

研究报告



异化铁还原细菌 LQ25 还原重金属 Cr(VI)的特性研究

康博伦 袁媛 王珊 刘洪艳*

天津科技大学海洋与环境学院 天津 300457

摘要:【背景】异化铁还原细菌能够在还原 Fe(III)的同时将毒性较大的 Cr(VI)还原成毒性较小的 Cr(III), 解决铬污染的问题。【目的】基于丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*) LQ25 异化铁还原过程制备生物磁铁矿, 开展异化铁还原细菌还原 Cr(VI)的特性研究。【方法】构建以氢氧化铁为电子受体和葡萄糖为电子供体的异化铁培养体系。菌株 LQ25 培养结束时制备生物磁铁矿。设置不同初始 Cr(VI)浓度(5、10、15、25 和 30 mg/L), 分别测定菌株 LQ25 对 Cr(VI)还原效率以及生物磁铁矿对 Cr(VI)的还原效率。【结果】菌株 LQ25 在设置的 Cr(VI)浓度范围内都能良好生长。当 Cr(VI)浓度为 15 mg/L 时, 在异化铁培养条件下, 菌株 LQ25 对 Cr(VI)的还原率为 $63.45\% \pm 5.13\%$, 生物磁铁矿对 Cr(VI)的还原率为 $87.73\% \pm 9.12\%$, 相比菌株还原 Cr(VI)的效率提高 38%。pH 变化能影响生物磁铁矿对 Cr(VI)的还原率, 当 pH 2.0 时, 生物磁铁矿对 Cr(VI)的还原率最高, 几乎达到 100%。电子显微镜观察发现生物磁铁矿表面有许多孔隙, X-射线衍射图谱显示生物磁铁矿中 Fe(II)的存在形式是 $\text{Fe}(\text{OH})_2$ 。【结论】基于异化铁还原细菌制备生物磁铁矿可用于还原 Cr(VI), 这是一种有效去除 Cr(VI)的途径。

关键词: 异化铁还原细菌, 丁酸梭菌 LQ25, 生物磁铁矿, Fe(III)还原, Cr(VI)还原

Characteristics of Cr(VI) reduction by dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium LQ25

KANG Bolun YUAN Yuan WANG Shan LIU Hongyan*

College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China

Abstract: [Background] Reducing Cr(VI) to Cr(III) by dissimilatory Fe(III)-reducing bacteria is an important way for remediation of chromium pollution. [Objective] This work examined the characteristics of Cr(VI) reduction by biogenic magnetite particles using dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium *Clostridium butyricum* LQ25. [Methods] Strain LQ25 was grown under Fe(III)-reducing conditions and was used to produce biogenic magnetite particles using glucose as electron donors and insoluble iron hydroxide as the electron acceptor. The efficiencies of Cr(VI) reduction under Fe(III)-reducing conditions were examined with different Cr(VI) concentrations (5, 10, 15, 25 and 30 mg/L) added to the medium respectively. [Results] In the presence of iron hydroxide, strain LQ25 could grow within the set Cr(VI) concentration range with Cr(VI) reduction efficiency of $63.45\% \pm 5.13\%$ at Cr(VI) concentration of 15 mg/L. When adding biogenic magnetite particles, Cr(VI) reduction efficiency of $87.73\% \pm 9.12\%$ was

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (41606157)

*Corresponding author: Tel: 86-22-60601458; E-mail: hongyanliu1214@163.com

Received: 30-12-2020; Accepted: 03-02-2021; Published online: 26-03-2021

基金项目: 国家自然科学基金(41606157)

*通信作者: Tel: 022-60601458; E-mail: hongyanliu1214@163.com

收稿日期: 2020-12-30; 接受日期: 2021-02-03; 网络首发日期: 2021-03-26

obtained, increased by 38% compared with the control. Cr(VI) reduction by biogenic magnetite particles was decreased obviously with increasing pH solutions from 2.0 to 8.0. At pH 2.0, the reduction rate of Cr(VI) by biogenic magnetite particles was the highest, almost 100%. There were many pores on the surface of biogenic magnetite particles under scanning electron microscope. Biogenic magnetite particles showed XRD peaks include Fe(II) existed in the form of $\text{Fe}(\text{OH})_2$. **[Conclusion]** These results indicated that dissimilatory Fe(III)-reducing bacteria and the biogenic magnetite particles could reduce Cr(VI), which will provide the evidence for the application of dissimilatory Fe(III)-reducing bacteria into the reduction of Cr(VI).

Keywords: Fe(III)-reducing bacteria, *Clostridium butyricum* LQ25, biogenic magnetite, Fe(III) reduction, Cr(VI) reduction

随着染料、制革、防腐及电镀等工业的发展,铬污染问题随之产生^[1]。铬有 2 种主要价态 Cr(VI) 和 Cr(III), 其中 Cr(VI) 是强氧化性物质, 毒性比 Cr(III) 高 100 倍^[2]。铬污染问题的解决方法主要是将有毒的 Cr(VI) 还原为毒性较小的 Cr(III), 并通过形成沉淀达到去除 Cr(VI) 的目的。例如, 电解法和化学还原法都是通过形成 $\text{Cr}(\text{OH})_3$ 沉淀以去除 Cr(VI)^[3-5]。由此可见, Cr(VI) 还原为 Cr(III) 是去除 Cr(VI) 的重要途径。

近年来, 利用微生物去除 Cr(VI) 的研究受到广泛的关注, 其中包括微生物吸附法和微生物还原法。檀笑等从污泥中筛选耐受并吸附去除 Cr(VI) 的菌株, 获得一株伯克霍尔德菌 (*Burkholderia* sp.) Y-12, 反应 166 h 时, 该菌株对 5 mg/L Cr(VI) 吸附去除率可达到 72.4%^[6]。Yue 等在利用菌株 *Desulfovibrio desulfuricans* 吸附 Cr(VI) 的研究中, 发现该菌株通过产生胞外聚合物吸附 Cr(VI), 24 h 内吸附率可达到 85.1%^[7]。

微生物还原 Cr(VI) 包括直接还原和间接还原。铬还原细菌能够通过直接通过酶促反应还原重金属 Cr(VI) 为 Cr(III), 已经报道的铬还原酶包括醛氧化酶、细胞色素 P450 和 DT-硫辛酰胺脱氢酶等^[8]。韩剑宏等从铬渣场土壤筛选出菌株 *Micrococcus luteus* G-13, 其还原 Cr(VI) 效率要受到 pH、温度和初始 Cr(VI) 浓度等因素影响, 最高 Cr(VI) 还原率能达到 99.1%^[9]。刘爱霖等分离出 Cr(VI) 还原菌株 *Microbacterium* sp. BD6, 选择 2 g/L 甘油为电子供体, 菌株对 Cr(VI) 还原率能达到 100%^[10]。铬还原

细菌种属多样, 对 Cr(VI) 耐受和还原能力大小不一, 还原条件也不同^[11]。继续广泛筛选高效还原 Cr(VI) 的菌株是利用微生物去除 Cr(VI) 的重要研究手段。

微生物间接还原 Cr(VI) 主要是指微生物利用有机物产生的电子传递给电子受体, 如 SO_4^{2-} 和 Fe(III) 等, 电子受体接受电子发生还原, 形成 S^{2-} 或 Fe(II) 等还原性中间产物将 Cr(VI) 还原为 Cr(III), 达到间接还原 Cr(VI) 的目的。间接还原 Cr(VI) 的细菌主要有硫酸盐还原细菌和异化铁还原细菌。李想等研究表明, 硫酸盐还原菌株 *Desulfovibrio desulfuricans* G20 处理初始浓度为 120 mg/L Cr(VI), 还原率接近 100%^[12]。生物燃料电池体系中, 相比不添加 Fe(III) 条件下 Cr(VI) 还原率 (40.7%±1.0%), 添加 Fe(III) 条件下 Cr(VI) 还原率提高至 65.6%±2.2%^[13]。杜艳影等研究表明, 菌株 *Shewanella oneidensis* MR-1 异化铁还原作用能够促进其对 Cr(VI) 的还原效率, 加 Fe(III) 的实验组对 Cr(VI) 的还原率达到 100%, 而未加 Fe(III) 时只能达到 88%^[14]。微生物间接还原 Cr(VI) 过程包含了生物-非生物还原反应, 即具有生物和化学处理的优点。这为含 Cr(VI) 废水的处理提供了一种可行途径, 是重金属污染修复领域一个新兴的研究方向^[15-16]。

微生物处理重金属 Cr(VI) 过程中, 由于微生物生长要受到盐度、酸碱度及 Cr(VI) 浓度等环境因素的干扰, 这导致目前微生物法更多集中在实验室研究阶段, 离实际应用还存在一定差距。为克服环境条件对异化铁还原细菌生长的限制, 基于异化铁还原细菌制备生物磁铁矿 (Biogenic Magnetite) 是一种经济有效的方式^[17]。磁铁矿是含有 2 种价态铁的铁

氧复合物。生物磁铁矿包括生物控制型合成和生物诱导型合成。在一些生物体中,如蜜蜂、鱼类及某些微生物,生物控制型合成的磁铁矿位于细胞内,一般与生物定向和导航有关,磁铁矿中存在稳定形式的 Fe(II)。生物诱导型合成的磁铁矿存在于细胞外,磁铁矿中同样存在 Fe(II),可利用 Fe(II)的还原性去除 Cr(VI)。Lovley 等首次研究发现菌株 *Geobacter metallireducens* GS-15 能够在异化铁还原的作用下在细胞外形成磁铁矿^[18]。Perez-Gonzalez 等研究发现,菌株 *Shewanella oneidensis* 能够诱导磁铁矿的细胞外沉淀,合成生物磁铁矿^[19]。Watts 等研究发现异化铁还原细菌 *Geobacter sulfurreducens* 合成生物磁铁矿主要成分是四氧化三铁,比表面积 17.1 m²/g;而对照组化学磁铁矿的主要成分是零价铁和四氧化三铁,比表面积 14.6 m²/g,生物磁铁矿因偶联转移电子而具有更高还原 Cr(VI)效率^[20]。Byrne 等发现异化铁还原细菌 *Geobacter sulfurreducens* 合成的生物磁铁矿粒子大小在 10–50 nm 之间,能够将 Cr(VI)还原为毒性很弱的 Cr(III)^[21]。可见,生物磁铁矿可用于还原重金属 Cr(VI)。添加铁氧化物条件下,由异化铁还原细菌在细胞外形成生物磁铁矿属于生物诱导型合成。这是异化铁还原细菌修复重金属污染的重要途径^[22],需进一步研究。

本研究以异化铁还原细菌 *Clostridium butyricum* LQ25 为研究对象,在分析菌株异化铁还原对 Cr(VI)还原效率影响的基础上,通过制备生物磁铁矿探索其还原 Cr(VI)的应用范围,以期拓宽微生物法去除 Cr(VI)的应用实践提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 菌株

菌株 *Clostridium butyricum* LQ25 分离自渤海沉积物,是一株异化铁还原细菌,GenBank 登录号为 MK156151。

1.2 培养条件

培养基(g/L): 氯化钠 4.0, 氯化镁 0.1, 磷酸氢

二钾 1.5, 半胱氨酸 0.5, 酵母粉 1.0, 葡萄糖 20.0, 胰蛋白胨 4.0。菌培养条件: 菌株按 1%接种,厌氧螺口管装满培养基,放置于厌氧培养罐(Oxoid Anaero Jar 2.5 L, Thermo Scientific)内,培养温度 32 °C。

1.3 异化铁还原对 Cr(VI)还原的影响

菌株 LQ25 接种于含 Cr(VI)及 Fe(III)的培养基。培养基中添加 Fe(III)的形态是人工合成的氢氧化铁,关于氢氧化铁的合成步骤见文献[23],按体积分数 2%加入含 Cr(VI)的培养基中。Cr(VI)是以重铬酸钾形式添加,浓度分别是 5、10、15、20、25 和 30 mg/L。不添加 Cr(VI)的培养基作为对照组。培养结束时,测定菌株细胞生长指标 OD₆₀₀ 及 Cr(VI)还原率。每组实验重复 3 次。

1.4 制备生物磁铁矿

菌株 LQ25 接种于异化铁培养体系中,添加氢氧化铁[Fe(OH)₃]作为电子受体,葡萄糖为电子供体。菌株 LQ25 按 5%比例接种,电子受体氢氧化铁按体积分数 2%添加,电子供体葡萄糖浓度是 20.0 g/L,其余培养成分同 1.2,利用 1 000 mL 锥形瓶培养(含培养基 700 mL)。菌株接种后,利用石蜡密封锥形瓶口,32 °C 培养。5 d 结束培养,8 000 r/min 离心 5 min 收集培养液中固体成分,置于培养皿中,冷冻干燥 24 h,收集固体粉末于厌氧袋中备用。

1.5 测定方法

利用分光光度计测定菌液在波长 600 nm 处的吸光值,以此来作为菌株生长指标。细菌异化铁还原能力通过测定培养过程累积产生 Fe(II)浓度表示,采用邻菲罗啉法测定 Fe(II)浓度^[24]。首先,取 1 mL 邻菲罗啉溶液和 1 mL 乙酸-乙酸钠(pH 4.6)缓冲液到 10 mL 比色管中,再加入 1 mL 菌液,加水定容至 10 mL,测定反应液在 510 nm 处的吸光值。最后,根据标准曲线计算 Fe(II)浓度。Cr(VI)还原能力通过测定培养液剩余 Cr(VI)浓度表示,采用二苯碳酰二肼分光光度法测定 Cr(VI)浓度^[25],具体步骤是:取 1.0 mL 细菌培养液,4 500 r/min 离心 5 min,收集上清液 0.5 mL,与 0.2 mL H₂SO₄ 和 0.2 mL 二

苯碳酰二肼混合,然后加蒸馏水定容至 5 mL,于 540 nm 处测定反应液吸收度,根据标准曲线计算 Cr(VI)浓度。Cr(VI)还原率计算公式:还原率= $(C_i-C_f)/C_i \times 100\%$,其中, C_i 代表初始 Cr(VI)浓度(mg/L), C_f 代表终止 Cr(VI)浓度(mg/L)。生物磁铁矿经冷冻干燥后再充分研磨成粉末状。扫描电镜观察生物磁铁矿表面。利用 X 射线衍射仪分析生物磁铁矿特征,参数设置:Cu-K α 辐射, $\lambda=1.5406$ nm,管电流 40 mA,管电压为 40 kV,扫描速度为 5°/min,扫描范围为 5°–70°。数据分析软件为 MDI Jade 6.0。

2 结果与分析

2.1 不同 Cr(VI)浓度下菌株 LQ25 的生长

在不同 Cr(VI)浓度条件下,菌株 LQ25 细胞生长及 Cr(VI)还原率见图 1。在 Cr(VI)浓度为 5 mg/L 和 10 mg/L 时,菌株细胞密度 OD_{600} 分别是 0.63 ± 0.02 和 0.61 ± 0.01 ,对 Cr(VI)还原效率分别是 $91.57\% \pm 3.05\%$ 和 $86.02\% \pm 4.75\%$ 。当继续增加 Cr(VI)浓度为 15 mg/L 时,菌株细胞密度 OD_{600} 下降极显著($P < 0.01$),为 0.14 ± 0.02 ,菌株 LQ25 对 Cr(VI)的还原率只有 $28.43\% \pm 1.09\%$;当 Cr(VI)浓度增加至 30 mg/L 时,菌株 LQ25 基本停止生长,培养液 Cr(VI)浓度基本没有变化。

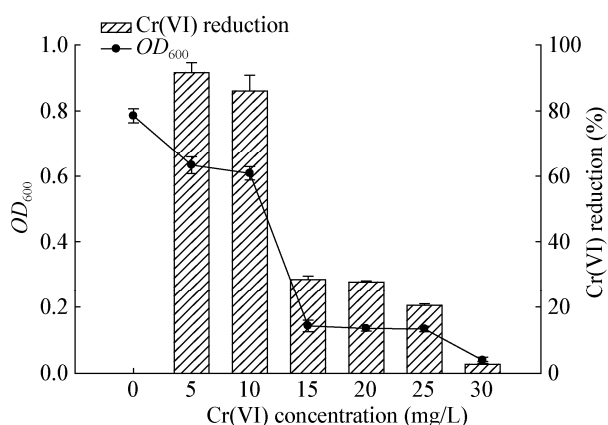


图 1 Cr(VI)浓度对菌株 LQ25 细胞生长及 Cr(VI)还原率的影响

Figure 1 The effects of Cr(VI) concentration on cell growth and Cr(VI) reduction by strain LQ25

2.2 菌株异化铁还原对 Cr(VI)的还原特性

在氢氧化铁为电子受体、葡萄糖为电子供体的异化铁培养条件下,菌株 LQ25 细胞生长及还原 Cr(VI)效率见图 2。当 Cr(VI)浓度是 5 mg/L 和 10 mg/L 时,菌株细胞密度 OD_{600} 分别是 0.79 ± 0.02 和 0.76 ± 0.01 ,菌株对 Cr(VI)还原率能够达到 95%。Cr(VI)浓度 15 mg/L 时,菌株 LQ25 对 Cr(VI)还原率为 $63.45\% \pm 5.13\%$,是对照组(未添加氢氧化铁)的 2.23 倍。当 Cr(VI)浓度增加至 30 mg/L 时,菌株在异化铁还原培养条件下能够继续生长, OD_{600} 为 0.34 ± 0.02 ,对 Cr(VI)还原率是 $35.48\% \pm 3.14\%$ 。相比未添加氢氧化铁的对照组,菌株 LQ25 在异化铁培养条件下的细胞生长和还原 Cr(VI)效率都有不同程度提高。特别是 Cr(VI)浓度为 15–30 mg/L 时,异化铁还原实验组相比对照组,还原 Cr(VI)的效率都极显著提高($P < 0.01$)。

2.3 生物磁铁矿还原 Cr(VI)的特性

2.3.1 利用菌株 LQ25 制备生物磁铁矿

在异化铁培养过程中,菌株 LQ25 能够利用氢氧化铁诱导合成生物磁铁矿,图 3 是生物磁铁矿在电子显微镜下观察的结果。其中图 3A 是氢氧化铁作为参照,图 3B 是生物磁铁矿。放大 1 500 倍时,对比图 3A 和图 3B 可以看出,菌株 LQ25 诱导合成的生物磁铁矿表面与参照氢氧化铁相比较粗糙,有许多明显孔隙。

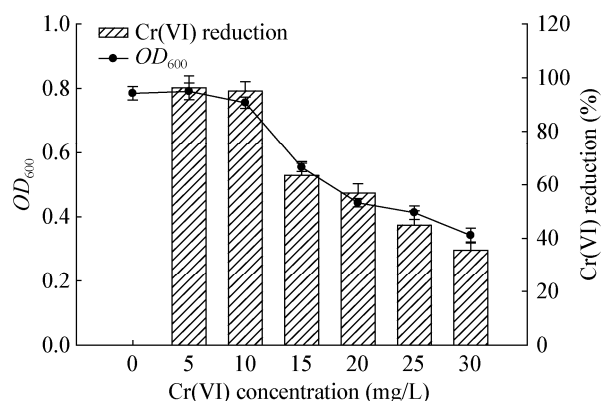


图 2 异化铁培养条件下菌株 LQ25 的细胞生长及 Cr(VI)还原率

Figure 2 Cell growth and Cr(VI) reduction by strain LQ25 under Fe(III)-reducing conditions

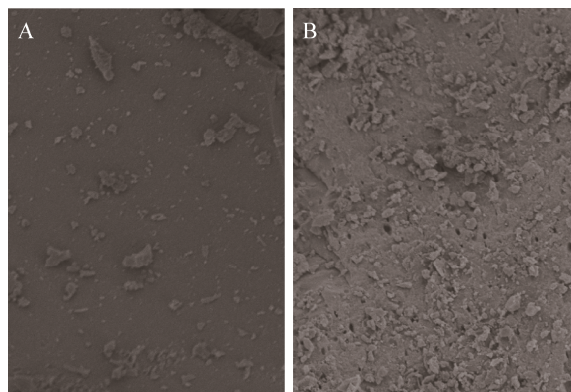


图3 扫描电子显微镜观察结果

Figure 3 Surface morphology under the electronic microscope

注: A 是氢氧化铁; B 是生物磁铁矿

Note: A for ferric hydroxide; B for biogenic magnetite

为探究菌株 LQ25 诱导合成的生物磁铁矿中是否存在 Fe(II), 对生物磁铁矿进行 X-射线衍射检测。XRD 图谱(图 4)显示, 图谱中出现关于 $\text{Fe}(\text{OH})_2$ 的衍射峰。这表明生物磁铁矿中存在 Fe(II), 而且 Fe(II) 以 $\text{Fe}(\text{OH})_2$ 的形式存在。

2.3.2 Cr(VI)浓度对生物磁铁矿还原 Cr(VI)的影响

Cr(VI)浓度对生物磁铁矿还原 Cr(VI)的影响如图 5 所示。Cr(VI)浓度为 5 mg/L 和 10 mg/L 时, Cr(VI)还原率能够达到 98%; 当 Cr(VI)浓度提高至 15 mg/L, 生物磁铁矿对 Cr(VI)还原效率是 $87.73\% \pm 9.12\%$, 相比菌株异化铁还原实验组提高 38%。Cr(VI)浓度为 20、25 和 30 mg/L 时, 生物磁铁矿还原 Cr(VI)

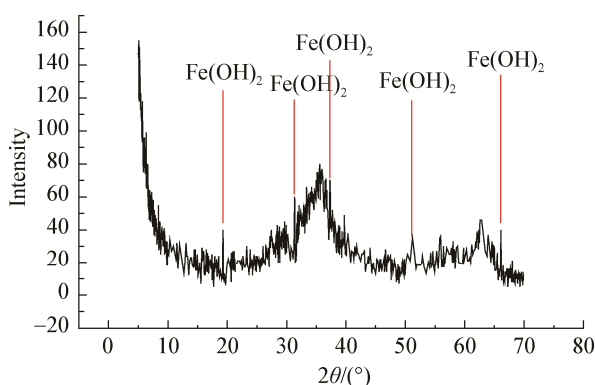


图4 生物磁铁矿 XRD 图谱

Figure 4 XRD pattern of biogenic magnetite particles

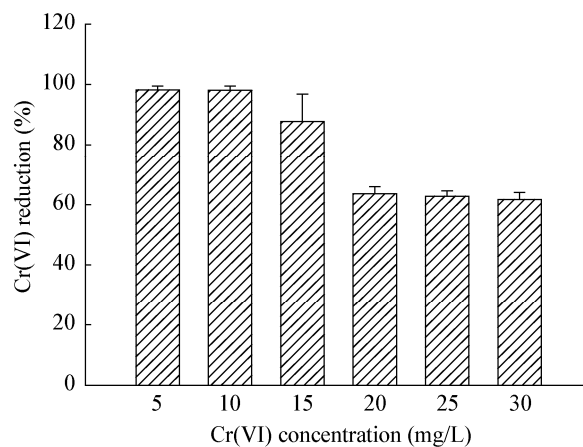


图5 Cr(VI)浓度对 Cr(VI)还原率的影响

Figure 5 The effects of Cr(VI) concentration on Cr(VI) reduction by biogenic magnetite particles

的效率无显著差异($P > 0.05$), Cr(VI)还原率都在 60% 左右。生物磁铁矿还原 Cr(VI)能够减弱重金属 Cr(VI)对菌株的毒害效应。Cr(VI)浓度在 15–30 mg/L 时, 生物磁铁矿还原 Cr(VI)的效率显著高于菌株异化铁还原 Cr(VI)的效率($P < 0.01$)。

2.3.3 pH 对生物磁铁矿还原 Cr(VI)的影响

pH 值对 Cr(VI)还原率的影响见图 6。随着 Cr(VI)溶液的 pH 值提高, 生物磁铁矿对 Cr(VI)的还原率随之下降。当 pH 值为 2.0 时, Cr(VI)还原率接近 100%。继续升高 pH 值, Cr(VI)去除率开始下降, pH 值越高, Cr(VI)还原率越低。pH 为 5.0 时, Cr(VI)

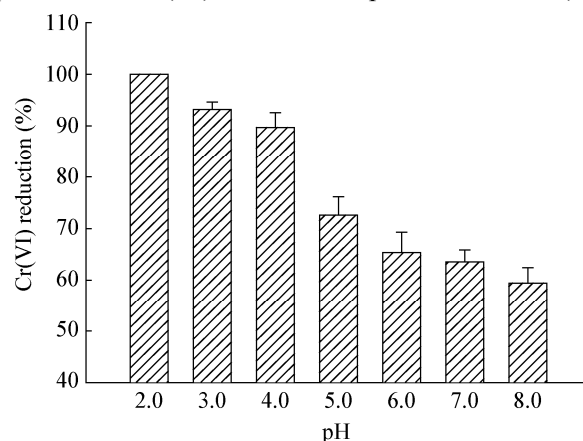


图6 pH 对 Cr(VI)还原率的影响

Figure 6 The effects of pH on Cr(VI) reduction by biogenic magnetite particles

还原率为 $72.61\% \pm 3.52\%$; pH 为 8.0 时, Cr(VI)还原率只有 $59.48\% \pm 2.93\%$ 。相比 pH 2.0 和 3.0, Cr(VI)还原率下降极为显著($P < 0.01$)。

3 讨论

菌株 LQ25 分离自海洋沉积物, 鉴定为 *C. butyricum* LQ25。将菌株置于含 Cr(VI)培养条件下, 从细胞生长指标 OD_{600} 可以看出, 菌株生长受到 Cr(VI)不同程度的影响。浓度为 5 mg/L Cr(VI)对菌株细胞生长抑制作用不明显, OD_{600} 值无显著差异($P > 0.05$)。同时, 菌株 LQ25 对 5 mg/L Cr(VI)具有较高水平还原率, 这表明菌株 LQ25 具有直接还原 Cr(VI)的能力。菌株还原 Cr(VI)效率受到 Cr(VI)浓度影响, 随着 Cr(VI)浓度增加, 菌株对 Cr(VI)还原率发生显著性变化。Cr(VI)的还原菌株 *Cellulosimicrobium funkei* AR8 在 100、150、200 和 250 mg/L Cr(VI)培养条件下, 细胞生长量相比对照组[未添加 Cr(VI)]分别下降 9.69%、30.90%、44.24% 和 54.54%, 该菌株对 100、150 和 200 mg/L Cr(VI)还原率能达到 100%, 对 250 mg/L Cr(VI)还原率是 78.18%^[26]。Singh 等设置 Cr(VI)浓度梯度 25、50 和 100 mg/L, 筛选到 3 株耐 Cr(VI)菌株, *Bacillus megaterium* S10-D、*Enterococcus faecalis* S1-B 和 *Bacillus cereus* S3-A, 对 Cr(VI) (25 mg/L)还原率分别是 100%、78.6%和 62.36%^[27]。Murugavelh 等研究发现菌株 *Bacillus cereus* 在 70 mg/L Cr(VI)中还原率是 73.98%^[28]。本研究, 对于菌株 LQ25, 15 mg/L Cr(VI)对菌株的毒害作用已经非常明显, 菌株在 30 mg/L Cr(VI)时基本停止生长。这表明菌株 LQ25 虽然能够还原 Cr(VI), 但还原效率不高, 而且随着 Cr(VI)浓度增加, 菌株的还原能力相应降低。菌株 LQ25 不是一株典型的耐铬及铬还原细菌。

菌株 LQ25 是一株异化铁还原细菌, 从异化铁还原指标 Fe(II)浓度可以看出, 菌株能够以不溶性氢氧化铁为电子受体, 利用葡萄糖为电子供体进行异化铁还原。与含 Cr(VI)培养条件相比, 培养液中添加氢氧化铁能够提高菌株 LQ25 对不同浓度

Cr(VI)的耐受能力。菌株 *Acidiphilium cryptum* XTS 在设置 Cr(VI)浓度范围(20–100 mg/L)内能够直接还原 Cr(VI), 而当培养体系加入 Fe(III), 加 Fe(III)实验组 Cr(VI)还原率比不加 Fe(III)对照组高出 30.68%, 实验表明 Fe(III)的存在促进菌株 XTS 对 Cr(VI)的还原^[29]。Liu 等研究发现菌株 *Shewanella oneidensis* MR-1 在异化铁还原条件下能够还原 Cr(VI), 而且 Cr(VI)还原率随着 Fe(III)浓度增加而提高^[30]。在添加氢氧化铁条件下菌株发生异化铁还原过程, 累积产生 Fe(II), 而 Fe(II)作为还原剂还原 Cr(VI), 从而降低 Cr(VI)对细胞生长的毒害抑制作用^[31–32]。这种异化铁还原细菌间接还原 Cr(VI)的方式包括生物酶促反应产生 Fe(II)和化学还原去除 Cr(VI)^[33]。利用异化铁还原细菌还原 Cr(VI)的研究受到越来越多的关注^[34]。目前, 利用异化铁还原细菌修复 Cr(VI)技术的研究主要是实验室规模。这主要是由于在含 Cr(VI)废水的应用实践中, 微生物要受到废水酸碱度、盐度和 Cr(VI)浓度等因素影响而导致菌株生长受限。

一般而言, 微生物对培养液中 pH 的变化比较敏感, 当 pH < 6.0 时, 微生物生存会遭遇巨大的挑战, 很难生长。因此, 对于酸性含 Cr(VI)废水, 利用传统微生物处理重金属 Cr(VI)很难实现。本研究中, 基于菌株 LQ25 以氢氧化铁为电子受体异化铁还原培养制备生物磁铁矿, 其对 Cr(VI)的还原效率随着溶液 pH 降低而提高。相比 pH 6.0 和 pH 7.0, 当 pH < 5.0 时生物磁铁矿对 Cr(VI)的还原效率显著提高, pH 值为 2.0 时 Cr(VI)的还原效率最高。Kim 等研究发现, 异化铁还原细菌 *Geocha-1* 利用赤铁矿为电子受体、葡萄糖为电子供体合成生物磁铁矿, 并应用于 Cr(VI)的还原。当 pH 值为 2.0 时 Cr(VI)的还原效率是 77.5%, 随着 pH 值提高, Cr(VI)的还原效率一直在降低; 当 pH > 7.0 时, Cr(VI)的还原效率不足 50%^[35]。在 Cr(VI)还原过程中, pH 不仅影响质子化/脱质子化状态, 生物材料表面的离子状态也随着 pH 变化而改变^[36]。酸性条件下, 生物磁铁矿表面发生质子化, 而产生的正电荷对 Cr(VI)具有

积极吸引的效果。由于 Cr(VI)在酸性溶液中以不同形态存在(H_2CrO_4 、 HCrO_4^- 、 CrO_4^{2-} 和 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ^[37]), 而生物磁铁矿对不同 Cr(VI)形式存在偏好, 由此导致不同 pH 条件下生物磁铁矿对 Cr(VI)的去除效率存在差异。随着 pH 值升高的溶液中 OH^- 增多, 在结合位点增多的 OH^- 会与 Cr(VI)发生竞争^[38]。同时 pH 值升高, 碱性条件下, 生物磁铁矿表面发生去质子化, 而产生的负电荷对 Cr(VI)具有排斥效应。

此外, 基于异化铁还原细菌的生物磁铁矿表面存在有机物, 可防止 Fe(II)再氧化。然而利用 Fe(II)为还原剂将毒性高的 Cr(VI)转变为毒性低的 Cr(III)是一种比较实用的方法^[39]。Byrne 等利用 50 L 反应器培养异化铁还原 *Geobacter sulfurreducens*, 在中试规模上制备生物磁铁矿用于 Cr(VI)去除, 推动生物磁铁矿的应用实践研究^[17]。生物磁铁矿在重金属污染修复和有机物降解等方面具有广阔的应用前景。Iwahori 等利用异化铁还原细菌 *Geobacter* sp. 制备生物磁铁矿, 其吸附重金属(Co^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Zn^{2+})的容量是化学磁铁矿的 30–40 倍^[40]。Jung 等利用异化铁还原细菌 *Shewanella* sp. 制备生物磁铁矿, 与化学磁铁矿相比, 生物磁铁矿降解对氯苯甲酸具有更高效率^[41]。由此可见, 与异化铁还原细菌直接处理 Cr(VI)方法相比, 利用异化铁还原细菌制备生物磁铁矿去除 Cr(VI)的方法既可以减少废水酸碱度对菌株生长的影响, 也能够防止 Cr(VI)对菌株的毒害抑制, 提高重金属 Cr(VI)去除效率。

4 结论

异化铁还原细菌 *C. butyricum* LQ25 在 5 mg/L Cr(VI)浓度条件下能够生长, 对 Cr(VI)具有较高还原率。当 Cr(VI)浓度为 15–30 mg/L 时, 菌株生长受到明显抑制。菌株 LQ25 不是一株典型耐铬及还原铬细菌。以氢氧化铁为电子受体的异化铁还原培养体系中, 菌株 LQ25 对不同浓度 Cr(VI)的还原率相比对照组(未添加氢氧化铁)都有显著提高($P<0.01$)。对 15 mg/L 浓度 Cr(VI)的还原率可提高至 $63.45\%\pm 5.13\%$, 是对照组的 2.23 倍。培养结束时, 基于菌株 LQ25 制备生物磁铁矿, 相比菌株异化铁还原过

程去除 Cr(VI), 生物磁铁矿还原 Cr(VI)的效率有显著提高($P<0.01$)。对 15 mg/L 浓度 Cr(VI)的还原率可提高至 $87.73\%\pm 9.12\%$, 是对照组的 3.08 倍。生物磁铁矿去除 Cr(VI)效率随着溶液 pH 值降低, 还原率随之提高。对于 20 mg/L 浓度 Cr(VI), 当 pH 为 7.0 时, 生物磁铁矿对 Cr(VI)还原率为 $63.54\%\pm 2.34\%$; pH 为 2.0 时, 生物磁铁矿对 Cr(VI)的还原率最高, 达到 100%。细菌异化铁还原和生物磁铁矿都能够有效还原 Cr(VI), 而生物磁铁矿应用于处理酸性含 Cr(VI)废水具有明显优势。由此可见, 异化铁还原细菌还原 Cr(VI)是微生物法修复铬污染的重要途径。

REFERENCES

- [1] Zhang XL, Zhang SY, Feng JW. Preparation of nano-iron for removing Cr(VI) from wastewaters[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2012, 6(9): 3167-3172 (in Chinese)
张显龙, 张思阳, 冯婧微. 纳米铁的制备及去除废水中的 Cr(VI)[J]. 环境工程学报, 2012, 6(9): 3167-3172
- [2] Yang Y, Gao Y, Cheng Q, Zhu ZY, Hu TT, Xu Q, Li AM. Isolation, identification and Cr(VI) reducing characteristics of a chromium-reducing bacteria[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2018, 27(2): 322-329 (in Chinese)
杨宇, 高宇, 程潜, 朱振宇, 胡婷婷, 徐全, 李爱民. 一株铬还原菌的分离鉴定及铬还原特性研究[J]. 生态环境学报, 2018, 27(2): 322-329
- [3] Hu J, Li D, Hu SY, Yuan XZ. Cr(VI)-contaminated soil remediation by sacrificing Fe-anode[J]. Journal of Chongqing Technology and Business University: Natural Science Edition, 2017, 34(4): 95-100 (in Chinese)
胡静, 李东, 胡思扬, 袁兴中. 牺牲铁阳极法修复铬(VI)污染土壤实验研究[J]. 重庆工商大学学报: 自然科学版, 2017, 34(4): 95-100
- [4] Tian Y, Huang LP, Zhou XH, Wu CB. Electroreduction of hexavalent chromium using a polypyrrole-modified electrode under potentiostatic and potentiodynamic conditions[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 225/226: 15-20
- [5] Zheng JZ, Shi M, Li J, Guo CY, Zhang L. Reductive immobilization of hexavalent chromium in contaminated soil and groundwater systems: a review[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, 9(7): 3077-3085 (in Chinese)
郑建中, 石美, 李娟, 郭彩阳, 张良. 化学还原固定化土壤地下水六价铬的研究进展[J]. 环境工程学报, 2015, 9(7): 3077-3085

- [6] Tan X, Zeng JY, Zhang YF, Zeng QY, Chen SN. Biosorption and biotransformation of Cr(VI)/Cu(II) combined pollutant by *Burkholderia* sp.[J]. Environmental Pollution & Control, 2019, 41(8): 932-937 (in Chinese)
檀笑, 曾洁仪, 张逸凡, 曾巧云, 陈烁娜. 一株典型伯克氏菌对 Cr(VI)/Cu(II)复合污染的吸附转化[J]. 环境污染与防治, 2019, 41(8): 932-937
- [7] Yue ZB, Li Q, Li CC, Chen TH, Wang J. Component analysis and heavy metal adsorption ability of extracellular polymeric substances (EPS) from sulfate reducing bacteria[J]. Bioresource Technology, 2015, 194: 399-402
- [8] Patra RC, Malik S, Beer M, Megharaj M, Naidu R. Molecular characterization of chromium(VI) reducing potential in Gram positive bacteria isolated from contaminated sites[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(10): 1857-1863
- [9] Han JH, Song YY, Zhang TJ, Jiang QH, Zhang LK, Wang WD. Screening and identification of Cr(VI) reducing bacteria[J]. Microbiology China, 2020, 47(10): 3206-3215 (in Chinese)
韩剑宏, 宋玉艳, 张铁军, 姜庆宏, 张连科, 王维大. Cr(VI)还原菌的筛选、鉴定及其还原物质分析[J]. 微生物学通报, 2020, 47(10): 3206-3215
- [10] Liu AL, Wu ZG, Jiang X, Zhao MY, Yang ZZ. Isolation, identification and characterization of Cr(VI) reducing bacterium *Microbacterium* sp. BD6[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(1): 95-105 (in Chinese)
刘爱霖, 吴志国, 江鑫, 赵明源, 杨宗政. Cr(VI)还原菌 *Microbacterium* sp. BD6 的分离鉴定及还原特性[J]. 微生物学报, 2020, 60(1): 95-105
- [11] Ji ML, Yan J, Lin H, Li HX. Research progress on principles and applications of microbial reduction of hexavalent chromium[J]. Industrial Safety and Environmental Protection, 2015, 41(12): 59-61, 72 (in Chinese)
季梦兰, 严俊, 林华, 李海翔. Cr(VI)的微生物还原去除机理与应用研究进展[J]. 工业安全与环保, 2015, 41(12): 59-61, 72
- [12] Li X, Zhang XY, Wang T, Shen WR, Jiang T, Zhou J. Research on the growth characters of *Desulfovibrio desulfuricans* G20 and removal of Cr(VI)-containing sulfate wastewater[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2018, 16(3): 71-77 (in Chinese)
李想, 张雪英, 王婷, 沈蔚然, 姜添, 周俊. *Desulfovibrio desulfuricans* G20 生理特性及处理含铬(VI)硫酸盐废水的研究[J]. 生物加工过程, 2018, 16(3): 71-77
- [13] Wang Q, Huang LP, Pan YZ, Quan X, Li Puma G. Impact of Fe(III) as an effective electron-shuttle mediator for enhanced Cr(VI) reduction in microbial fuel cells: reduction of diffusional resistances and cathode overpotentials[J]. Journal of Hazardous Materials, 2017, 321: 896-906
- [14] Du YY, Liu XH, Li J, Li LM, Si YB. Reduction of Cr(VI) by *Shewanella oneidensis* MR-1 and its influencing factors[J]. China Environmental Science, 2018, 38(7): 2740-2745 (in Chinese)
杜艳影, 刘小红, 李劲, 李磊明, 司友斌. *Shewanella oneidensis* MR-1 对 Cr(VI)的还原及其影响因素[J]. 中国环境科学, 2018, 38(7): 2740-2745
- [15] Xu WH, Liu YG, Zeng GM, Li X, Tang CF, Yuan XZ. Enhancing effect of iron on chromate reduction by *Cellulomonas flavigena*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2005, 126(1/2/3): 17-22
- [16] Zhang J, Dong HL, Zhao LD, McCarrick R, Agrawal A. Microbial reduction and precipitation of vanadium by mesophilic and thermophilic methanogens[J]. Chemical Geology, 2014, 370: 29-39
- [17] Byrne JM, Muhamadali H, Coker VS, Cooper J, Lloyd JR. Scale-up of the production of highly reactive biogenic magnetite nanoparticles using *Geobacter sulfurreducens*[J]. Journal of the Royal Society, Interface, 2015, 12(107): 20150240
- [18] Lovley DR, Stolz JF, Nord GL, Phillips EJP. Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism[J]. Nature, 1987, 330(6145): 252-254
- [19] Perez-Gonzalez T, Jimenez-Lopez C, Neal AL, Rull-Perez F, Rodriguez-Navarro A, Fernandez-Vivas A, Iañez-Pareja E. Magnetite biomineralization induced by *Shewanella oneidensis*[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2010, 74(3): 967-979
- [20] Watts MP, Coker VS, Parry SA, Patrick RAD, Thomas RAP, Kalin R, Lloyd JR. Biogenic nano-magnetite and nano-zero valent iron treatment of alkaline Cr(VI) leachate and chromite ore processing residue[J]. Applied Geochemistry, 2015, 54: 27-42
- [21] Byrne JM, Telling ND, Coker VS, Patrick RAD, Van Der Laan G, Arenholz E, Tuna F, Lloyd JR. Control of nanoparticle size, reactivity and magnetic properties during the bioproduction of magnetite by *Geobacter sulfurreducens*[J]. Nanotechnology, 2011, 22(45): 455709
- [22] Prozorov T. Magnetic microbes: bacterial magnetite biomineralization[J]. Seminars in Cell & Developmental Biology, 2015, 46: 36-43
- [23] Liu HY, Wang HY. Characterization of Fe(III)-reducing enrichment culture and isolation of Fe(III)-reducing bacterium *Enterobacter* sp. L6 from marine sediment[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2016, 122(1): 92-96
- [24] Wang WM, Qu D, Xu J. Isolation of iron-reducing bacteria in paddy soil and its Fe(III) reduction potential analysis[J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2008, 36(10): 103-109 (in Chinese)

- 王伟民, 曲东, 徐佳. 水稻土中铁还原菌的分离纯化及铁还原能力分析[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2008, 36(10): 103-109
- [25] Peng L, Liu YW, Gao SH, Dai XH, Ni BJ. Assessing chromate reduction by dissimilatory iron reducing bacteria using mathematical modeling[J]. Chemosphere, 2015, 139: 334-339
- [26] Karthik C, Barathi S, Pugazhendhi A, Ramkumar VS, Thi NBD, Arulselvi PI. Evaluation of Cr(VI) reduction mechanism and removal by *Cellulosimicrobium funkei* strain AR8, a novel haloalkaliphilic bacterium[J]. Journal of Hazardous Materials, 2017, 333: 42-53
- [27] Singh R, Gupta MK. Exploring the role of selected bacterial strains in chromium Cr(VI) reduction from soil[J]. International Journal of Scientific Research in Biological Sciences, 2019, 6(1): 226-232
- [28] Murugavelh S, Mohanty K. Isolation, identification and characterization of Cr(VI) reducing *Bacillus cereus* from chromium contaminated soil[J]. Chemical Engineering Journal, 2013, 230: 1-9
- [29] Yang Y, Huang L, Yang L, Xie D, Wang T. Reduction characteristics and differential expression of *Acidiphilium cryptum* XTS Cr(VI)-reduced related gene[J]. Microbiology China, 2015, 42(1): 64-73 (in Chinese)
杨宇, 黄露, 杨罗, 谢丹, 王涛. 隐藏嗜酸菌 *Acidiphilium cryptum* XTS 的 Cr(VI)还原特性及相关基因的差异表达[J]. 微生物学通报, 2015, 42(1): 64-73
- [30] Liu XH, Chu G, Du YY, Li J, Si YB. The role of electron shuttle enhances Fe(III)-mediated reduction of Cr(VI) by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2019, 35(4): 1-8
- [31] Hong X, Zhang XQ, Yan JH, Xia Q, Qiu HY, Lan GH. Investigation of Cr(VI) tolerance and removal by *Pseudomonas* S2-3[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, 10(3): 1539-1545 (in Chinese)
洪霞, 张馨荃, 严君华, 夏琦, 邱海燕, 兰贵红. *Pseudomonas* S2-3 菌株对 Cr(VI)的耐受性及去除[J]. 环境工程学报, 2016, 10(3): 1539-1545
- [32] Huang B, Gu LP, He H, Xu ZX, Pan XJ. Enhanced biotic and abiotic transformation of Cr(VI) by quinone-reducing bacteria/dissolved organic matter/Fe(III) in anaerobic environment[J]. Environmental Science Processes & Impacts, 2016, 18(9): 1185-1192
- [33] Whitaker AH, Peña J, Amor M, Duckworth OW. Cr(VI) uptake and reduction by biogenic iron (oxyhydr)oxides[J]. Environmental Science Processes & Impacts, 2018, 20(7): 1056-1068
- [34] Ding WX, Stewart DI, Humphreys PN, Rout SP, Burke IT. Role of an organic carbon-rich soil and Fe(III) reduction in reducing the toxicity and environmental mobility of chromium(VI) at a COPR disposal site[J]. Science of the Total Environment, 2016, 541: 1191-1199
- [35] Kim Y, Roh Y. Environmental application of biogenic magnetite nanoparticles to remediate chromium(III/VI)-contaminated water[J]. Minerals, 2019, 9(5): 260
- [36] Liu XX, Wu HY, Gan M, Qiu GZ. Pyrite-based Cr(VI) reduction driven by chemoautotrophic acidophilic bacteria[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 3082
- [37] Pérez-Candela M, Martín-Martínez J, Torregrosa-Maciá R. Chromium(VI) removal with activated carbons[J]. Water Research, 1995, 29(9): 2174-2180
- [38] Hu J, Chen GH, Lo IMC. Removal and recovery of Cr(VI) from wastewater by maghemite nanoparticles[J]. Water Research, 2005, 39(18): 4528-4536
- [39] Carvalho AAC, Silvestre DM, Leme FO, Naozuka J, Intima DP, Nomura CS. Feasibility of measuring Cr(III) and Cr(VI) in water by laser-induced breakdown spectroscopy using ceramics as the solid support[J]. Microchemical Journal, 2019, 144: 33-38
- [40] Iwahori K, Watanabe JI, Tani Y, Seyama H, Miyata N. Removal of heavy metal cations by biogenic magnetite nanoparticles produced in Fe(III)-reducing microbial enrichment cultures[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2014, 117(3): 333-335
- [41] Jung H, Kim JW, Choi H, Lee JH, Hur HG. Synthesis of nanosized biogenic magnetite and comparison of its catalytic activity in ozonation[J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2008, 83(3/4): 208-213