

纤维微菌 C6 对水中 Cr(VI) 去除条件优化及机理研究

高婧琪, 张 杰, 蹇庭昆, 夏 越, 杜闻峥, 严 馨, 冯 甦
(四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610064)

摘 要: 为解决水体中重金属 Cr(VI) 污染问题, 从成都市某皮革厂附近受重金属污染的土壤中筛选得到一株对 Cr(VI) 有较高抗性和去除率的菌株, 鉴定后将其命名为纤维微菌 C6 (*Cellulosimicrobium* sp.). 利用单因素实验对影响纤维微菌 C6 去除 Cr(VI) 的四个因素: pH, 温度, 接触时间, 初始 Cr(VI) 浓度进行了探究. 在单因素实验的基础上, 通过四因素三水平 Box-Behnken 响应面法优化纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 的去除条件, 结果显示, 当 pH 为 7.85, 温度为 34.07 °C, 接触时间为 2.88 d, 初始 Cr(VI) 浓度为 40.08 mg/L 时, 纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 的最大去除效率可以达到 95.75%, 扫描电镜显示, 未处理的纤维微菌 C6 菌体表面清晰光滑且分散, Cr(VI) 处理过的菌体表面不规则, 有颗粒状沉淀. 红外光谱分析证明了菌体表面的官能团可能与吸附 Cr(VI) 有关. 研究表明, 纤维微菌 C6 菌体对 Cr(VI) 具有良好的去除效果, 可用于处理含 Cr(VI) 废水.

关键词: 响应面法; Cr(VI); 纤维微菌; 生物吸附

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2021.046003

The conditions optimization for removing Cr(VI) from water by *Cellulosimicrobium* sp. strain C6 and study on its removal mechanism

GAO Jing-Qi, ZHANG Jie, JIAN Ting-Kun, XIA Yue,
DU Wen-Zheng, YAN Xin, FENG Su

(Key Laboratory of Biological Resources and Ecological Environment of Ministry of Education,
College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: In order to solve the problem of heavy metal Cr(VI) pollution in water, a strain with high resistance and removal rate to Cr(VI) was screened from the soil contaminated by heavy metals near a leather factory in Chengdu. After identification, it was named *Cellulosimicrobium* sp. strain C6 (*Cellulosimicrobium* sp.). Based on single-factor experiments, four factors (pH, temperature, contact time and initial Cr(VI) concentration) affecting the removal of Cr(VI) were optimized by Box-Behnken response surface method. The results showed that when the pH was 7.85, the temperature was 34.07 °C, the contact time was 2.88 days, and the initial Cr(VI) concentration was 40.08 mg/L, the maximum removal efficiency of *Cellulosimicrobium* sp. strain C6 on Cr(VI) can reach 95.75%. Scanning electron microscope results showed that the surface of the untreated *Cellulosimicrobium* sp. strain C6 was clear, smooth and dispersed. The surface of Cr(VI) treated strain was irregular with granular precipitation.

收稿日期: 2020-11-25
基金项目: 国家自然科学基金(21571163)
作者简介: 高婧琪(1996—), 女, 新疆乌鲁木齐人, 硕士研究生, 研究方向为资源微生物. E-mail: gaojingqi_0513@qq.com
通讯作者: 冯甦. E-mail: fengsu_fs@163.com

Fourier transform infrared spectroscopy analysis showed that the functional groups on the surface of *Cellulosimicrobium* sp. strain C6 might be related to the adsorption of Cr(VI). *Cellulosimicrobium* sp. strain C6 can be used to treat Cr(VI)-containing wastewater.

Keywords: Response surface methodology; Cr(VI); *Cellulosimicrobium* sp.; Biosorption

1 引言

近几十年来,人类开展了各种工业生产活动,如钢铁生产、冶炼、电镀、印刷、印染、造纸、纺织、化肥和农药制造等^[1-2],这些工业活动造成了环境中的重金属污染.在中国,潜在毒性元素污染了 2000 万公顷的耕地,约占耕地总面积的 20%,其中铬(Cr)污染地区占毒性元素污染总面积的 5.1%,中国的 Cr 污染土壤超过总面积的 1.1%^[3].环境中 Cr 主要以两种不同的氧化态存在,六价 Cr(VI)和三价 Cr(III)^[4-5],其中 Cr(VI)的毒性更大,Cr(VI)是八种对人体最有害的化学物质之一,也是国际上公认最具致癌性的金属之一^[6-7].长时间的暴露在 Cr(VI)环境中会对人体产生危害,损害皮肤,眼睛,血液,呼吸道和免疫系统^[8-9].Cr(VI)可以显著减少神经元细胞的数量,表现出神经毒性^[10].在细胞水平上,Cr(VI)的遗传毒性作用会导致氧化应激、DNA 损伤和肿瘤发展的损害^[11-12].

从水体中去除 Cr(VI)的传统方法包括物理化学方法,例如化学沉淀、膜技术、离子交换、电化学处理等^[13].这些方法对于高含量 Cr(VI)的去除有一定的效果,但是这些方法效率较低,价格昂贵且有容易造成二次污染的风险^[14].为了克服这些问题,生物吸附可以作为一种有效的替代方法,其中微生物吸附技术主要利用微生物的新陈代谢对重金属进行去除,其经济性与去除效率较高,且生态友好、具有可持续性,因此被认为是一项很有前景的重金属修复技术^[15-16].

本实验以成都市双流区某皮革厂附近受污染的土壤作为分离对象,分离得到的一株高效除 Cr(VI)细菌——纤维微菌 C6.用响应面法(response surface methodology,RSM)优化该菌株去除污染废水中 Cr(VI)的条件.首先通过单因素实验得到各影响因子的最佳实验值,探究 pH、温度、反应时间和 Cr(VI)初始浓度四个因素及其交互作用对吸附作用的影响,建立 Box-Behnken 中心组合设计响应面优化模型对高效除 Cr(VI)细菌的去除条件进行优化,确定最佳吸附条件.同时通过扫描电子显微镜(SEM)和傅里叶红外吸收光谱(FTIR)对

吸附 Cr(VI)前后菌体表面结构和官能团的变化进行探究,对菌体去除 Cr(VI)的机理进行初步探讨.本研究有助于为 Cr(VI)污染的修复提供新的微生物吸附材料.

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

2.1.1 菌种 成都市双流区某皮革厂附近污染土壤分离得到的高效除 Cr(VI)细菌,该菌株具有在水体中吸附 Cr(VI)的能力.

2.1.2 试剂 胰蛋白胨,氯化钠,酵母提取物,甘油,重铬酸钾,硫酸,磷酸,丙酮,二苯碳酰二肼,细菌 DNA 提取试剂盒,细菌 16S rRNA 基因通用引物 F27/R1492(华大基因生物公司),戊二醛,乙醇.

2.1.3 主要溶液及试剂配制 LB 培养基:称取胰蛋白胨 10 g,氯化钠 10 g,酵母提取物 5 g,加入超纯水至 1 000 mL,加热搅拌使之充分溶解,将培养基 pH 值调至 7.3 ± 0.2 之间.蓝口瓶分装,于 121 °C 下,高压蒸汽灭菌 20 min.LB 固体培养基加入 15~20 g 琼脂,灭菌冷却后倒平板.

Cr(VI)标准溶液:称取 2.829 g 在 120 °C 干燥 2 h 至恒重的重铬酸钾($K_2Cr_2O_7$),用水溶解后移入 1 000 mL 容量瓶,用去离子水稀释至标线并摇匀,配置成每毫升含 1 mg 的 Cr(VI)标准溶液.

二苯碳酰二肼溶液:称取 0.2 g 二苯碳酰二肼溶于 50 mL 丙酮中,加水稀释至 100 mL 摇匀,储存于棕色瓶中,置于 4 °C 冰箱保存备用.

2.1.4 仪器 恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司),UV-2450 分光光度计(岛津),PHS-25 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司),SKY-111B 摇床(上海苏坤有限公司),AFZ-1002-U 艾科浦超纯水系统(艾科浦公司),立式高压灭菌锅(上海申安公司).

2.2 方法

2.2.1 菌株分离 称取污染土壤样品 10 g,放入装有 90 mL 无菌水的 150 mL 锥形瓶中,取震荡后的样品溶液用无菌水依次稀释,取稀释的样品溶液涂布于含有初始 Cr(VI)浓度为 50 mg/L 的 LB 固体培养基上,倒置培养.挑取形态不同的单菌落平

板划线,并逐步升高 LB 固体培养基中 Cr(VI)浓度,反复划线纯化,直至得到多株单一菌落.将纯化之后的单一菌落写好编号,于 4℃条件下保存备用.

2.2.2 Cr(VI)标准曲线制作 依次移取 Cr(VI)标准液 0.0、0.25、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00 mL 于 25 mL 比色管中,用蒸馏水稀释至 12.5 mL 标线.向以上溶液分别加入硫酸(1+1)溶液 0.5 mL 和磷酸(1+1)溶液 0.5 mL,加入显色剂二苯碳酰二肼溶液 2 mL,用蒸馏水稀释至 25 mL 标线,摇匀,放置 10 min 左右.在 540 nm 波长处以空白试剂作为参比测定吸光度.以吸光度为纵坐标,相应 Cr(VI)含量为横坐标,绘制 Cr(VI)标准曲线.

2.2.3 高效除 Cr(VI)菌株筛选 将筛选出的多株高效耐 Cr(VI)菌株分别无菌接种至 LB 液体培养基中,振荡培养 16 h 作为种子液.向 100 mL 锥形瓶中加入含 Cr(VI)浓度为 50 mg/L 的 LB 液体培养基 27 mL,将菌液调节至 OD₆₀₀ 为 1.5,按 10% 的接种量加入到容量为 100 mL 锥形瓶中使总体积为 30 mL.培养 24 h,取培养液离心,再分别取上清液,用二苯碳酰二肼分光光度法测 OD₅₄₀,测定 Cr(VI)含量,并计算 Cr(VI)的去除率,去除率计算见公式:

$$\text{Cr(VI)去除率}(\%) = (C_0 - C_e) / C_0 \times 100\%$$

其中 C_0 为初始 Cr(VI)浓度, C_e 为吸附后上清液中 Cr(VI)含量.

比较各培养基中细菌对 Cr(VI)的去除率,筛选出高效除 Cr(VI)菌株.对菌株提取 DNA,进行 PCR 扩增并对扩增产物测序鉴定,测序结果在 NCBI 网站上的 GeneBank 数据库内的进行相似性分析,初步判定菌株的种属,并在 MAGE 软件中构建系统发育树.

2.2.4 单因素实验 研究了四个因素对菌体去除 Cr(VI)效率的影响,包括溶液 pH(4~11)、温度(15~40℃)、接触时间(0.5~5 d)、Cr(VI)初始浓度(20~120 mg/L).取上述在 150 r/min 摇床上培养一段时间 Cr(VI)和菌体混合液,在 4℃,8 000 r/min 条件下离心 5 min,分别取上清液 0.5 mL,用二苯碳酰二肼分光光度法测 OD₅₄₀,并计算 Cr(VI)的含量和去除率,所有实验设置三组平行实验.

2.2.5 响应面设计 采用 Design-Expert 软件进行响应面优化 Box-Behnken 实验设计,分析了溶液 pH、温度、反应时间、Cr(VI)初始浓度这四个因素相互作用对菌体去除 Cr(VI)效率的影响.响应面变量因素和水平设计分别为溶液 pH(6、7、8),

温度(25、30、35℃),反应时间(1、2、3 d),Cr(VI)初始浓度(40、60、80 mg/L).

2.2.6 扫描电子显微镜(SEM)分析 使用扫描电子显微镜探究纤维微菌 C6 去除 Cr(VI)前后菌体变化,将吸附前后的菌体用 PBS 缓冲液冲洗 3 次,每次 20 min,加入 3% 戊二醛放入 4℃冰箱固定 24 h,8 000 r/min 离心 5 min,用 PBS 缓冲液冲洗 3 次,然后进行乙醇梯度脱水,分别脱水 20 min;将处理好的样品冷冻干燥 1 h,喷金上机观察.

2.2.7 傅里叶变换红外光谱(FTIR)分析 将吸附前后的菌体在 8 000 r/min 下分别离心 5 min,将菌体沉淀在-40℃冰箱预冻 4 h,再将其转移至冷冻干燥器中冻干至固体粉末.在样品中加入 KBr,充分混匀研细后压片,放置于傅里叶红外吸收光谱仪上,进行红外光谱的检测.

3 结果与分析

3.1 菌株筛选及其鉴定

如图 1 所示 Cr(VI)标准曲线线性关系为 $y = 0.6282x - 0.0012$ 且 $R^2 = 0.9994$,具有较高的相关性,可用于后续实验 Cr(VI)含量的检测.将初步筛选得到 6 株耐 Cr(VI)菌进行研究,发现编号为 C6 的菌株对 Cr(VI)去除效率最高,达到 58.13%.对该菌株进行测序,如图 2 所示,经过 NCBI 数据库比对和系统发育树的结果显示,C6 属于纤维微菌属,故将其命名为纤维微菌 C6,纤维微菌属是一种放线菌,其特点是具有分解木质纤维素的能力^[17],选取该菌株作为本研究所需菌株开展后续实验.

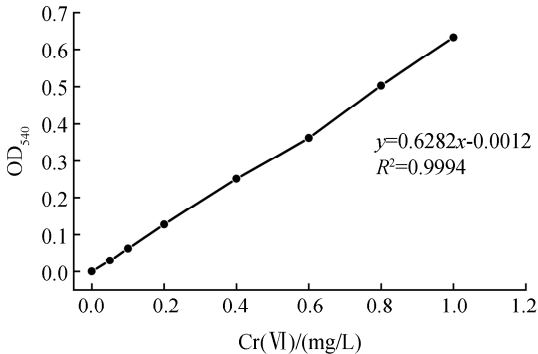


图 1 Cr(VI)含量测定标准曲线
Fig. 1 Standard curve for Cr(VI)

3.2 单因素试验结果与分析

3.2.1 接触时间对纤维微菌 C6 去除 Cr(VI)的影响 为了研究不同接触时间下纤维微菌 C6 对 Cr(VI)去除的影响,设置接触时间分别为 0.5、1、1.5、2、3、4、5 d,其他反应条件选取如下: pH=7,

温度 35 ℃,Cr(VI)初始浓度为 20 mg/L. 如图 3 所示,随着接触时间的增加,纤维微菌 C6 对 Cr(VI)去除的过程主要分为两个阶段:第一阶段在 0~2 d 内,去除效率增加趋势明显,2~5 d 去除效率达到平衡状态,在第 2 d 达到最大去除效率 92.27%,因此采用接触时间 2 d 用于后续实验.

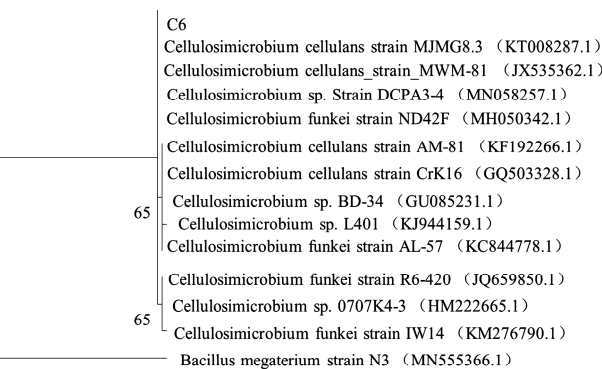


图 2 C6 菌株系统发育树
Fig.2 Phylogenetic tree of C6 strain

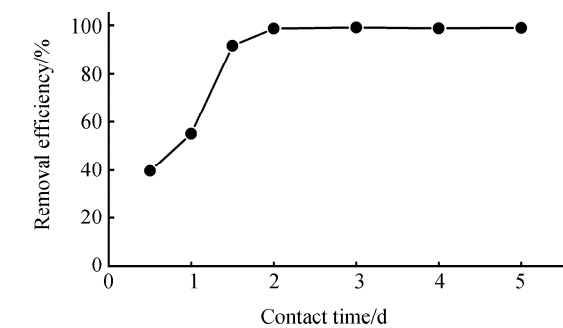


图 3 接触时间对 Cr(VI) 去除效率的影响
Fig.3 Effect of contact time on Cr(VI) removal efficiency

3.2.2 pH 对纤维微菌 C6 去除 Cr(VI)的影响 为了研究不同 pH 下纤维微菌 C6 对 Cr(VI)去除的影响,设置 pH 分别为 4、5、6、7、8、9、10、11,其他反应条件选取如下:温度 35 ℃,Cr(VI)初始浓度为 20 mg/L,接触时间 2 d. 如图 4 所示,在 pH 4~7,随着 pH 增大,纤维微菌 C6 对 Cr(VI)的去除效率增加;在 pH 7~11 随着 pH 增大 Cr(VI)的去除效率逐渐减小,在 pH 为 7 时达到最适去除条件,去除效率为 92.23%,因此采用 pH 为 7 用于后续实验.

3.2.3 温度对纤维微菌 C6 去除 Cr(VI)的影响 为了研究不同温度下纤维微菌 C6 对 Cr(VI)去除的影响,设置温度分别为 15、20、25、30、35、40 ℃,其他反应条件选取如下:pH 7,Cr(VI)初始浓度为 20 mg/L,接触时间 2 d. 如图 5 所示,在 15~30 ℃,随着温度的增加,Cr(VI)的去除效率增加,在 30 ℃

达到最适去除温度,最高去除效率达到 93.89%,在 30~40 ℃去除效率基本处于平衡状态,采用温度 30 ℃用于后续实验.

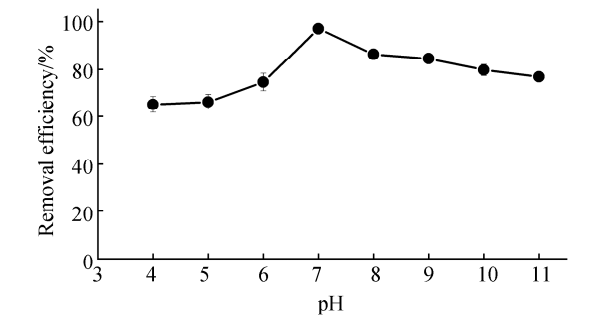


图 4 pH 对 Cr(VI)去除效率的影响
Fig.4 Effect of pH Cr(VI) removal efficiency

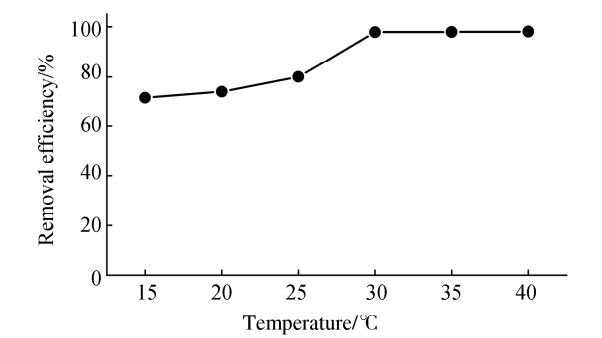


图 5 温度对 Cr(VI)去除效率的影响
Fig.5 Effect of temperature Cr(VI) removal efficiency

3.2.4 Cr(VI)初始浓度对纤维微菌 C6 去除 Cr(VI)的影响 为了研究不同 Cr(VI)初始浓度下纤维微菌 C6 对 Cr(VI)去除的影响,设置 Cr(VI)初始浓度分别为 20、40、60、80、100、120 mg/L. 其他反应条件选取如下:pH 7,接触时间 2 d,温度 30 ℃. 如图 6 所示,在初始浓度为 20~60 mg/L 时,随着 Cr(VI)初始浓度的增加,Cr(VI)的去除效率增加,在 60 mg/L 达到最适去除初始浓度,去除效率为 94.77%;在 60~120 mg/L 范围内,随着 Cr(VI)初始浓度的增加,Cr(VI)的去除效率先下降后逐渐达到平衡状态.

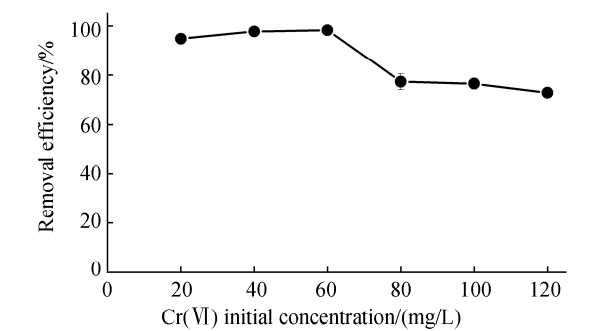


图 6 Cr(VI)初始浓度对 Cr(VI)去除效率的影响
Fig.6 Effect of Cr(VI) initial concentration removal efficiency

3.3 响应面试验结果与分析

本研究在单因素实验的基础上,选取 4 个显著的影响因素作为对象,利用 Design-Expert 软件对纤维微菌 C6 设计了 29 组 4 独立因素 Box-Behnken 响应面实验,如表 1 所示. 运用 Design-Expert8. 0. 5. 0 软件,通过对实验数据进行多元回归分析,得到二元回归方程式为:

$$Y = +74.86 - 0.48A + 4.18B + 3.25C - 1.64D + 3.49AB + 0.70AC - 4.02AD + 3.92BC - 4.39BD + 1.36CD + 0.29A^2 + 3.83B^2 - 5.22C^2 + 3.19D^2$$

表 1 纤维微菌 C6 去除率响应面实验设计及结果
Tab. 1 Design and results of RSM for removal rate of *Cel-lulosimicrobium* sp. strain C6

Run order	A (pH)	B (temperature)	C (contact time)	D (Cr(VI) initial concentration)	Actual removal efficiency /%	Predicted response /%
1	7	30	2	60	77.59	78.76
2	6	35	2	60	75.73	70.82
3	8	30	1	60	76.72	80.15
4	7	35	2	80	88.81	86.16
5	7	25	3	60	70.71	72.57
6	8	30	2	80	75.65	76.36
7	6	30	1	60	68.77	66.58
8	8	30	3	60	79.15	75.81
9	7	25	2	40	80.52	76.43
10	6	30	2	80	79.04	83.51
11	7	30	2	60	85.95	81.20
12	7	35	1	60	68.39	72.20
13	7	25	1	60	72.18	69.94
14	7	30	3	40	71.22	70.48
15	7	35	2	40	68.15	68.62
16	6	30	2	40	82.85	84.81
17	7	25	2	80	64.96	67.85
18	7	30	1	80	65.07	65.49
19	6	25	2	60	71.62	72.96
20	8	35	2	60	74.51	73.39
21	8	25	2	60	74.55	74.95
22	8	30	2	40	95.43	92.08
23	7	30	2	60	75.33	80.45
24	7	30	2	60	78.68	80.04
25	7	35	3	60	75.68	74.86
26	6	30	3	60	75.20	74.86
27	7	30	3	80	78.07	74.86
28	7	30	2	60	75.47	74.86
29	7	30	1	40	69.87	74.86

表 2 以纤维微菌 C6 对 Cr(VI)的去除率作为响应值对响应面结果进行方差分析,由表可知模型 P 值为 $0.0042 < 0.0500$,回归显著,表明拟合的二次多项回归模型具有统计学意义有良好的预测能力. 回归模型的相关系数 $R^2 = 0.82$ 表明该模型的拟合程度较好,回归模型失拟项 P 值为 $0.2348 > 0.05$,失拟不显著,表明模型没有异常数据,能很好地进行预测.

表 2 二元回归方程的方差分析
Tab. 2 Analysis of variance of binary regression equation

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F-Value	P-Value (Prob>F)
Model	1046.05	14	74.72	4.45	0.0042
A	2.79	1	2.79	0.17	0.6894
B	209.89	1	209.89	12.51	0.0033
C	126.94	1	126.94	7.57	0.0156
D	32.12	1	32.12	1.91	0.1881
AB	48.69	1	48.69	2.90	0.1105
AC	1.94	1	1.94	0.12	0.7388
AD	64.67	1	64.67	3.86	0.0698
BC	61.32	1	61.32	3.66	0.0766
BD	76.96	1	76.96	4.59	0.0503
CD	7.41	1	7.41	0.44	0.5171
A ²	0.53	1	0.53	0.03	0.8616
B ²	95.00	1	95.00	5.66	0.0321
C ²	176.91	1	176.91	10.55	0.0058
D ²	66.08	1	66.08	3.94	0.0671
Residual	234.84	14	16.77		
Lack of Fit	198.49	10	19.85	2.18	0.2348
Pure Error	36.35	4	9.09		
Cor Total	1280.89	28			
R ²	0.82				

残差分析可以进一步检验回归模型的正确性. 若残差分布图中的数据点呈现线性趋势分布,则表示残差服从正态分布. 残差的正态概率图如图 7a 所示,残差数据点在直线两侧分布均匀,表明残差服从正态分布,即回归模型准确. 空间中某一点的所有参数对响应的影响可以根据图 7b 所示的摄动图进行评估. 温度(B)和接触时间(C)的陡坡表明 Cr(VI)去除率的响应对此因素很敏感. pH(A)接近平坦曲线对 Cr(VI)去除率的敏感性较低. 因此温度和接触时间是影响 Cr(VI)去除率的关键因素.

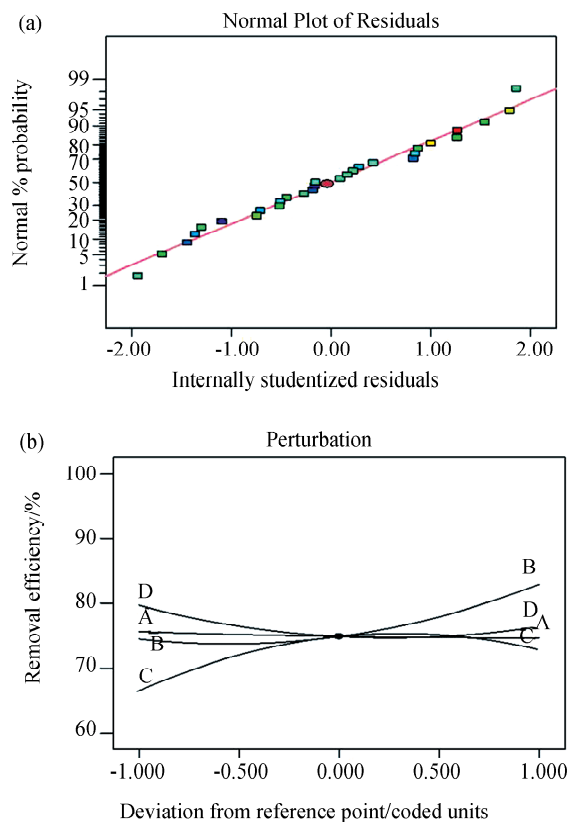


图 7 纤维微菌 C6 去除 Cr(VI) 的残差正态概率和扰动
(a) 残差正态概率图; (b) 去除效率扰动图。
Fig. 7 Normal probability plot of studentized residuals versus normal % probability and perturbation plot for the % removal efficiency of Cr(VI)
(a) Normal probability plot of studentized residuals versus normal % probability; (b) perturbation plot for the % removal efficiency of Cr(VI).

根据响应面结果绘制出响应面曲线等高图如图 8 所示,图 8a 显示了温度和溶液 pH 对 Cr(VI) 去除效率的交互作用。当温度在 30 ℃ 以下,溶液 pH 5~7 时,纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 去除率较高;在 32~40 ℃、溶液 pH 7~9 的范围内 Cr(VI) 去除率随着温度和溶液 pH 的增加而增加。图 8b 显示了接触时间和溶液 pH 对 Cr(VI) 去除效率的交互作用,如图 8b 所示,在溶液 pH 5~9 时,Cr(VI) 去除率随着接触时间的增加而增大。在 pH 为 7,接触时间为 2 d 时达到最佳去除效率。图 8c 显示了 Cr(VI) 初始浓度和溶液 pH 对 Cr(VI) 去除效率的交互作用,当溶液 pH 7~9 时,Cr(VI) 初始浓度为 40~50 mg/L 时或当溶液 pH 5~7 时,Cr(VI) 初始浓度为 65~80 mg/L 时,纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 去除率随着 Cr(VI) 初始浓度的增加而增大。图 8d 显

示了温度和接触时间对 Cr(VI) 去除效率的交互作用,如图 8d 显示,在 30~40 ℃ 的范围内,随着接触时间的增加,纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 去除率也在增加。图 8e 显示了温度和 Cr(VI) 初始浓度对 Cr(VI) 去除效率的交互作用,在 30~40 ℃ 的范围内,随着 Cr(VI) 初始浓度的增加,纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 去除率在减少。图 8f 显示了接触时间和 Cr(VI) 初始浓度对 Cr(VI) 去除效率的交互作用,在 Cr(VI) 初始浓度 40~60 mg/L 时,随着接触时间的增加和 Cr(VI) 初始浓度的减小,纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 去除率增加。

在最佳吸附条件下,即 pH 为 7.85,温度 34.07 ℃,接触时间 2.88 d,初始 Cr(VI) 浓度 40.08 mg/L,纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 的去除率达到最高为 95.75%。

3.4 纤维微菌 C6 去除 Cr(VI) 前后 SEM 分析

如图 9a 所示,在没有 Cr(VI) 处理的条件下,纤维微菌 C6 菌体细胞呈短杆状,表面清晰光滑且分散。如图 9b 所示,Cr(VI) 处理过的菌体表面不规则,有颗粒状沉淀,并且菌体细胞排列在一起形成粘连的结构。这种由 Cr(VI) 胁迫引起的菌株形态变化可能在细菌防御外部 Cr(VI) 毒性和 Cr(VI) 在细菌细胞表面的吸附机制中起关键作用。细菌表面吸附的 Cr 会引起细菌表面形态的变化。相同的情况也在 Karthik 等人^[18]的研究结果中出现。

3.5 纤维微菌 C6 去除 Cr(VI) 前后 FTIR 分析

为了研究 Cr(VI) 与纤维微菌 C6 相互作用中可能涉及的官能团,对纤维微菌 C6 菌体与 Cr(VI) 反应前后进行了红外光谱分析。如图 10 所示,在 3 274 cm⁻¹ 观察到的波段对应于 O-H 拉伸振动^[18],与 Cr(VI) 反应后的红外光谱图 O-H 拉伸移至较高的频率 3 417 cm⁻¹。在 1 680~1 630 cm⁻¹、1 545~1 530 cm⁻¹ 处的改变与酰胺 I 的 C=O 拉伸和酰胺 II 的 N-H 的拉伸振动有关^[19],此处反应前分别为 1 635 和 1 540,反应后的特征峰发生漂移变为 1 646 和 1 546 cm⁻¹。胺分子中的 C-N 键伸缩振动区为 1 360~1 020 cm⁻¹,此范围内吸收峰由 1 216 和 1 072 cm⁻¹ 分别变为了 1 238 和 1 078 cm⁻¹。从以上结果可以看出,羧基、酰胺 I (C=O 键)、酰胺 II (N-H 键)、C-N 键可能参与了生物吸附过程。

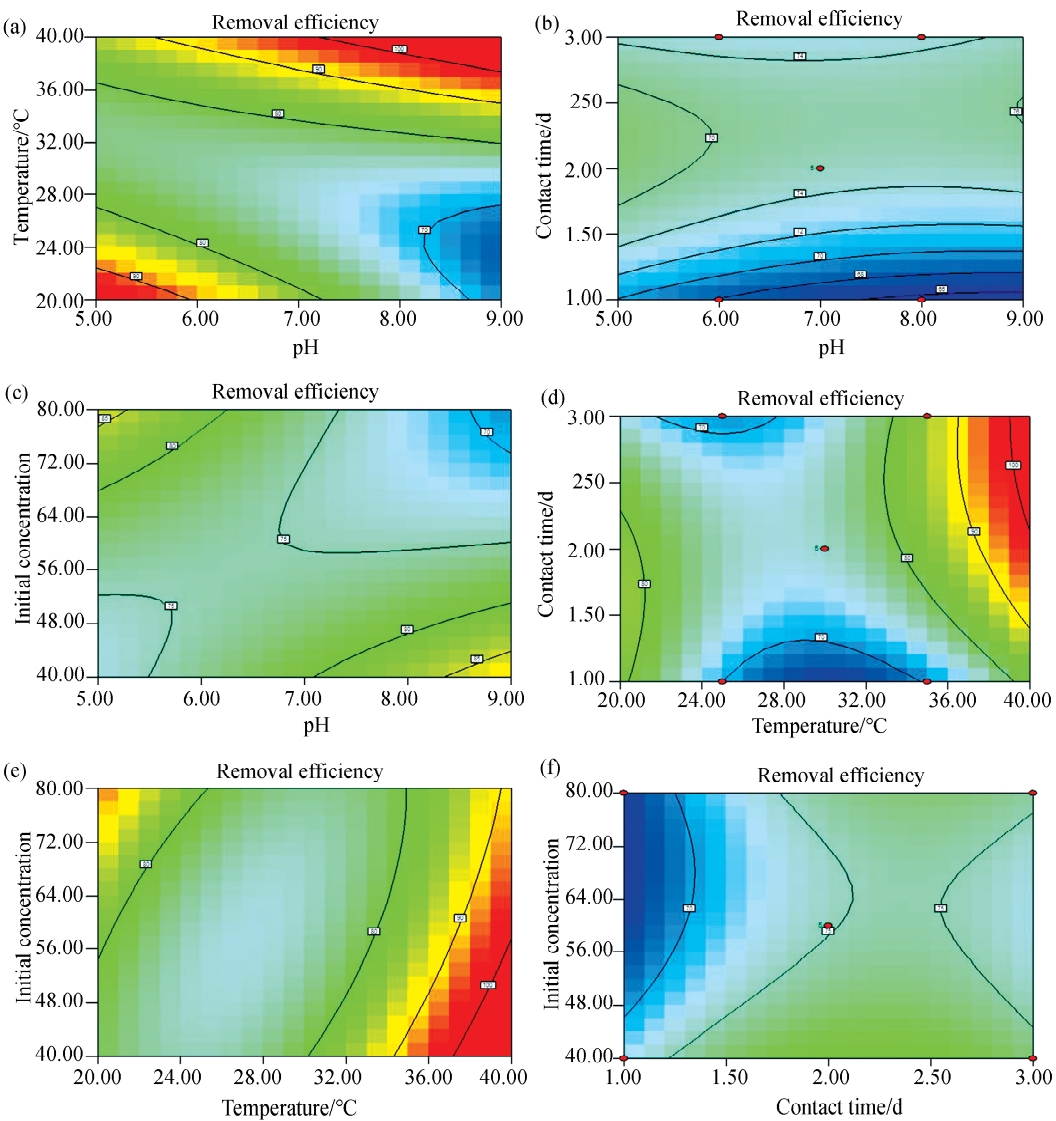


图 8 各因素交互作用对纤维微菌 C6 去除 Cr(VI) 的影响
Fig. 8 Effect of interaction of various factors on Cr(VI) removal by *Cellulosimicrobium* sp. strain C6

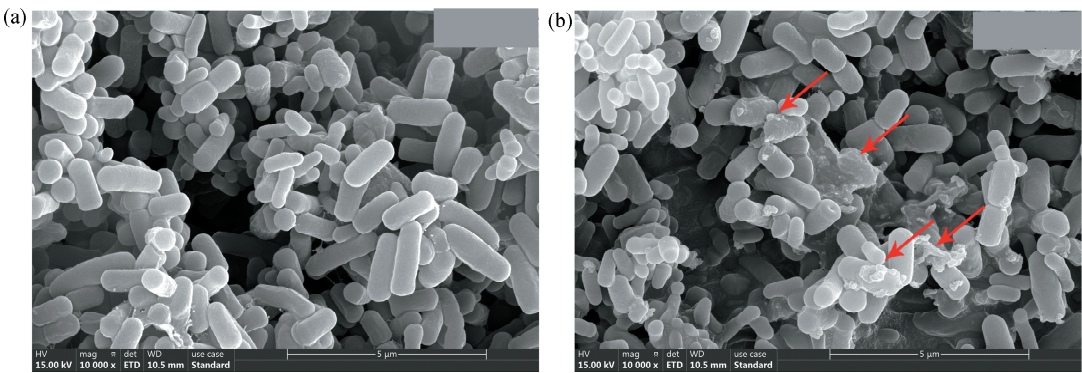


图 9 纤维微菌 C6 吸附 Cr(VI) 前后的 SEM 分析
(a) 吸附前; (b) 吸附后.
Fig. 9 SEM images of *Cellulosimicrobium* sp. strain C6
(a) Before adsorption; (b) after adsorption.

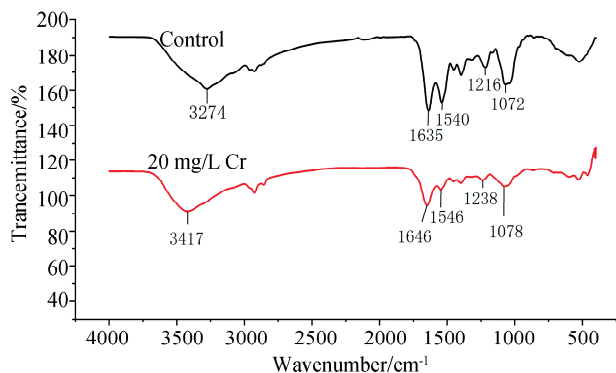


图 10 纤维微菌 C6 吸附 Cr(VI) 前后傅里叶红外光谱分析
Fig 10 FTIR analysis before and after removal Cr(VI) by *Cellulosimicrobium* sp. strain C6

4 讨 论

随着重金属污染问题日益严重,新型的微生物修复技术有着越来越重要的地位,微生物修复技术具有以下优点:修复效果较理想、操作简便、成本低廉、环境友好等^[16]。本研究对成都市双流区某皮革厂附近污染土壤进行分离和纯化,得到一株菌株:纤维微菌 C6。单因素实验结果表明,纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 具有较高的去除能力。响应面法是一种可靠的、功能强大的生物吸附过程中建模和优化工具^[20]。根据单因素试验的结果,基于 Box-Behnken 设计的响应面法通过纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 去除条件的优化,建立了响应与自变量之间的关系。结果表明,实验模型与实验数据拟合良好,同时温度和接触时间是影响生物吸附过程中最重要的参数。扫描电镜表明,细菌表面有颗粒状沉淀,可能是通过吸附作用达到对 Cr(VI) 的去除效果。红外光谱也证明了与 Cr(VI) 反应后,细胞表面的羧基、酰胺 I (C=O 键)、酰胺 II (N-H 键)、C-N 键可能参与了生物吸附过程。Karthik 等人^[18]也对纤维微菌属的菌株去除 Cr(VI) 的机理进行过讨论,溶液中 Cr(VI) 通过与细胞表面官能团的配位而被吸附在细胞表面,形成颗粒状沉淀,再通过转运蛋白的转运进入细胞内部,进行细胞内部的积累。此前尹华等^[21]研究表明红螺菌 R-04 对 Cr(VI) 吸附率为 84%,根霉菌对 Cr(VI) 吸附率为 60%~80%,而本研究中纤维微菌 C6 对 Cr(VI) 的去除效率高达 95.75%,表明纤维微菌 C6 具有优异的 Cr(VI) 去除性能,在去除水体重金属污染中具有较大的优势。现在已经有相关研究对去除污染物的微生物进

行固定化处理从而制备成具有高效去除能力的固定化生物吸附剂,该技术有利于将游离的微生物菌体固定起来达到对水体中重金属的去除^[22],本研究中筛选的菌株也具有进一步开发和应用的價值。

参考文献:

- [1] Dhal B, Thatoi H N, Das N N, *et al.* Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: a review [J]. J Hazard Mater, 2013, 250: 272.
- [2] Chen T, Chang Q, Liu J, *et al.* Identification of soil heavy metal sources and improvement in spatial mapping based on soil spectral information: a case study in northwest China [J]. Sci Total Environ, 2016, 565: 155.
- [3] Xia S Q, Song Z L, Jeyakumar P, *et al.* A critical review on bioremediation technologies for Cr(VI)-contaminated soils and wastewater [J]. Crit Rev Environ Sci Technol, 2019, 49: 12.
- [4] Bianco Prevot A, Ginepro M, Peracaciolo E, *et al.* Chemical vs bio-mediated reduction of hexavalent chromium. An in-vitro study for soil and deep waters remediation [J]. Geoderma, 2018, 312: 17.
- [5] Ashraf A, Bibi I, Niazi N K, *et al.* Chromium(VI) sorption efficiency of acid-activated banana peel over organo-montmorillonite in aqueous solutions [J]. Int J Phytorem, 2017, 16: 605.
- [6] Zhitkovich A. Chromium in drinking water: sources, metabolism, and cancer risks [J]. Chem Res Toxicol, 2011, 24: 1617.
- [7] Du H, Jin W, Zheng S, *et al.* Electrochemical processes for the environmental remediation of toxic Cr(VI): a review [J]. Electrochim Acta, 2016, 191: 1044.
- [8] Zhang R, Xiang Y, Ran Q, *et al.* Involvement of calcium, reactive oxygen species, and ATP in hexavalent chromium-induced damage in red blood cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 34: 1780.
- [9] Manoj S, Ramyapriya R, Elango L. Long-term exposure to chromium contaminated waters and the associated human health risk in a highly contaminated industrialised region [J]. Environ Sci Pollut Res, 2020, 28: 4276.
- [10] Singh P, Chowdhuri D K. Environmental presence of hexavalent but not trivalent chromium causes neurotoxicity in exposed drosophila melanogaster [J]. Mol Neurobiol, 2017, 54: 3368.

[11] Wise J, Wang L, Xu J, *et al.* The Nutritional Biochemistry of Chromium (Ⅲ) [M]. 2nd ed. New York: Elsevier, 2019: 323.

[12] Mishra S, Bharagava R N. Toxic and genotoxic effects of hexavalent chromium in environment and its bioremediation strategies [J]. J Environ Sci Health, 2015, 34: 1.

[13] Khalid S, Shahid M, Niazi N K, *et al.* A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils [J]. J Geochem Explor, 2016, 183: 247.

[14] Feng Z Q, Yuan X, Wang T. Porous polyacrylonitrile/graphene oxide nanofibers designed for high efficient adsorption of chromium ions (Ⅵ) in aqueous solution [J]. Chem Eng J, 2019, 392: 123730.

[15] 祝国文, 张瑾, 杜杰, 等. 微生物技术治理水体重金属镉, 铬污染的研究进展[J]. 生物资源, 2020, 42: 54.

[16] 刘海华, 吴奇, 李瑞娟, 等. 微生物法处理六价态铬污染的研究进展[J]. 生物学教学, 2020, 45: 5.

[17] Ferrer P. Revisiting the *Cellulosimicrobium cellulans* yeast-lytic β -1, 3-glucanases toolbox: a review [J]. Microb Cell Fact, 2006, 5: 10.

[18] Karthik C, Barathi S, Pugazhendhi A, *et al.* Evaluation of Cr(VI) reduction mechanism and removal by *Cellulosimicrobium funkei* strain AR8, a novel haloalkaliphilic bacterium [J]. J Hazard Mater, 2017, 333: 41.

[19] Ren L Y, Hong Z N, Qian W, *et al.* Adsorption mechanism of extracellular polymeric substances from two bacteria on Ultisol and Alfisol [J]. Environ Pollut, 2018, 237: 39.

[20] Mishra S, Maiti A. Process optimization for effective bio-decolourization of reactive orange 16 using chemometric methods [J]. J Environ Sci Health, 2019, 54: 179.

[21] 陈跃辉, 张伟, 汪爱河. 含重金属废水微生物吸附法处理技术的简介[J]. 科技信息, 2010, 21: 897.

[22] 王济港, 王庆国. 微生物固定化技术在水环境和能源领域的应用[J]. 广东化工, 2018, 45: 83.

引用本文格式:

中 文: 高婧琪, 张杰, 蹇庭昆, 等. 纤维微菌 C6 对水中 Cr(VI)去除条件优化及机理研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2021, 58: 046003.

英 文: Gao J Q, Zhang J, Jian T K, *et al.* The conditions optimization for removing Cr (Ⅵ) from water by *Cellulosimicrobium* sp. strain C6 and study on its removal mechanism [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2021, 58: 046003.