

研究报告

硫酸盐还原菌还原铬(VI)的研究*

汪 频 李福德 刘大江

(中国科学院成都生物研究所, 成都 610041)

摘要 从电镀厂废水的淤泥中,用 Hungate 厌氧技术分离出一株高效还原铬(VI)的硫酸盐还原菌,菌体为弧形杆状,宽 $0.5-0.8\mu\text{m}$,长 $2-4.2\mu\text{m}$,革兰氏阴性,极生单鞭毛,作无规则的渐近式运动,无芽孢,无荚膜,不完全氧化乳酸盐到乙酸盐,能利用可溶性淀粉、葡萄糖、蔗糖、 $\text{H}_2 + \text{CO}_2$ 、乙醇、甲酸盐等为唯一碳源。经鉴定属于 *Desulfovibrio* sp. (SRIV)。用 SRIV 菌进行去除铬(VI)的实验表明最适生长温度 30°C ,最适 pH 值 7,耐受铬(VI)的最高浓度 $10 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$,还原铬(VI)最适量 $4 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 。对铬(VI)去除率可达 99.8%。SRIV 菌生长范围广,性能稳定,因此,SRIV 菌可作为净化含铬废水的高效功能菌。

关键词 铬(VI),硫酸盐还原菌,电镀废水。

铬(VI)是重要的无机化工产品,高价铬化合物被广泛用于工业生产中,然而铬又是致癌剂、诱变剂,一般有机体能耐铬浓度为 $10-20\text{ppm}$ ^[1],水溶性离子状态的铬(VI)易被肠道吸收,引起消化道及皮肤溃疡,甚至造成畸型,导致癌症等多种病变^[2]。从电镀、皮革、木材防腐、染料、橡胶、陶瓷等厂所排出的废水中含有大量的铬(VI),严重地污染环境,危害生态系统。

治理铬废水,传统的采用物理和化学的方法,这些方法有一定的效果,但耗资较大,可能造成二次污染。用微生物处理含铬废水具有基建投资小,处理成本低,能耗省,没有二次污染等优点。分离出高效净化菌是微生物治理废水的关键,国内外有关这方面的报道较少,例如:含糊假单胞菌^[3]、荧光假单胞菌^[4]、乳链球菌^[5]等,这些菌株虽然对铬(VI)有一定的抗性,但却不能改变铬(VI)的价态,不能还原铬(VI)而降低其毒性,达不到治理含铬(VI)废水的目的。而对铬(VI)有还原能力的细菌:阴沟肠杆菌^[5]、铬酸盐还原菌^[7],其作用时间长,还原率低。本文报道了从电镀废水中分离出硫酸盐还原菌,并研究了该菌的生长还原铬(VI)的最适条件。

1 材料和方法

1.1 菌株的分离

样品采自电镀厂废水淤泥,在 24h 内接种于 Widdle^[8]改良培养基, 30°C 恒温培养。待生长后重复富集培养,再进行固体滚管单菌落分离,反复多次,同时进行去除铬(VI)试验,选出高效菌株。此菌株系革兰氏阴性,弧形杆状,极生单鞭毛,作无规则渐近式运动,无芽孢和荚膜,大小为 $0.5-2 \times 0.8-4.2\mu\text{m}$ 。

1.2 培养条件

试验中所用培养基采用 Hungate 厌氧技术制备,培养基成分(g/L): KH_2PO_4 0.5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.0, NH_4Cl 0.1, Na_2SO_4 0.5, CaCl_2 0.1, NaHCO_3 0.4, MgSO_4 0.1, 酵母粉 2.0, 乳酸钠 3.0, 微量元素 10ml, 维生素 10ml, 刃天青(0.1% V/V) 1ml, L-半胱氨酸盐酸盐 0.5, pH 7.0

配制浓度为 $20 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的无菌无氧重铬酸钾溶液,使用前于每 5ml 溶液试管中加 1ml. 10% $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 预先制成无菌无氧溶液于每 5ml 溶液试管中加入 0.05ml。培养温度 30°C 。

1.3 还原铬(VI)试验

在将有 30ml 培养基的 100ml 血清瓶中,注

* 本课题为国家自然科学基金项目

1993 年 4 月 28 日收到修改稿

入适量的铬液(用无氧水配制而成),形成不同的浓度梯度,然后接入 SRIV 菌液,设对照,测定铬的初始浓度后,置于 30℃ 恒温培养,每隔 12h 取一次测定铬含量。

1.4 分析方法

铬(VI)测定法:二苯碳酰二肼分光光度法^[9]。

总铬测定法:用 PE-703 原子吸收光谱仪,ICP 等离子发射光谱仪测定。

培养液光密度测定:用 722 型光栅分光光度计,波长 600nm。

pH 测定:用 S-2 型酸度计测定。

2 结果与讨论

2.1 生理实验

(1) 生长曲线 SRIV 菌的生长曲线,见图 1。发现该菌在接种后约 12h 的生长延滞期,对数生长期从 12—36h,36h 以后为其稳定期。

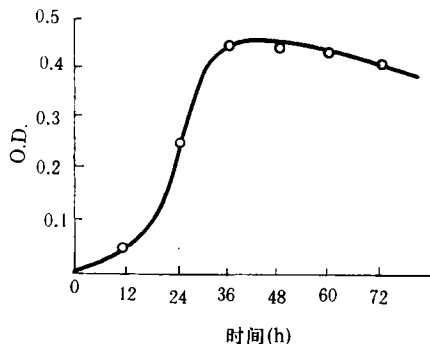


图 1 STIV 菌的生长

(2) 温度 对该菌分别进行了 15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃、45℃、50℃ 的温度培养试验。发现该菌生长范围在 20—45℃,最适生长温度 30℃。

(3) pH 值试验 该菌在 4.5、5.5、6.5、7.5、8.5、9 不同 pH 范围的生长情况,其生长的最适 pH 为 7.0,生长的 pH 范围 6—8.5。

(4) 碳源 去掉培养基中酵母粉、乳酸钠、维生素 C,分别加入不同的含碳化合物:葡萄糖、淀粉、蔗糖、甘油、丙酮酸钠、甲酸钠、乙醇、乳酸钠、丙醇、柠檬酸钠、棕榈酸、琥珀酸钠、苯甲酸钠、丁酸钠、乙酸钠、胆碱、丙酸、 $H_2 + CO_2$ (80% + 20%)

作为供氢体。由表 1 可见,该菌能利用葡萄糖、淀粉、蔗糖、果糖、甘油、甲醇、丙酮酸钠、甲酸钠、乙醇、乳酸钠、丙醇、氢加二氧化碳作为碳源。由此可知该菌可广泛利用各种有机物作碳源。

(5) 硫源 将培养基中硫酸盐换成硫代硫酸盐,亚硫酸盐、元素硫作为硫源,发现该菌能利用硫酸盐、硫代硫酸盐,不能利用亚硫酸盐及元素硫。

根据该菌的形态和某些生理特征,初步鉴定为 *Desulfovibrio* sp. (SRIV),可能是个新种,其详细鉴定工作将另行报道。

表 1 SRIV 菌在有 SO_4^{2-} 和无 SO_4^{2-} 存在下对不同含碳化合物的利用

含碳化合物 Carbon sources	SO_4^{2-}	— SO_4^{2-}
葡萄糖 (Glucose)	+	+
柠檬酸钠 (Sodium citrate)	—	—
淀粉 (Starch)	+	+
苯甲酸钠 (Sodium benzoate)	—	—
蔗糖 (Sucrose)	+	+
丁酸钠 (Sodium butyrate)	—	—
果糖 (Fructose)	+	+
乙酸钠 (Sodium acetate)	—	—
甘油 (Glycerol)	+	+
胆碱 (Choline)	—	—
丙酸 (Propanoic acid)	—	—
甲醇 (Methanol)	+	+
丙酮酸钠 (Sodium formate)	+	+
甲酸钠 (Sodium formate)	+	+
乙醇 (Ethanol)	+	+
棕榈酸 (Palmitate)	—	—
乳酸钠 (Sodium lactate)	+	+
丙醇 (Propanol)	+	+
氢+二氧化碳 ($H_2 + CO_2$)	+	+
琥珀酸钠 (Sodium succinate)	—	—
苹果酸钠 (Sodium malate)	—	—

2.2 去除铬(VI)实验

(1) 对铬(VI)的耐性 将 SRIV 菌分别培养在铬(VI)浓度(1×10^{-3} mol/L)为 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 的培养基中,发现该菌对铬(VI)有一定的耐受和还原能力,能耐铬(VI)的最高浓度 10×10^{-3} mol/L。对铬(VI)的耐受能力并不是 SR 菌的普遍特性,将 SRIV 菌与来自生活污水中的 SR 菌 (*Desulfo Vibrio vulgaris*) 比较发现,SR 菌有耐铬能力,不能在含 1×10^{-3} mol/L 铬

(VI)的培养基中生长(图2)。由此可见,微生物对铬(VI)的抗性水平与其所处环境条件有着紧密关系。

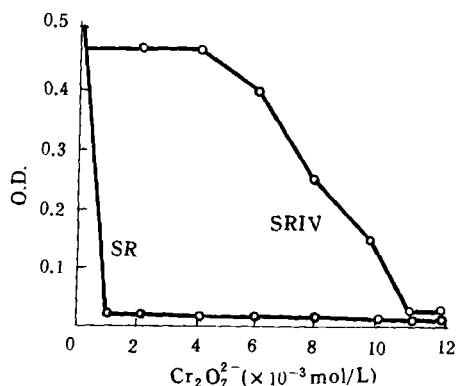


图2 SRIV 与对照菌 SR 耐铬(VI)水平的比较

(2)铬(VI)对菌生长的影响 将 STIV 菌接种在一系列浓度梯度的含铬(VI)的培养基中,观察菌生长情况。从图3可知,当培养基中铬(VI)浓度为 $4 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 时,菌体生长无明显变化;铬(VI)浓度在 5 和 $6 (1 \times 10^{-3} \text{mol/L})$ 时,菌体生长缓慢;铬(VI)浓度升至 $7-10 (1 \times 10^{-3} \text{mol/L})$

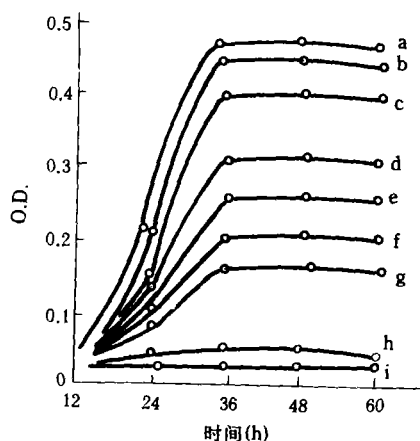


图3 铬(VI)对 SRIV 菌体生长的影响

铬浓度($\times 10^{-3} \text{mol/L}$):

a. 4 b. 5 c. 6 d. 7 e. 8 g. 10 h. 11 i. 12

时,菌体生长速率显著下降。在铬(VI)浓度为 11 和 $20 (1 \times 10^{-3} \text{mol/L})$ 时,菌株不再生长。由此可知,铬(VI)浓度对菌株生长有很大影响,随着培养基中铬(VI)浓度增高,对菌株生长的抑制作用也就越大,最适铬(VI)量 $4 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 。

(3)铬(VI)浓度对其还原的影响 将 SRIV 菌接种于不同铬(VI)浓度的培养基中培养,测其剩余铬(VI)的量。从图4可以看出,当培养基中铬(VI)浓度为 $4 \times 10^{-3} \text{mol/L}$,铬(VI)还原速率最高;铬(VI)浓度在 $6-10 (1 \times 10^{-3} \text{mol/L})$,铬(VI)还原速率减慢;铬(VI)浓度升到 $11-12 (1 \times 10^{-3} \text{mol/L})$ 时,铬(VI)还原受到抑制,没有铬(VI)还原。说明铬(VI)的还原与铬(VI)的浓度有很大关系,铬(VI)浓度越高,菌对铬(VI)的还原速度随之降低,最适还原铬(VI)量 $4 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 。

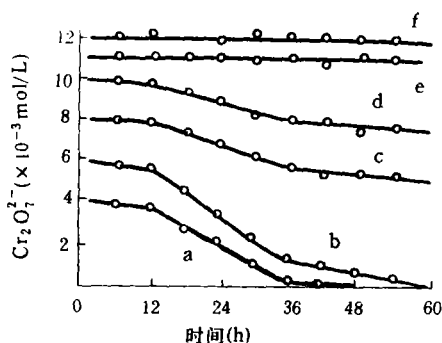


图4 铬浓度对铬(VI)还原的影响

铬浓度($\times 10^{-3} \text{mol/L}$):

a. 4 b. 6 c. 8 d. 10 e. 11 f. 12

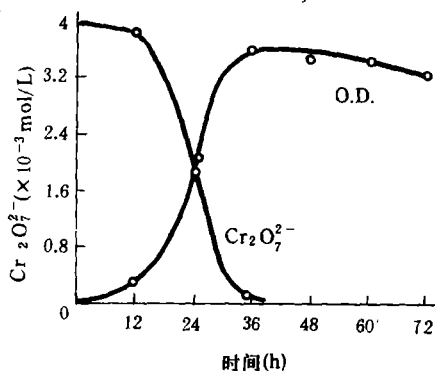


图5 铬还原与菌液浊度关系

(4)不同时间的生长量与铬(VI)还原的关系 将 SRIV 菌接种于铬(VI)浓度为 $4 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的培养基中,测不同时间菌体光密度和剩余铬(VI)量。由图5可见,在培养初期,菌体生长和铬(VI)的还原都较缓慢,而在培养后期,菌体生长和铬(VI)的还原都十分迅速。培养基的颜色也由

黄色变为黑色,菌体生长量越多,铬(VI)还原的量也越多,铬(VI)还原量与菌体的生长量成正相关。

(5)pH 对铬(VI)去除率的影响 STIV 菌通过 pH 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9 的培养基去除 4×10^{-3} mol/L 铬(VI)的试验,由图 6 可看出,当培养基的 pH 为 5 时,由于细菌未能生长,没有铬(VI)被还原。培养基的 pH 为 5.5—6 时,菌还原铬(VI)的能力很弱, pH 为 6—7 时,菌还原铬(VI)的速率增高,当 pH 为 7 时,菌还原铬(VI)速率最大,达到 99.8%, pH 大于 8.5 以后,菌还原铬(VI)速率逐渐降低。去除铬(VI)最适 pH 为 7。去除铬(VI) pH 范围 6—8.5。

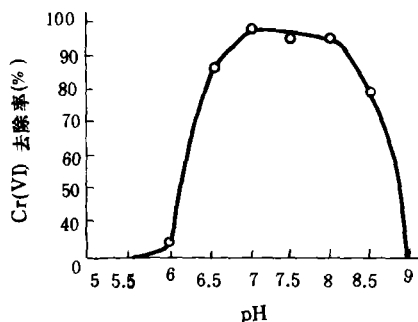


图 6 pH 对铬(VI)去除率的影响

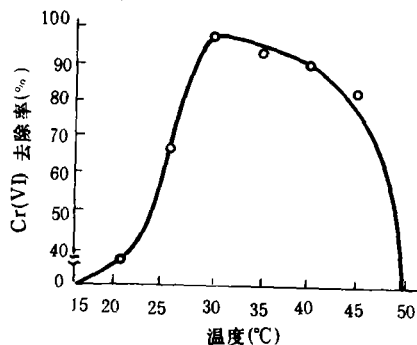


图 7 温度对铬(VI)去除率的影响

(6)温度对铬(VI)去除率的影响 将 SRIV 菌接种于铬(VI)浓度 4×10^{-3} mol/L 的培养基中,对该菌分别进行了 15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C、45°C、50°C 的去铬(VI)的试验。由图 7 可知,温度对 SRIV 菌去除铬(VI)有较大影响,在 20°C 以下,由于菌株生长缓慢,对铬(VI)的去铬率低,20°C 以上,去除率不断升高,30°C 时达最大(99.8%),此时为去除铬(VI)的最适温

度。当温度大于 45°C 时,对铬(VI)的去除率下降。SRIV 菌对铬(VI)去除的最佳温度范围是 20—45°C。

3 结论

据文献报道,含糊假单胞菌,荧光假单胞菌、乳链球菌对铬(VI)有抗性,其抗铬能力最高可达 1000μg/L,但无还原能力;阴沟肠杆菌^[8]、铬酸盐还原菌^[9],对铬(VI)有还原能力,处理 40—150ppm 浓度的铬(VI)废水,作用 40—70h,溶液中残留铬(VI)小于 0.5ppm。上述情况表明,对铬(VI)有较高耐性的细菌,都没有还原能力;对铬(VI)有还原能力的细菌,其还原速率也低。

本研究分离的 SRIV 菌能将铬(VI)还原,是由于 SRIV 菌以溶液中的 SO_4^{2-} 作为末端电子受体,并将其还原为硫化氢,产生的硫化氢是强的还原剂,能将氧化态的铬(VI)还原为铬(III)。另外还由于 SRIV 菌本身存在另一种机制,保护自身而不受铬(VI)的毒害,所以 SRIV 菌能在高浓度铬(VI)溶液中正常生长、繁殖。SRIV 菌能耐高达 10×10^{-3} mol/L 铬(VI),也能还原铬(VI)。它最适生长铬(VI)浓度为 4×10^{-3} mol/L。随着菌体生长量增多,还原铬(VI)的量增大,还原铬(VI)的量与菌体的生长量是呈正相关。在最适温度 30°C 和最佳 pH 为 7 时,对浓度为 4×10^{-3} mol/L 铬(VI)的去铬率达 99.8%。SRIV 菌具有耐铬能力强,去铬效率高的特点,并且生长范围广,性能稳定。这些研究结果可为微生物治理含铬废水提供高效功能菌和适宜的去铬(VI)的条件。

参考文献

- 1 Venitt S. *Nature(London)*. 1974, 205: 493;
- 2 Zeob L A. *Metals and genetic Miscoding Metals in biology* 1980, 1: 22;
- 3 Horitsu H et al. *Agric. Biol. Chem.* 1983, 47: 2907;
- 4 Bopp L H et al. *F. Bacteriol.* 1983, 155: 1105;
- 5 Etstathiou J D et al. *J. Bacteriol.* 1977, 130: 257;
- 6 Hisal Ohtake et al. *Appl. Environ. Microbial.* 1989, 55: 1665;
- 7 孙国玉. *海洋科学* 1985, 9(2): 54;
- 8 Widdle et al. *Arch. Microbial.* 1981, 129: 395;
- 9 国家环保局. *水的废水监测分析方法*. 北京: 中国环境科学出版社, 1989: 220—250

Abstracts

Chinese Journal of Environmental Science

Study on Removing Hexavalent Chromium by Sulfate-Reducing Bacteria (SRIV). Wang Pin et al. (Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu); *Chin. J. Environ. Sci.*, 14(6), 1993, pp. 1—4

A strain of sulfate-reducing bacteria capable of reducing hexavalent chromium was isolated from electroplating sludge by using Hungate anaerobic technique. The strain was a motile curved rod, possessing singly polar flagella. The cell was 0.5—0.8 μm in length, non-sporing, non-capsules, Gram-negative. The oxidation was incomplete, leading to acetate production; and glucose, sucrose, pyruvate, $\text{H}_2 + \text{CO}_2$, alcohol, and formate were fermented in the absence of an external electron acceptor. These characteristics established the isolate as *Desulfovibrio* sp. Reclaiming of hexavalent chromium with the isolate has shown that it was resistant to Cr(VI) concentrations of up to $10 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ at the optimum temperature 30°C and at optimum pH 7.0. And under such conditions, the optimum Cr(VI) concentration for its growth was $4 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$. The removal of Cr(VI) was 99.8%. SRIV strain was an engineered strain in removing Cr(VI) from wastewater.

Key words: sulfate-reducing bacteria, chromium, electroplating wastewater.

Inhibition of Nickel to the Anaerobic Digestion.

Wang Jusi et al. (Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085); *Chin. J. Environ. Sci.*, 14(6), 1993, pp. 5—8

The inhibition of nickel ion to anaerobic digestion was described in this paper. Nickel ion was added at different concentrations in three experimental digesters. No inhibition effect on the anaerobic system was observed when daily addition of nickel to the digester was less than 36.4 mg/L. When the daily addition of nickel was 40—60 mg/L, or more than 80 mg/L, however, digestion system was inhibited significantly or seriously, respectively. Toxicity of nickel to anaerobic system was found to be dependent on the concentration of dissolved nickel ions in digester. The system was not affected when the concentration of dissolved nickel ion is less than 2.5 mg/L. At the ratio of concentration of daily nickel addition to activated sludge (dry weight) being less than 0.08 (w/w), the digestion system would be normally running.

Key words: nickel, anaerobic digestion, inhibition effect.

Crops Lead Pollution by Sludge Land Application.

Yang Zhuoya, Wang Hongkang. (Resource and Environment College, Beijing Agricultural

University, Beijing, 100094); *Chin. J. Environ. Sci.*, 14(6), 1993, pp. 9—11

Pot experiments and field trails were conducted to study the effect of soil lead levels on phytotoxicity, growth and tissue accumulation in soybean and rice grown on sludge treated calcareous soil. The results indicated that lead didn't cause significant growth depression symptoms of the two crops. The lead tolerabilities of two crops were equal. As a whole, the higher lead concentration in soil would bring about higher lead concentration in crops tissue. The lead accumulation rate of the two crops was different, soybean absorbed fewer lead than rice. Soil lead concentration 260 mg/kg would make rice seed lead concentration to reach 1 mg/kg. This value was suggested as critical level in the soil, and 600 mg/kg was calculated as maximum permissible concentration in sludge when it is applied on cropland.

Key words: lead, sludge, soybean, rice, control standard.

Nonlinear Description of Industry-Environment

Systems. Qi Anshen et al. (Department of Physics, Beijing Normal University); *Chin. J. Environ. Sci.*, 14(6), 1993, pp. 12—15

In this note, a nonlinear dynamic modeling describing the time evolutions of industry-environmental systems is established using the theory and method of self-organization. The model characterizes the interactions amongst the output, the investment in environment protection, the improvements in production technique and pollution control, and the environmental capacity. The modeling is simple and easy to use. Additionally, the modeling is employed to study the problems of industry development and environmental pollution in Baiyin region, Gansu Province.

Key words: industry-environment system, the theory of self-organization, nonequilibrium phase transition, coordinative development.

Current Level and Distribution of Environmental Radiation in Beijing. Zhang Wenying et al. (Beijing

Municipal Research Institute of Environmental Protection, Beijing 100037); *Chin. J. Environ. Sci.*, 14(6), 1993, pp. 16—19

This paper reports the environmental radiation level in Beijing. The monitoring sites were set up by net-grid method. In Beijing the grid point-weighted average values for γ radiation dose and cosmic ray outdoors radiation dose are 56.2 and 32.3 nGy/h, respectively. The area-weighted average values of U-238, Th-232, Ra-226, K-40 and Cs-137 in soil are 19.4, 34.1, 21.4, 662 and 8.3 Bq/kg, respectively. The concentration range of U, Th and