron shuttles, and ferrous iron in the kinetics of *Geobacter sulfurreducens*-mediated ferrihydrite reduction[J]. Water Research, 2011, 45(3):1049-1062.
- [34] RATASUK N, NANNY M A. Characterization and quantification of reversible redox sites in humic substances[J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(22):7844-7850.
- [35] BAUER I, KAPPLER A. Rates and extent of reduction of Fe(III) compounds and O₂ by humic substances[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(13):4902-4908.
- [36] 袁英,何小松,席北斗,等. 腐殖质氧化还原和电子转移特性研究进展[J]. 环境化学,2014,33(12):2048-2057.
YUAN Y, HE X S, XI B D, et al. Research progress on the redox and electron transfer capacity of humic substances[J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(12):2048-2057(in Chinese).
- [37] DUNNIVANT F M, SCHWARZENBACH R P, MACALADY D L. Reduction of substituted nitrobenzene in aqueous solutions containing natural organic matter[J]. Environmental Science & Technology, 1992, 26:2133-2141.
- [38] TRATNYEK P G and MACALADY D L. Abiotic reduction of nitro aromatic pesticides in anaerobic laboratory systems[J]. Journal of

- Agricultural and Food Chemistry, 1989, 37: 248-254.
- [39] SCOTT D T, MCKNIGHT D M, BLUNT-HARRIS E L, et al. Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics-reducing microorganisms[J]. Environmental Science & Technology, 1998, 32(19):2984-2989.
- [40] NEWMAN D K, KOLTER R. A role for excreted quinones in extracellular electron transfer[J]. Nature, 2000, 405(6782):94-97.
- [41] SPOSITO G. Electron shuttling by natural organic matter; twenty years after. In Aquatic Redox Chemistry[M]. New York:Oxford University Press, 2011, 1071:113-127.
- [42] HERNÁNDEZ-MONTOYA V, ALVAREZ L H, MONTES-MORÁN M A, et al. Reduction of quinone and non-quinone redox functional groups in different humic acid samples by *Geobacter sulfurreducens*[J]. Geoderma, 2012, 183-184:25-31.
- [43] FIMMEN R L, CORY R M, CHIN Y P, et al. Probing the oxidation-reduction properties of terrestrially and microbially derived dissolved organic matter[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2007, 71(12):3003-3015.
- [44] SPOSITO G, STRUYK Z. Redox properties of standard humic acids[J]. Geoderma, 2001, 102(3-4):329-346.
- [45] WOLF M, KAPPLER A, JIANG J, et al. Effects of humic substances and quinones at low concentrations on ferrihydrite reduction by *Geobacter metallireducens*[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(15):5679-5685.
- [46] 姜杰,李黎,孙国新. 基于三维荧光光谱特征研究土壤腐殖质氧化还原特性[J]. 环境化学,2012,31(12):2002-2006.
JIANG J, LI L, SUN G X. Investigation of redox activities of soil humic acids using 3D excitation emission matrix fluorescence spectroscopy [J]. Environmental Chemistry, 2012, 31(12):2002-2006 (in Chinese).
- [47] OSTERBERG R, SHIRSHOVA L. Oscillating, nonequilibrium redox properties of humic acids[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1997, 61(21):4599-4604.
- [48] STRAUB K L, BENZ M, SCHINK B. Iron metabolism in anoxic environments at near neutral pH[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2001, 34(3):181-186.
- [49] LIU C, ZACHARA J M, FOSTER N S, et al. Kinetics of reductive dissolution of hematite by bioreduced anthraquinone-2,6-disulfonate [J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(22):7730-7735.
- [50] AESCHBACHER. Electrochemical redox characterization of humic substances[D]. Switzerland:ETH Zurich, 2011.
- [51] GAMAGE R, MCQUILLAN A J, PEAKE B M. Ultraviolet-visible and electron paramagnetic resonance spectroelectrochemical studies of the reduction products of some anthraquinone sulphonates in aqueous solutions[J]. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions, 1991, 87(22):3653-3660.
- [52] KLÜPFEL L. Redox characteristics of quinones in natural organic matter (NOM) [D]. Switzerland:Term paper FS 2009, Institute of Biogeochemistry and Pollutant Dynamics ETH Zürich.
- [53] GU B H, CHEN J. Enhanced microbial reduction of Cr(VI) and U(VI) by different natural organic matter fractions[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2003, 67(19):3575-3582.
- [54] CERVANTES F J, GUTIÉRREZ C H, LÓPEZ K Y, et al. Contribution of quinone-reducing microorganisms on the anaerobic biodegradation of organic compounds under different redox conditions[J]. Biodegradation, 2008, 19(2):235-246.
- [55] SHARPLESS C M, AESCHBACHER M, PAGE S E, et al. Photooxidation-induced changes in optical, electrochemical and photochemical properties of humic substances[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(5):2688-2696.
- [56] GRAY H B, WINKLER J R. Long-range electron transfer[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 2005, 102(10):3534-3539.
- [57] CERVANTES F J, DE BOK F A M, TUAN D D, et al. Reduction of humic substances by halorespiring, sulphatereducing and methanogenic microorganisms[J]. Environmental Microbiology, 2002, 4(1):51-57.
- [58] AMSTAETTER K, BORCH T, KAPPLER A. Influence of humic acid imposed changes of ferrihydrite aggregation on microbial Fe(III) reduction[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2012, 85:326-341.
- [59] PIEPENBROCK A, DIPPON U, PORSCH K, et al. Dependence of microbial magnetite formation on humic substance and ferrihydrite concentrations[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2011, 75(22):6844-6858.
- [60] JIANG J, BAUER I, PAUL A, et al. Arsenic redox changes by microbially and chemically formed semiquinone radicals and hydroquinones in a humic substance model quinone[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(10):3639-3645.
- [61] AESCHBACHER M, VERGARY D, SCHWARZENBACH R P, et al. Electrochemical analysis of proton and electron transfer equilibria of the reducible moieties in humic acids[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(19):8385-8394.
- [62] LOVLEY D R, HOLMES D E, NEVIN K P. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. In Advances in Microbial Physiology[M]. New York:Academic Press, 2004, 49:219-286.
- [63] LU N, ZHOU S G, NI J R. Mechanism of energy generation of microbial fuel cells[J]. Progress in Chemistry, 2008, 20(7-8):1233-1240.
- [64] TURIEK C E, TISA L S, CACCAVO F. Melanin production and use as a soluble electron shuttle for Fe(III) oxide reduction and as a terminal electron acceptor by *Shewanella alga* BrY[J]. Applied and Environment Microbiology, 2002, 68(5):2436-2444.
- [65] HERNANDEZ M E, KAPPLER A, NEWMAN D K. Phenazines and other redox-active antibiotics promote microbial mineral reduction[J]. Applied and Environment Microbiology, 2004, 70(2):921-928.
- [66] KEILUWEIT M, NICO P S, JOHNSON M G, et al. Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon(biochar) [J].

- Environmental Science & Technology, 2010, 44(4):1247-1253.
- [67] HEYMAN K, LEHMANN J, SOLOMON D, et al. C1s K-edge near edge X-ray absorption fine structure (NEXAFS) spectroscopy for characterizing functional group chemistry of black carbon[J]. Organic Geochemistry, 2011, 42(9):1055-1064.
- [68] KLÜPFEL L, KEILUWEIT M, KLEBER M, et al. Redox properties of plant biomass-derived black carbon (biochar) [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(1):5601-5611.
- [69] TONG H, HU M, LI F B, et al. Biochar enhances the microbial and chemical transformation of pentachlorophenol in paddy soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2014, 70:142-150.
- [70] XU W, PIGNATELLO J J, MITCH W A. Role of black carbon electrical conductivity in mediating hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) transformation on carbon surfaces by sulfides[J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(13):7129-7136.
- [71] KAPPLER A, WUESTNER M L, RUECKER A, et al. Biochar as an electron shuttle between bacteria and Fe (III) minerals[J]. Environmental Science & Technology Lett, 2014, 1(8):339-344.
- [72] 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(in Chinese).
- [73] SCHMIDT M W I, TORN M S, ABIVEN S, et al. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property[J]. Nature, 2011, 478(7367):49-56.
- [74] KELLEHER B P, SIMPSON A J. Humic substances in soils: Are they really chemically distinct[J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(15):4605-4611.
- [75] LEHMANN J, SOLOMON D, KINYANGI J, et al. Spatial complexity of soil organic matter forms at nanometer scales[J]. Nature Geoscience, 2008, 1(4):238-242.
- [76] KLEBER M, JOHNSON M G. Advances in understanding the molecular structure of soil organic matter: implications for interactions in the environment. In Advances in Agronomy [M]. San Diego:Elsevier Academic Press Inc, 2010, 106:77-142.
- [77] NIELSEN L P, RISGAARD-PETERSEN N, FOSSING H, et al. Electric currents couple spatially separated biogeochemical processes in marine sediment[J]. Nature, 2010, 463(7284):1071-1074.
- [78] FULDA B, VÖGELIN A, MAURER F, et al. Copper redox transformation and complexation by reduced and reoxidized soil humic acid. 1. X-ray absorption spectroscopy study[J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(19):10903-10911.
- [79] MAURER F, CHRISTL I, FULDA B, et al. Copper redox transformation and complexation by reduced and oxidized soil humic acid. 2. Potentiometric titrations and dialysis cell experiments[J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(19):10912-10921.
- [80] RAKSHIT S, UCHIMIYA M, SPOSITO G. Iron (III) bioreduction in soil in the presence of added humic substances[J]. Soil Science Society of America Journal, 2009, 73(1):65-71.
- [81] TUO Y, LIU G, ZHOU J, et al. Microbial formation of palladium nanoparticles by *Geobacter sulfurreducens* for chromate reduction[J]. Bioresource Technology, 2013, 133:606-611.
- [82] 江韬,魏世强,李雪梅,等. 胡敏酸对汞还原能力的测定和表征[J]. 环境科学,2012,33(1):286-292.
- JIANG T, WEI S Q, LI X M, et al. Determination and characterization on the capacity of humic acid for the reduction of divalent mercury [J]. Environmental Science, 2012, 33(1):286-292(in Chinese).
- [83] 徐丽娜,李忠佩,车玉萍. 淹水厌氧条件下腐殖酸对红壤中铁异化还原过程的影响[J]. 环境科学,2009,30(1):221-226.
- XU L N, LI Z P, CHE Y P. Influences of humic acids on the dissimilatory iron reduction of red soil in anaerobic condition [J]. Environmental Science, 2009, 30(1):221-226(in Chinese).
- [84] MAURER F, CHRISTL I, HOFFMANN M, et al. Reduction and reoxidation of humic acid: Influence on speciation of cadmium and silver [J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(16):8808-8816.
- [85] SKOGERBOE R K, WILSON S A. Reduction of ionic species by fulvic acid[J]. Analytical Chemistry, 1981, 53(2):228-232.
- [86] WITTBRODT P R, PALMER C D. Reduction of Cr (VI) in the presence of excess soil fulvic acid [J]. Environmental Science & Technology, 1995, 29(1):255-263.
- [87] WANG X, LIU G, ZHOU J, et al. Quinone-mediated reduction of selenite and tellurite by *Escherichia coli* [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(3):3268-3271.
- [88] BRADLEY P M, CHAPPELLE F H, LOVLEY D R. Humic acids as electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of vinyl chloride and dichloroethene[J]. Applied and Environment Microbiology, 1998, 64(8):3102-3105.
- [89] CERVANTES F J, DIJKSMA W, DUONG-DAC T, et al. Anaerobic mineralization of toluene by enriched sediments with quinones and humus as terminal electron acceptors[J]. Applied and Environment Microbiology, 2001, 67(10):4471-4478.
- [90] CERVANTES F J, VAN DER ZEE F P, LETTINGA G, et al. Enhanced decolourisation of acid orange 7 in a continuous UASB reactor with quinones as redox mediators[J]. Water Science and Technology, 2001, 44(4):123-128.
- [91] ZHANG T, BAIN T S, NEVIN K P, et al. Anaerobic benzene oxidation by *Geobacter species* [J]. Applied and Environment Microbiology, 2012, 78(23):8304-8310.
- [92] MA C, WANG Y Q, ZHUANG L, et al. Anaerobic degradation of phenanthrene by a newly isolated humus-reducing bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* strain PAH-1 [J]. Journal of Soils and Sediments, 2011, 11(6):923-929.

- [93] CERVANTES F J, VAN DER VELDE S, LETTINGA G, et al. Quinones as terminal electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of phenolic compounds[J]. *Biodegradation*, 2000, 11(5):313-321.
- [94] WEI N, FINNERAN K T. Microbial community analyses of three distinct, liquid cultures that degrade methyl tert-butyl ether using anaerobic metabolism[J]. *Biodegradation*, 2009, 20(5):695-707.
- [95] CERVANTES F J, GONZÁLEZ-ESTRELLA J, MÁRQUEZ A, et al. Immobilized humic substances on an anion exchange resin and their role on the redox biotransformation of contaminants[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(2):2097-2100.
- [96] CERVANTES F J, VAN DER VELDE S, LETTINGA G, FIELD J A. Competition between methanogenesis and quinone respiration for ecologically important substrates in anaerobic consortia[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 34(2):161-171.
- [97] ARANDA-TAMAURA C, ESTRADA-ALVARADO I M, et al. Effects of different quinoid redox mediators on the removal of sulphide and nitrate via denitrification[J]. *Chemosphere*, 2007, 69(11):1722-1727.
- [98] VAN DER ZEE F P, BOUWMAN R H M, STRIK D P B T B, et al. Application of redox mediators to accelerate the transformation of reactive azo dyes in anaerobic bioreactors[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2001, 75(6):691-701.
- [99] WATANABE K, MANEFIELD M, LEE M, et al. Electron shuttles in biotechnology[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2009, 20(6):633-641.
- [100] 许志诚,洪义国,罗微,等. 厌氧条件下希瓦氏菌腐殖质还原对偶氮还原的影响[J]. *微生物学报*, 2006, 46(4):591-597.
XU Z C, HONG Y G, LUO W, et al. The effects of the humic substances on azoreduction by *Shewanella* spp.[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2006, 46(4):591-597(in Chinese).
- [101] GUO J, ZHOU J, WANG D, et al. Biocatalyst effects of immobilized anthraquinone on the anaerobic reduction of azo dyes by the salt-tolerant bacteria[J]. *Water Research*, 2007, 41(2):426-432.
- [102] CERVANTES F J, MANCILLA A R, RIOS-DEL TORO E E, et al. Anaerobic benzene oxidation by enriched inocula with humic acids as terminal electron acceptors[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 195:201-207.
- [103] YE X, ZHANG X, MORGENROTH E, et al. Exogenous anthrahydroquinone-2,6-disulfonate specifically increases xylose utilization during mixed sugar fermentation by *Clostridium beijerinckii* NCIMB 8052[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2013, 38(6):2719-2727.
- [104] YE X, MORGENROTH E, ZHANG X, et al. Anthrahydroquinone-2,6-disulfonate(AH2QDS) increases hydrogen molar yield and xylose utilization in growing cultures of *Clostridium beijerinckii*[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2011, 92(4):855-864.
- [105] ZHANG X, YE X, GUO B, et al. Lignocellulosic hydrolysates and extracellular electron shuttles for H₂ production using co-culture fermentation with *Clostridium beijerinckii* and *Geobacter metallireducens*[J]. *Bioresource Technology* 2013, 147:89-95.
- [106] 王慧勇,梁鹏,黄霞,等. 微生物燃料电池中产电微生物电子传递研究进展[J]. *环境保护科学*, 2009, 35(1):17-20,35.
WANG H Y, LIANG P, HUANG X, et al. Research progress in microbial fuel cells for electrons transfer of electricigens[J]. *Environmental Protection Science*, 2009, 35(1):17-20, 35(in Chinese).
- [107] RINGEISEN B R, HENDERSON E, WU P K, et al. High power density from a miniature microbial fuel cell using *Shewanella oneidensis* DSP10[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(8):2629-2634.
- [108] THYGESEN A, POULSEN F W, MIN B, et al. The effect of different substrates and humic acid on power generation in microbial fuel cell operation[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(3):1186-1191.
- [109] WANG Y, ZHOU D, WANG Y, et al. Humic acid and metal ions accelerating the dechlorination of 4-chlorobiphenyl by nanoscale zero-valent iron[J]. *Environmental Science*, 2011, 23(8):1286-1292.
- [110] FORREZ I, CARBALLA M, FINK G, et al. Biogenic metals for the oxidative and reductive removal of pharmaceuticals, biocides and iodinated contrast media in a polishingmembrane bioreactor[J]. *Water Research*, 2011, 45(4):1763-1773.