

文章编号:1673-0062(2013)01-0042-05

腐殖质还原菌去除 U(VI) 的试验研究

顾中华¹, 谢水波^{1,2*}, 刘迎九¹, 刘金香², 李仕友²

(1. 南华大学 污染控制与资源化技术湖南省高校重点实验室, 湖南 衡阳 421001;

2. 南华大学 铀矿冶生物技术国防重点学科实验室, 湖南 衡阳 421001)

摘要: 试验探讨了腐殖质还原菌去除 U(VI) 的特性与效果, 重点考察了温度、pH、AQS、U(VI) 浓度等因素对腐殖质还原菌去除 U(VI) 的影响。试验结果表明, 腐殖质还原菌对低浓度 U(VI) 有很好的去除效果, 其去除 U(VI) 的最适温度为 30 ℃ 左右, 最佳 pH 在 6.0 左右, AQS 的最佳用量约为 1.0 mmol/L。红外光谱分析表明, 羧基、酰胺基和磷酸基团是腐殖质还原菌除铀过程中占主导地位的官能团。

关键词: U(VI); 腐殖质还原菌; 蒽醌-2-磺酸钠; 生物修复

中图分类号: X771

文献标识码: B

Study on Removal U(VI) by Humic-reducing Bacteria

GU Zhong-hua¹, XIE Shui-bo^{1,2*}, LIU Ying-jiu¹, LIU Jin-xiang², LI Shi-you²

(1. Hunan Province Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse Technology, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Key Discipline Laboratory for National Defence for Biotechnology in Uranium Mining and Hydrometallurgy, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: The characteristics and performance of the humic-reducing bacteria (HRB) to remove U(VI) in wastewater were examined. The impact of temperature, pH values, AQS, electron donor sodium lactate and U(VI) concentrations was studied. Experimental results showed that HRB was efficient to remove low concentration U(VI). The optimum reduction U(VI) condition was that temperature was about 30 ℃, pH was about 6.0, AQS was about 1.0 mmol/L. The IR spectroscopic analysis suggested that carboxyl, amide and phosphate groups of humic-reducing cell were the dominant functional groups involved in bacteria-uranium interaction.

key words: U(VI); humic-reducing bacteria; anthraquinone-2-sulfonate; bioremediation

收稿日期: 2013-01-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(11175081); 湖南省科技计划重点基金资助项目(2011SK2015)

作者简介: 顾中华(1987-), 男, 河南项城人, 南华大学城市建设学院硕士研究生。主要研究方向: 水处理。* 通讯作者

我国铀矿冶生产中产生了大量的铀等放射性核素,对地下水等构成严重威胁^[1]. 某些细菌在缺氧和有适当电子供体环境下,可以将可溶性 U(VI) 络合物酶催化还原成难溶性矿物,原位生物修复铀污染地下水已受到广泛重视^[2]. 因为微生物对于控制水中溶解性 U(VI) 的行为有很大的应用潜力,利用微生物还原 U(VI) 的方法极受关注^[3],但迄今为止仅发现了为数不多的具有较强 U(VI) 还原能力的微生物.

腐殖质还原菌广泛存在于水体、沉积物及土壤环境中^[4],可以利用腐殖质作为电子穿梭体,生物还原 Fe(III)、U(VI)、Mn(IV)、Cr(VI) 等重金属^[5]. 目前对腐殖质还原菌除 U(VI) 的特性的相关报道较少.

作者通过驯化荷花池底泥得到了富含腐殖质还原菌的污泥,试验探讨了影响腐殖质还原菌除 U(VI) 的因素及腐殖质还原菌去除 U(VI) 的机理.

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

污泥:自南华大学荷花池底泥中采得污泥样,用 5 mm 筛滤除大颗粒杂质,再过 3 mm 筛,用超纯水冲洗,沉降 1 h 后弃去混浊液,留下泥浆,重复四次后得到待驯化污泥.

培养基:每升含 NaCl 5 g, KCl 0.6 g, NH₄Cl 0.1 g, NaHCO₃ 2.5 g, CaCl₂ 0.05 g, MgCl₂ · 6H₂O 0.02 g, KH₂PO₄ 0.01 g, yeast extract 0.05 g.

主要试剂:蒽醌-2-磺酸钠(AQS, 腐殖质模式物, 分析纯), 乳酸钠(分析纯), U₃O₈(分析纯), 其它试剂均为分析纯.

仪器设备:LRH-250-Z 振荡培养箱, T6 紫外可见分光光度计.

1.2 泥样的驯化

驯化装置如图 1 所示. 在厌氧条件下, 驯化得到富含腐殖质还原菌的污泥. 在 1 L 的容器中, 加入 250 mL 待驯化污泥、250 mL 培养基、AQS (2 mmol/L)、乳酸钠 (10 mmol/L), 摇匀, 充 15 min 氮气与二氧化碳混合气 ($V(N_2):V(CO_2) = 4:1$), 30 °C 下密闭静置培养. 每隔 3 d, 先通氧气至上清液橙红色消失, 再通 15 min 氮气与二氧化碳混合气. 每隔 3 个周期用新鲜培养基更换上清液. 当检测到 AQS 10 h 还原率超过 80% 时, 污泥驯化完成, 测得 VSS 为 18.06 g/L. 每次取样都要通气, 维持厌氧环境.

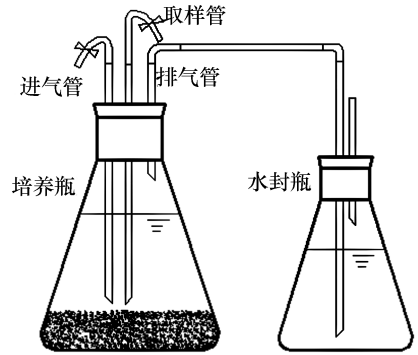


图 1 污泥驯化装置

Fig. 1 Acclimation device of sludge

1.3 U(VI) 的测定

边通气边用注射器从取样管抽取适量待测样液, 用针筒式过滤器滤去样液中的菌体和杂质. 采用国标 GB6768-86 中的分光光度法测定微量铀.

1.4 富含腐殖质还原菌污泥去除 U(VI) 的试验

在 250 mL 锥形瓶中分别加入定量的标准铀溶液和备用培养基, 10 mmol/L 乳酸钠和 1 mmol/L AQS, 调整总体积至 200 mL; 调节 pH, 接种定量污泥; 在生化培养箱中厌氧静置培养; 定时取样, 测定培养液中剩余 U(VI) 浓度.

初始浓度对 U(VI) 去除的影响试验: U(VI) 的初始浓度为 10 ~ 80 mg/L, 设有浓度梯度;

温度影响试验: 试验温度梯度为 20 °C、25 °C、30 °C、35 °C、40 °C、45 °C;

pH 影响试验: 试验 pH 梯度为 3、4、5、6、7、8;

AQS 用量影响试验: AQS 浓度为 0 ~ 8 mmol/L, 设置浓度梯度.

1.5 腐殖质还原菌还原 U(VI) 前后的傅里叶红外光谱 (FTIR) 分析

取 10 mL 驯化污泥, 接种到装有 150 mL 新鲜培养基的培养装置中, 加入 AQS (2 mmol/L)、乳酸钠 (10 mmol/L), 厌氧培养. 待培养液颜色变为橙红色, 取样 10 mL 转接到新装置中继续培养. 连续 5 次转接后得到富集的菌液. 将富集的菌液除 U(VI) 前后的菌体培养 6 h, 8 000 r/min 下离心 10 min, 用 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液冲洗菌体, 冷冻干燥后用于 FTIR 光谱分析^[6]. 用 Nicolet 6700 型傅里叶红外光谱仪记录了除 U(VI) 前后的菌体波数在 4000 cm⁻¹ 到 400 cm⁻¹ 范围内的光谱, 用 OMNIC 软件和峰值标记后观察光谱进行分析.

2 结果与分析

2.1 U(VI) 初始浓度对腐殖质还原菌污泥去除 U(VI) 的影响

试验设定 U(VI) 初始浓度为 10 ~ 80 mg/L, 温度为 25 °C, pH 为 7.0. 试验结果如图 2 所示. 结果表明, 腐殖质还原菌对低浓度 U(VI) 有很好的去除效果, 当初始 U(VI) 浓度为 10 mg/L 时, 12 h 内去除率超过 96%, 并接近平衡. 当初始 U(VI) 浓度超过 50 mg/L 时, 菌体活性受到较强抑制, U(VI) 去除率明显下降.

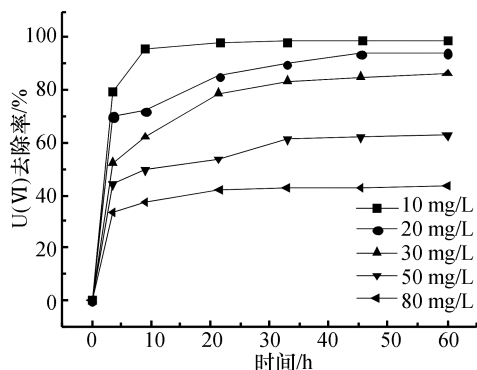


图 2 U(VI) 初始浓度对 U(VI) 去除的影响

Fig. 2 Effect of initial concentration of U(VI) on removal U(VI)

2.2 温度对腐殖质还原菌污泥去除 U(VI) 的影响

在研究温度对腐殖质还原菌除 U(VI) 的影响试验中, 设定温度为 20 ~ 45 °C, U(VI) 初始浓度为 25 mg/L, pH 为 7.0. 结果如图 3 所示. 从图 3 可见, 25 °C 条件下 U(VI) 的去除率与 35 °C 接近, 30 °C 条件下 U(VI) 的去除率最高, 45 °C 条件下 U(VI) 的去除率最低, 表明腐殖质还原菌去除 U(VI) 的最适温度在 30 °C 左右, 与国内外研究结果相一致^[7]. 在污泥驯化过程中还发现, 温度对腐殖质还原菌的生长有很大影响.

2.3 pH 对腐殖质还原菌污泥去除 U(VI) 的影响

试验设定 pH 范围为 3.0 ~ 8.0, U(VI) 初始浓度为 25 mg/L, 温度为 25 °C. 从图 4 中可以看出, 从 pH 5.0 ~ 7.0, 腐殖质还原菌对 U(VI) 的去除率都比较高, 在 pH 为 6.0 时达到最高为 92.79%, 但在 pH 5.0 时仍能去除 81.98% 的 U(VI). 目前的研究表明, 从厌氧环境中分离所得的腐殖质还原菌最佳 pH 多在 6.5 ~ 7.6 之间^[8], 分析认为可能是由于菌体长期生长环境偏酸性所

致, 初始泥样 pH 低于 6.0.

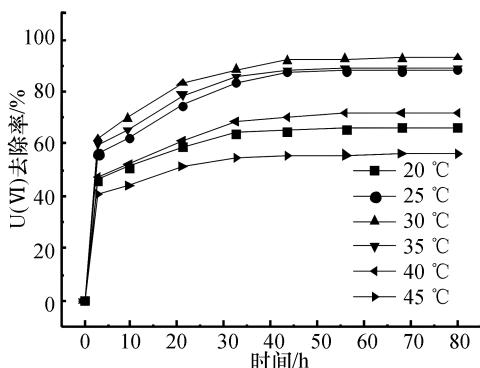


图 3 温度对 U(VI) 去除的影响

Fig. 3 Effect of temperature on removal U(VI)

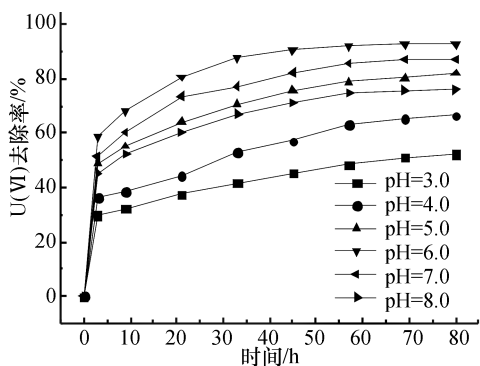


图 4 pH 对 U(VI) 去除的影响

Fig. 4 Effect of pH on removal U(VI)

2.4 AQS 用量对腐殖质还原菌污泥去除 U(VI) 的影响

试验中, 腐殖质模式物 AQS 用量为 0 ~ 8.0 mmol/L, U(VI) 初始浓度为 25 mg/L, 温度为 25 °C, pH 为 7.0. 试验结果如图 5 所示. 分析 AQS 用量的影响发现, 不加 AQS 时 U(VI) 的去除率最低, 随着 AQS 浓度而升高, U(VI) 的去除率也升高, 在 AQS 浓度为 1.0 mmol/L 时 U(VI) 的去除率最高, 超过这一最佳浓度后, U(VI) 的去除率开始逐渐降低, 表明适当浓度的 AQS 会促进腐殖质还原菌的生长代谢, 而过量的 AQS 会对腐殖质还原菌产生抑制作用, 与目前的研究结果一致^[9].

2.5 优化条件下腐殖质还原菌的效能

根据单因素分析得到的最佳条件进行试验, 试验结果如图 6 所示. 经过试验, 在最佳条件下, 2 h 后 U(VI) 的去除率已达到 58.21%, 之后腐殖质还原菌一直保持很强的还原能力, 在 80 h 内将

U(VI) 从 25 mg/L 降到 1.63 mg/L, 处理效率达到 93.48%, 表明其对低浓度 U(VI) 有很好的去除效果.

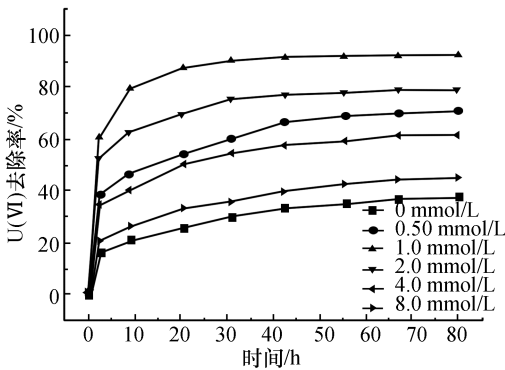


图 5 AQS 对 U(VI) 去除的影响
Fig.5 Effect of AQS on removal U(VI)

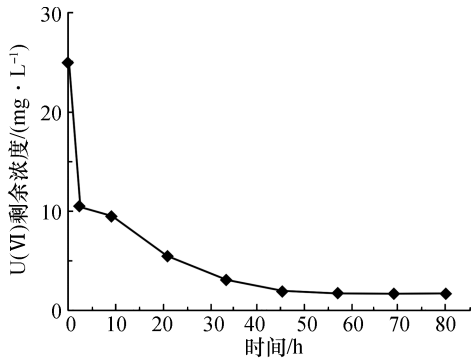


图 6 腐殖质还原菌对 U(VI) 的去除效能
Fig.6 The humic-reducing bacteria removal efficiency of U(VI)

2.6 腐殖质还原菌除 U(VI) 前后的 FTIR 分析结果

为了了解腐殖质还原菌与铀作用的相关基团, 试验记录了除 U(VI) 前后的菌体波数在 4000 cm^{-1} 到 400 cm^{-1} 范围内的光谱, 如图 7 所示. 红外光谱分析表明, 菌体内存在的一些主要官能团参与了除 U(VI) 的过程. 在除 U(VI) 后的红外光谱图中, 发现占据 3200 – 3600 cm^{-1} 广泛区域的 N – H 有较强的伸缩振动, 表明在氨基和羟基基团的参与下有金属沉淀到菌胞外壁^[10]; 在 2400 cm^{-1} 左右的谱峰可能是 P – O 的伸缩振动所致, 可能是菌体的磷酸基团促进了菌体生物还原 U(VI). 酰胺基团的两个振动峰为 1642 cm^{-1} 和 1541 cm^{-1} , 在菌体与铀相互作用后, 前一个谱峰显示的主要是 α – β – 螺旋二级结构的蛋白质和氨基糖, 它被分成了两个小峰 1653 cm^{-1} 和 1639 cm^{-1} , 后一个谱峰移位到较低能级 (1534

cm^{-1})^[11]. 所观察到的谱峰位置和相对强度的改变, 表明菌体中细胞蛋白的二级结构发生了变化, 最有可能是 U(VI) 被还原后沉淀到菌胞外壁所致. 在 1400 cm^{-1} ~ 1500 cm^{-1} 之间, 尖锐的峰显示的主要是羧基基团, 谱峰 1456 cm^{-1} 在除 U(VI) 后移位到较低能级 (1451 cm^{-1}), 特别是在 1395 cm^{-1} 到 1406 cm^{-1} 的明显对称伸缩, 表示羧基基团在结合铀过程中发生了作用^[12]. 红外光谱分析表明, 羧基, 酰胺基和磷酸基团是腐殖质还原菌除铀过程中占主导地位的官能团.

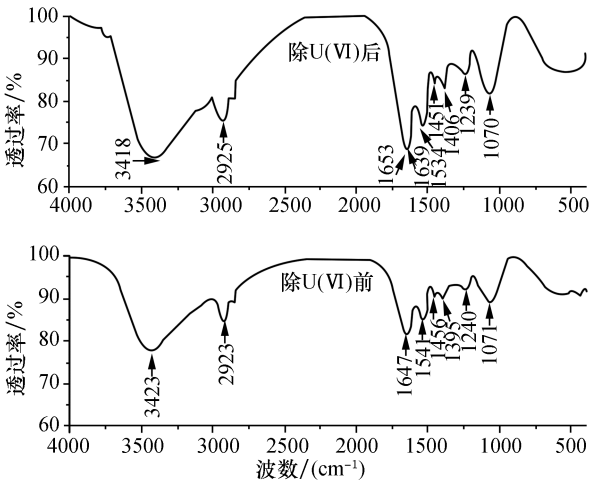


图 7 腐殖质还原菌除 U(VI) 前后的红外光谱
Fig.7 Fourier transformed Infra Red spectra of humic-reducing bacteria: before and after reduce U(VI)

3 结 论

试验中从驯化荷花池底泥中得到了富含腐殖质还原菌的污泥. 腐殖质还原菌去除 U(VI) 的试验结果表明, 腐殖质还原菌对低浓度 U(VI) 有很好的去除效果, 腐殖质还原菌与铀作用的化学基团主要为羧基、酰胺基和磷酸基团. 当初始 U(VI) 浓度为 10 mg/L 时, 12 h 内去除率超过 96%, 最适温度为 30 $^{\circ}\text{C}$ 左右, 最佳 pH 在 6.0 左右, AQS 的最佳用量为 1.0 mmol/L.

参考文献:

[1] Arogunjo A M, Höllriegl V, Giussani A, et al. Uranium and thorium in soils, mineral sands, water and food samples in a tin mining area in Nigeria with elevated activity [J]. Journal of Environmental Radioactivity, 2009, 100 (3): 232-240. (下转第 52 页)

(上接第 45 页)

参考文献:

- [2] Tapia-Rodriguez A, Luna-Velasco A, A Field J, et al. Anaerobic bioremediation of hexavalent uranium in groundwater by reductive precipitation with methanogenic granular sludge[J]. Water Research, 2010, 44(7): 2153-2162.
- [3] 谢水波, 王水云, 张浩江, 等. 硫酸盐还原菌还原 U(VI) 的影响因素与机制[J]. 环境科学, 2009, 30(7): 1962-1967.
- [4] Cervantes F J, Gutierrez C H, Lopez K Y. Contribution of quinone-reducing microorganisms to the anaerobic biodegradation of organic compounds under different redox conditions[J]. Biodegradation, 2008, 19(2): 235-246.
- [5] Suzuki Yoshinori, Tanaka Kazuya, Kozai Naofumi, et al. Effects of citrate, NTA, and EDTA on the reduction of U(VI) by *Shewanella putrefaciens*[J]. Geomicrobiology Journal, 2010, 27(3): 245-250.
- [6] Sangeeta Choudhary, Pinaki Sar. Uranium biomineralization by a metal resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain isolated from contaminated mine waste[J]. Journal of hazardous materials, 2011, 186(1): 336-343.
- [7] 吴鹏. 海洋沉积物腐殖质还原菌的分离鉴定及其对 Cr(VI) 的还原性能[D]. 广州: 暨南大学, 2010.
- [8] Coates J D, Cole K A, Chakraborty R, et al. Diversity and ubiquity of bacteria capable of utilizing humic substances as electron donors for anaerobic respiration[J]. Appl. Environ. Microbiol, 2002, 68: 2445-2452.
- [9] 徐志伟. 腐殖质微生物还原的影响因素及其去除污染物的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [10] Kazy S K, Das S K, Sar P. Lanthanum biosorption by a *Pseudomonas* sp.: equilibrium studies and chemical characterization[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2006, 33(9): 773-783.
- [11] Kazy S K, DSouza S F, Sar P. Uranium and thorium sequestration by a *Pseudomonas* sp.: Mechanism and chemical characterization[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 163(1): 65-72.
- [12] Pagnanelli F, Peterangelipapin M, Toro I L, et al. Biosorption of Metal Ions on *Arthrobacter* sp.: biomass characterization and biosorption modeling[J]. Environ. Sci. Technol, 2000, 34(13): 2773-2778.