

微生物还原 Cr(VI)的研究进展

高小鹏^{1,3*} 张欠欠² 许平³ 冯进辉³

(1. 延安大学生命科学学院 延安 716000)

(2. 延安大学医学院 延安 716000)

(3. 山东大学微生物技术国家重点实验室 济南 250100)

摘要: 随着现代工业的发展,水环境中的重金属对人类健康和环境带来严重的危害,其中的Cr(VI)具有强烈的毒性。微生物在代谢过程中可以将Cr(VI)还原为Cr(III),有效降低Cr(VI)的毒性。本文从可还原Cr(VI)的微生物、微生物还原Cr(VI)的机理、还原过程中存在的问题及发展方向等方面进行了综述。

关键词: 微生物, 还原, Cr(VI)

Advances in Microbial Reduction of Cr(VI)

GAO Xiao-Peng^{1,3*} ZHANG Qian-Qian² XU Ping³ FENG Jin-Hui³

(1. College of Life Science, Yan'an University, Yan'an 716000)

(2. College of Medical, Yan'an University, Yan'an 716000)

(3. The State Key Laboratory for Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100)

Abstract: With the development of modern industry, the environment pollution caused by heavy metal such as highly soluble Cr(VI) possesses the intense toxicity to human health. In the process of microbial metabolism, the Cr(VI) can be reduced to the less soluble Cr(III) and the toxicity would be reduced effectively. There are several aspects summarized in the paper, such as microbial reduction Cr(VI), the mechanism of microbial reduction Cr(VI), problems in the reduction process and development direction.

Keywords: Microbial, Reduction, Cr(VI)

随着电镀、制革、印染等工业技术的迅猛发展,水环境中的铬等重金属对人类健康和生态环境的危害越来越严重,铬化合物广泛存在于铬盐生产行业及相关产业所排放的废渣和废水中,其中的Cr(VI)具有强烈的毒性,其毒性是Cr(III)的100倍,而且能够在人体内积累,在细胞内参与氧化还原过程,从而影响细胞正常的新陈代谢,Cr(VI)的化合物还有致癌、致畸作用,属于一类污染物^[1-4]。因此,Cr(VI)的污染治理也就成为环保工作者的重要课题。Cr(VI)

的处理通常采用还原中和、离子交换、铬酸钡沉淀等方法^[5]。近年来,还有报道利用生物材料吸附法来除去水中Cr(VI)的研究^[3,4,6]。但这些方法都有污染大、难于回收、易造成二次污染、处理费用高等缺点。现在发现一些细菌利用细胞中的NADH作为还原剂,在好氧或厌氧状态下,将剧毒的Cr(VI)还原为低毒的Cr(III)^[7,8]。由于细菌在生长过程中不断进行生长、繁殖,因此在代谢活动中可不断将Cr(VI)还原为Cr(III),而不会出现反应饱和现象。同时,还

* 通讯作者: Tel: 0911-2332030; E-mail: ga Xiaopengyd@163.com

收稿日期: 2007-12-25; 接受日期: 2008-03-11

原的 Cr(VI) 的量可随细菌生物量的增加而增加。另外, 此方法设备简单, 投资少^[9], 在 Cr(VI) 的去除方面值得推广。本文就微生物还原 Cr(VI) 的研究现状进行综述。

1 可还原 Cr(VI) 的微生物

可用来还原 Cr(VI) 的微生物主要为细菌, 已见报道的具有还原 Cr(VI) 能力的菌株非常广泛, 分别来自于无色杆菌、土壤细菌、芽孢杆菌、脱硫弧菌、肠杆菌、微球菌、硫杆菌以及假单胞菌等多个不同种、属, 其中除了大肠杆菌、芽孢杆菌、硫杆菌及假单胞菌等种、属的菌株能在好氧的条件下将 Cr(VI) 还原外, 绝大多数菌株都只能在厌氧的条件下还原 Cr(VI)。以酵母菌、霉菌等真菌处理含 Cr(VI) 废水的研究也有报道^[10]。

1.1 细菌类

国外最早有关微生物处理含 Cr(VI) 废水的报道要追溯到上个世纪 70 年代, 前苏联的 Romanenko^[11] 在文中写到脱色杆菌 (*Bac. dechromaticans*) 在厌氧环境下可用于处理含铬废水。Yi-Tin Wang^[12-14] 等报道, 从 ATCC (American Culture Collection) 购买的 *Escherichia coli* ATCC 33546 菌种在 pH 为 7、温度为 36 °C 的厌氧条件下具有优良的长势和快速的还原能力。此时铬还原能力为 50%, 但铬的还原能力易受 Zn²⁺、Cu²⁺ 的影响。研究同时指出 Cr(VI) 的还原反应是在一种可溶性酶的作用下完成。Hisao Ohtake^[15-17] 等从市政污水处理厂的污泥中分离到的阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*), 在厌氧条件下其还原能力为: 干重为 1g 的细胞可还原 25 mmol~50 mmol 的 Cr(VI)。Tang YJ 等^[18] 研究发现 *Shewanella oneidensis* MR-1 可在 20 min 内将 100 mmol/L 的 Cr(VI) 还原为 Cr(III), 而且铬酸盐的增加对菌体的生长没有影响。CR Myers 等^[19] 研究发现腐败希瓦氏菌 (*Shewanella putrefaciens*) MR-1、Urvashi Thacker 等^[20] 认为苍白杆菌 (*Ochrobactrum* sp.) 都可将 Cr(VI) 还原为 Cr(III)。Arundhati Pal 等^[21] 发现球形芽孢杆菌 (*Bacillus sphaericus*) AND 303 对 Cr(VI) 有较强的还原能力, 但其还原酶受到重金属离子等因素的影响。Muhammad Faisal 等^[22] 研究发现在接种量为 9.6×10^7 个细胞/mL 的情况下, 经过 96 h, 蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) S-6 均可使初始

浓度为 300 μg/mL 和 600 μg/mL 的 K₂CrO₄ 完全消失, 而 *Ochrobactrum intermedium* CrT-1 可使初始浓度为 300 μg/mL 和 600 μg/mL 的 K₂CrO₄ 分别下降 98% 和 70%。周海涛等^[23] 分离到的假单胞菌 (*Pseudomonas*) 在厌氧条件下, 以生活污水为基质将 Cr(VI) 还原为 Cr(III); 张建民^[24] 等采用生物技术从电镀淤泥中分离出一种高效还原杆菌——脱硫弧菌 (*Desulfovibrio* sp.), 并探讨了菌量、Cr(VI) 浓度、pH、温度、时间等因素对还原杆菌去除溶液中的 Cr(VI) 效率的影响。韩怀芬^[25] 从土壤中筛选出产碱杆菌、土壤杆菌、芽孢杆菌、葡糖杆菌和假单胞菌 5 种可还原 Cr(VI) 的细菌。并得出 5 种均混菌处理效果最好, 最高可达到 100%, 混菌处理污染土壤的适宜 pH 范围为 6.0~8.0。Nur Kocberber Kihc^[26] 从废水中分离出可还原 Cr(VI) 的细菌, 通过 16S rRNA 序列分析, 为 *Ochrobactrium* sp., *Salmonella enteric* 和 *Pseudo-monas aeruginosa*。

1.2 真菌类

有关真菌类微生物解毒 Cr(VI) 的报道较少, 但在这方面的研究也有不少成果。中科院微生物研究所王保军^[27] 从不同来源的样品中分离出几株抗 Cr(VI) 真菌, 经鉴定为青霉菌 (*Penicillium* sp.) BS21 和 BS23、黑曲霉 (*Aspergillums niger*) BR24 和黄曲霉 (*Aspergillums flavus*) BX21, 它们能在 K₂Cr₂O₇ 浓度为 300 mg/L~500 mg/L 的葡萄糖培养基中生长, 其中 BS21 抗铬达 900 mg/L, BS21 等 4 株菌在含 K₂Cr₂O₇ 200 mg/L 的培养基中生长 4 d~6 d 后, 培养液中的 Cr(VI) 完全消失。沈阳环境科研所的常文越等^[28] 从受铬污染的土壤中分离筛选出的土著真菌有较强的还原 Cr(VI) 能力, 仅用 2 d~3 d 就能将铬渣浸出液中的 Cr(VI) 从 1151.2 mg/L 降低到 10.9 mg/L。由此可见真菌类微生物对于 Cr(VI) 的还原同样有着较强的功能。

2 微生物还原 Cr(VI) 的机理

由于 Cr(VI) 很容易通过细胞膜进入细胞, 然后在细胞质、线粒体或细胞核中被还原为 Cr(III)。这些 Cr(III) 在细胞内与蛋白质结合为稳定的物质并与核酸相作用, 而细胞外的 Cr(III) 是不能渗透进入细胞的。这可能是 Cr(VI) 毒性大于 Cr(III) 的原因, 同时也使得耐铬细菌有机会将 Cr(VI) 还原^[10]。关于微

生物对 Cr(VI)的还原机理研究一直都颇具争议,但都是围绕微生物的直接作用和间接作用展开的。

直接作用是指通过驯化、筛选、诱变、基因重组等技术得到可以直接还原 Cr(VI)的微生物,通过生物还原反应,将 Cr(VI)还原为 Cr(III)^[29]。其中,一种形式是将 Cr(VI)作为直接的电子受体,通过利用有机质或添加的培养基质进行代谢活动,以 NADH 作为电子供体,厌氧条件下,将电子转移给 Cr(VI)使其还原为 Cr(III)^[19];另一种是利用具有某些特定酶的微生物,直接通过酶促还原反应将 Cr(VI)转化为 Cr(III)。有些微生物可以以自身产生的一些酶或者细胞色素作为电子传递的中间体,完成从 Cr(VI)还原为 Cr(III)的电子传递^[7]。L Philip 等^[30]通过对 Cr(VI)还原菌 *Bacillus coagulans* 研究后认为 Cr(VI)还原反应是酶反应。硫酸盐还原菌可在硫酸腺苷转移酶、腺苷酰硫酸还原酶(APS 还原酶)等一系列酶的作用下将硫酸根还原为负二价的硫,因而可以利用硫酸盐还原菌来还原去除 Cr(VI)。冯易君^[31]等分析了在含有 Cr(VI)溶液中培养了 24 h 的硫酸盐还原菌菌体后认为,在细菌的催化作用下 Cr(VI)发生了氧化还原反应,显然这种利用代谢产物在胞外还原 Cr(VI)的方式可以减少 Cr(VI)对微生物体的毒害,从而能达到较好的去除效果。如 *Bacillus sphaericus* AND 303 产生的铬酸盐还原酶,其酶活受到温度、PH、Ni(II)、Cu(II)和 Cd(II)等重金属离子的影响,而 100 μmol/L Co(II)可使该酶的活性保留 93%^[21]。这种还原方式在 Cr(VI)的微生物还原过程中占有主要地位^[32]。

而间接作用是指环境中的某些物质通过微生物代谢生成还原性产物,这些还原性的代谢产物能够与 Cr(VI)发生化学氧化还原^[32-34],形成了一种生物还原和非生物还原相结合的过程。Viera 等^[35]发现 Cr(VI)在以硫磺作能源的有氧条件下可被产酸硫杆菌 (*Acidithiobacillus thiooxidans*)间接转化为 Cr(III),而 Cr(III)被 *Desulfovibrio* sp. 在厌氧状态下存储,中间产物亚硫酸盐和硫代硫酸盐对 Cr(VI) 的还原有促进作用,在连续流动下有氧和厌氧两个过程不断进行,使 Cr(VI) 溶液浓度净化最终达到 5 mg/L。Camargo 等^[36]从土壤中分离的抗铬细菌 ES29,在有氧下以 NADH 作电子供体,可生成可溶性的 Cr(VI)还原酶,促进 Cr(VI)的还原。

3 存在问题

微生物还原 Cr(VI)在实际操作过程中,存在以下问题:

(1) Cr(VI)还原结束后,大量废菌体会对环境造成二次污染。

(2) 微生物的繁殖速度不能满足污染物处理的速度。

(3) 微生物自身优良的还原 Cr(VI)的能力不稳定,容易受到周围环境的影响,从而降低 Cr(VI)的还原效率。

(4) 目前分离到的微生物还原 Cr(VI)的能力还有待提高,从而满足高效处理 Cr(VI)污染物的需求。

4 发展方向

含 Cr(VI)废水废渣的综合治理是全球环保的重大课题。微生物还原 Cr(VI)是一门彻底解决含铬有毒物的环保新技术,对微生物还原 Cr(VI)机理的研究同样具有极高的学术价值,其结论不仅可为含铬废水、废渣生物处理提供理论依据,还可为毒性大的同类冶炼渣(砷渣、汞渣等)提供相关的研究思路与方法。但目前生物法大多只处于实验室或中试规模的研究阶段,而且大多数仅是对还原 Cr(VI)的影响因素进行探讨。在工业应用的研究上,国内外的报道少之又少,生物法的工业应用有赖于进一步工程化的开发研究,从研究热点及发展趋势来看,可以从以下几个方面开展工作:(1) 通过基因工程和分子生物学手段在现有较优性能的菌种中开发出更高效的微生物,提高还原速率,并使之耐碱、耐盐、耐高 Cr(VI),为此需加强微生物解毒机理等有关的基础研究。只有深入了解微生物的结构、化学组成、代谢过程及遗传表达等内容时,才能从分子水平有效地控制及利用它们。(2) 尝试对废菌体的二次利用,如提取细胞内有用代谢物等方法,从而达到废物利用,减少废菌体对环境的二次污染。(3) 优化培养基,降低成本,提高其生长、繁殖速度。(4) 采用现代检测技术研究 Cr(VI)与微生物细胞结合的能量变化及特性,进一步揭示微生物与 Cr(VI)结合的机理。

总之,微生物还原 Cr(VI)技术在克服上述存在的问题和进一步深入研究后,可望在不久的将来彻底解决铬盐等行业带来的环境污染问题,为其持续发展带来新的生机。

参 考 文 献

- [1] 李 强, 张玉臻, 陈 明. 生物吸附剂 ZL5-2 对六价铬离子吸附作用的红外光谱分析. 光谱学与光谱分析, 2005, **25**(5): 708-711.
- [2] 瞿建国, 申如香, 徐百兴, 等. 微生物法处理含铬(VI)废水的研究. 化工环保, 2005, **25**(1): 1-4.
- [3] 胡 勇, 全学军, 潭怀琴, 等. 细菌 X07 吸附 Cr(VI) 的研究. 环境保护科学, 2005, **31**(11): 9-12.
- [4] 陈 林, 邱廷省, 陈 明. 生物吸附去除水中六价铬的实验研究. 皮革科学与工程, 2003, **13**(4): 48-51.
- [5] 郑礼胜, 王士龙, 张 虹. 用沸石处理含铬废水的试验研究. 环境工程, 1997, **15**(3): 13-15.
- [6] 王 竞, 陶 颖, 周集体, 等. 细菌胞外高聚物对水中六价铬的生物吸附特性. 水处理技术, 2001, **27**(3): 145-147.
- [7] 池振明. 现代微生物生态学. 北京: 科学出版社, 2005, pp. 279-281.
- [8] Geoffrey JP, Arthur GP, David MK, *et al.* Formation of soluble organo-chromium(III) complexes after chromate reduction in the presence of cellular organics. *Environ Sci Technol*, 2005, **39**(12): 2811-2817.
- [9] 耿振香, 孙 颖. 微生物法处理含铬废水. 化学工程师, 2003, **95**(2): 6-9.
- [10] 马锦民, 瞿建国, 夏 君, 等. 失活微生物和活体微生物处理含铬(VI)废水研究进展. 环境科学与技术, **29**(4): 103-105.
- [11] Romanenko V. Patent Specification (II) 1475369. London: The patent office, 1997.
- [12] Shen H, Wang YT. Modeling hexavalent chromium reduction in *Escherichia coli* 33456. *Biotechnology and Bioengineering*, 1994, **43**(4): 293-300.
- [13] Shen H, Yi T. Biological reduction of chromium by *E. coli*. *Environmental Engineering*, 1994, **120**(3): 560-571.
- [14] Shen H, Wang YT. Hexavalent chromium removal in two stage bioreactor system. *Environmental Engineering*, 1995, **121**(11): 798-804.
- [15] Hisao O, Eiji F, Kiyoshi T. Bacterial reduction of hexavalent chromium: kinetic aspects of chromate reduction by *Enterobacter cloacae* HO1. *Biotechnology and Bioengineering*, 1990, **29**(4): 227-235.
- [16] Fiji F, Kiyoshi T, Hisao O. Bacterial reduction of Toxic hexavalent chromium using a fed batch culture of *Enterobacter cloacae* strain HO1. *Fermentation and Bioengineering*, 1990, **60** (5): 365-367.
- [17] KKomori. Biological removal of toxic chromium using an *Enterobacter cloacae* strain that reduces chromate under anaerobic conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, 1990, **60**(5): 951-954.
- [18] Tang YJ, Laidlaw D, Gani K, *et al.* Evaluation of the effects of various culture conditions on Cr(VI) reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 in a novel high-throughput mini-bioreactor. *Biotechnol Bioeng*, 2006, **95**(1): 176-184.
- [19] Myers CR, Carstens BP, Antholine WE, *et al.* Myers Chromium(VI) reductase activity is associated with the cytoplasmic membrane of anaerobically grown *Shewanella putrefaciens* MR-1. *Journal of Applied Microbiology*, 2000, **88**(1): 98-106.
- [20] Urvashi T, Datta M. Reduction of toxic chromium and partial localization of chromium reductase activity in bacterial isolate DM1. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2005, **21**(6-7): 891-899.
- [21] Pal A, Dutta S, Paul AK. Reduction of Hexavalent Chromium by Cell-Free Extract of *Bacillus sphaericus* AND 303 Isolated from Serpentine Soil. *Curent Microbiology*, 2005, **51**(5): 327-330.
- [22] Faisal M, Hameed A, Hasnain S. Chromium-resistant bacteria and cyanobacteria: impact on Cr(VI) reduction potential and plant growth. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2005, **32**(11-12): 615-621.
- [23] 周海涛, 白毓谦. 一株六价铬还原菌的分离及其用于含铬废水处理的初步研究. 青岛海洋大学学报, 1991, **21**(3): 104-109.
- [24] 张建民, 宋庆文, 朱宝瑜, 等. 生物法处理电镀铬废水的研究. 西北纺织工学院学报, 1999, **13**(4): 421-424.
- [25] 韩怀芬, 蒲凤莲, 裘娟萍. 生物法修复铬污染土壤的研究. 能源保护利用, 2003, **17**(2): 7-9.
- [26] Kilic NK, Nielsen JL, Yuce M, *et al.* Characterization of a simple bacterial consortium for effective treatment of wastewaters with reactive dyes and Cr(VI). *Chemosphere*, 2007, **67**(4): 826-831.
- [27] 王保军, 杨惠芳, 李文忠. 真菌还原 Cr(VI) 的研究. 微生物学报, 1998, **38**(2): 108-113.
- [28] 常文越, 陈晓东, 冯晓斌, 等. 含铬(VI)废物堆放场所土壤/地下水的污染特点及土著微生物的初步生物解毒实验研究. 环境保护科学, 2002, **28**(6): 32-37.
- [29] Pattanapitpaisal P, Brown N, Macaskie L. Chromate reduction and 16S rRNA identification of bacteria isolated from a Cr(VI)-contaminated site. *App Microbiol Biotechnol*, 2001, **57**(1-2): 257-261.
- [30] Philip L, Iyengar L, Venkobachar C. Cr(VI) reduction by *Bacillus coagulans* isolated from contaminated soil. *J En-*

- vir Engrg*, 1998, **124**(12): 1165–1170.
- [31] 冯易君, 谢家理, 向 芹, 等. 共存离子对硫酸盐还原菌(SRB)处理含铬废水的影响研究. *环境污染与防治*, 1995, **17**(4): 15–17.
- [32] Lan Y, Deng B, Kim C, *et al.* Catalysis of elemental sulfur nanoparticles on chromium (VI) reduction by sulfide under anaerobic conditions. *Environmental Science & Technology*, 2005, **39**(7): 2087–2094.
- [33] Puzon GJ, Roberts AG, Kramer DM, *et al.* Formation of soluble organo chromium(III) complexes after chromate reduction in the presence of cellular organics. *Environmental Science & Technology*, 2005, **39**(8): 2811–2817.
- [34] Arias YM, Tebo BM. Cr(VI) Reduction by sulfidogenic and nonsulfidogenic microbial consortia. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**(3): 1847–1853.
- [35] Vieram, Curutchet G, Donatie. A combined bacterial process for the reduction and immobilization of chromium. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2003, **52**(1): 31–34.
- [36] Camargo F, Okeke C, Bento. In FM vitro reduction of hexavalent chromium by a cell- free extract of *Bacillus* sp. ES 29 stimulated by Cu. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2003, **62**(4): 569–573.

编辑部公告

《微生物学通报》编辑部公告

《微生物学通报》编辑部已随同中科院微生物研究所从北京海淀中关村搬迁至朝阳区大屯路中科院奥运村园区。

为加快稿件的审理过程,加强与审稿专家、作者及读者的互动和交流,本刊已从2007年7月5日起正式启用新版远程投稿及编辑系统。该系统能实现远程投稿、远程查稿、在线审稿、在线编辑等功能。欢迎广大作者、读者和审稿专家使用!今后,本刊所有来稿都将通过该系统进行管理,关于稿件的一切信息也都将通过网络告知作者。

如果您在使用过程中发现任何问题,请随时与我刊编辑部联系。

另,为减少稿件积压,进一步缩短出版周期,本刊从2008年起将刊期从双月刊变更为月刊,欢迎广大作者踊跃投稿!

临时通讯地址:北京朝阳区大屯路中科院微生物所《微生物学通报》编辑部(100101)

新的固定邮编地址确定后我们将及时公告

编辑部电话:010-64807511; E-mail: tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>