

# 碳氮源对 *P. Fluorescens* 吸附和还原 U(VI) 的影响研究

宗美荣<sup>1,2</sup>, 董发勤<sup>2</sup>, 刘明学<sup>2</sup>, 孙仕勇<sup>2</sup>, 郭玉婷<sup>2</sup>, 周青<sup>1</sup>, 吴传龙<sup>2</sup>, 秦永莲<sup>1</sup>

(1. 西南科技大学 环境与资源学院, 四川 绵阳 621010; 2. 西南科技大学 固体废物处理与资源化教育部重点实验室, 四川 绵阳 621010)

**摘要:** 为探讨不同碳氮源对培养基中铀酰离子的络合形态及荧光假单胞菌对铀吸附和还原作用的影响, 本文以查氏培养基为基础, 将蔗糖替换为葡萄糖或将硝酸钠替代为氯化铵, 采用 Visual MINTEQ 分析研究铀酰离子络合形态。研究表明, 碳氮源的种类对微生物生长无影响。U(VI)浓度为 10 mg/L 时, 3 种培养基中铀酰离子的主要络合形态均为  $\text{UO}_2\text{PO}_4^-$ 。U(VI)浓度为 50~200 mg/L, 查氏和葡萄糖碳源培养基中铀酰离子主要络合形态均为  $\text{UO}_2(\text{SO}_4)_2^{2-}$ 。氯化铵氮源培养基中, U(VI)浓度为 50 mg/L 时铀酰离子的主要络合形态为  $\text{UO}_2\text{HPO}_4(\text{aq})$ , 浓度为 100~200 mg/L 时主要是  $\text{UO}_2\text{Cl}_2(\text{aq})$ 。荧光假单胞菌对 U(VI) 耐受浓度高达 100 mg/L, 当 U(VI) 浓度达到 200 mg/L 时, 菌体失活。荧光假单胞菌为活体时, 对 U(VI) 的吸附率为 84.02%~92.59%, 还原率为 3.32%~10.94%, 不同碳氮源对铀吸附和还原的影响较小。荧光假单胞菌为死体时, 对铀的吸附率为 24.33%~39.05%; 非葡萄糖碳源培养基中, 对铀的还原率为 37.50%~44.58%, 含还原性葡萄糖的培养基条件下 U(VI) 的还原率为 53.12%。还原性葡萄糖与荧光假单胞菌对铀的还原为协同作用。荧光假单胞菌为活体时, 培养基成分被微生物充分利用, 两者协同作用不明显。

**关键词:** 荧光假单胞菌; 碳氮源;  $\text{UO}_2^{2+}$ ; 吸附与还原; Visual MINTEQ

中图分类号: P579; P619.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2015)06-0880-07

## Effects of carbon and nitrogen source on the adsorption and reduction of U(VI) by *Pseudomonas Fluorescent*

ZONG Mei-rong<sup>1,2</sup>, DONG Fa-qin<sup>2</sup>, LIU Ming-xue<sup>2</sup>, SUN Shi-yong<sup>2</sup>, GUO Yu-ting<sup>2</sup>, ZHOU Qing<sup>1</sup>, WU Chuan-long<sup>2</sup> and QIN Yong-lian<sup>1</sup>

(1. School of Environment and Resource, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China; 2. Key Laboratory of Solid Waste Treatment and Resource Recycle, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China)

**Abstract:** The aim of this study is to reveal the effects of the  $\text{UO}_2^{2+}$  complexes and *P. Fluorescens* on adsorption and reduction of uranium under the condition of different carbon and nitrogen sources of CZA (Czapek-Dox medium). On the basis of the formulation of CZA, sugar was replaced by glucose and sodium nitrate was replaced by ammonium chloride, and then the Visual MINTEQ was used to analyze the  $\text{UO}_2^{2+}$  complexes. The results show that different types of carbon and nitrogen sources have no effects on the growth of *P. Fluorescens*. There exist different types of complexes of  $\text{UO}_2^{2+}$  when uranium concentration is changed.  $\text{UO}_2^{2+}$  mainly occurs as  $\text{UO}_2\text{PO}_4^-$  when uranium concentration is 10 mg/L, and as  $\text{UO}_2(\text{SO}_4)_2^{2+}$  when uranium concentration is 50 to 200 mg/L in CZA medium.  $\text{UO}_2^{2+}$  exists as  $\text{UO}_2\text{HPO}_4(\text{aq})$  when dextrose serves as carbon source, and as  $\text{UO}_2\text{Cl}_2(\text{aq})$

收稿日期: 2015-09-07; 修订日期: 2015-10-13

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2014CB846003); 研究生创新基金(14cyx0034); 国家自然科学基金(41272371)

作者简介: 宗美荣(1984-), 女, 汉, 研究生在读, 研究方向为光催化还原重金属, E-mail: meirongzong@163.com; 通讯作者: 董发勤, E-mail: faqindong@swust.edu.cn.

when ammonium chloride serves as nitrogen source. The tolerance concentration of uranium for fluorescent pseudomonas is higher than 100 mg/L in general, and loses its activity at 200 mg/L. Compared with live and inactivation of *P. Fluorescens*, carbon and nitrogen sources have little effects on the adsorption and reduction of uranium. The adsorptions range from 84.02% to 92.59% and 3.32% to 10.94%, and the reduction rates range from 3.32% to 10.94% for living *P. Fluorescens*. The adsorption rates are 24.33% ~ 39.05% and the reduction rates are 37.50% ~ 44.58% for inactivated *P. Fluorescens*. The reduction rate of uranium is 53.12% when glucose is used as carbon source. The results indicate that inactive bacteria and reductive glucose as carbon source synergistically reduce uranium. However, no obviously synergistically effects exist for *P. Fluorescens* under living conditions.

**Key words:** *Pseudomonas Fluorescens*; carbon and nitrogen source;  $\text{UO}_2^{2+}$ ; adsorption and reduction; visual MINTEQ

铀矿开采和核工业活动产生的含铀废水毒性大且具有一定的放射性,对人体健康和生态环境具有重大危害。因此,探索发展经济高效的含铀废水处理方法具有重要意义。含铀废水中,铀离子存在多种价态与形态,其中较常见且稳定的是四价和六价。溶液中的四价铀 U(IV)容易与无机碳形成稳定的络合物,最终形成沉淀。六价铀 U(VI)可溶性较好,不易去除,且易与溶液中的阴阳离子发生络合,络合物的络合形态与环境 pH 值也有一定的关系。因此,含铀废水的处理主要是指去除六价铀及其化合物。在近二十年中,针对含 U(VI)废水特点,国内外发展了多种处理方法及工艺,常见的主要有生物或化学吸附法、化学沉淀法、矿石还原法、微电解法等(Ganesh *et al.*, 1999; Sharma and Tomar, 2008; Xie *et al.*, 2008, 2009; Wang *et al.*, 2009, 2010; Sprynsky *et al.*, 2010; Ozay *et al.*, 2011; Abbasizadeh *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2013)。

生物吸附核素离子的方式主要有两种(Dakovic *et al.*, 2008):一种是活细胞的代谢性富集;另一种则是非代谢性的被动吸附。前者需要微生物代谢活动提供能量,且具有一定的选择性,核素离子的吸附主要是替代与其化学性质或离子结构相似的其它元素。后者主要是通过细胞壁上的化学基团与核素离子发生螯合等作用进行的被动吸附(Satpati *et al.*, 2015)。此外,利用微生物通过改变重金属价态进而降低重金属毒性,是微生物处理重金属污染的又一种途径。针对变价核素铀,若存在某种微生物既能将铀由高毒性 U(VI)转变为低浓度 U(IV),同时又能将还原后的物质吸附去除,那将是核素生物处理技术的又一进步。现研究发现荧光假单胞菌是一种同时具有吸附和还原性的微生物。如荧光假单胞菌

处理含铬废水时对铬的平均吸附率可达 89.70% (李海华等, 2011a, 2011b)。研究发现,以柠檬酸钠为电子供体时,荧光假单胞菌可以将溶液中的亚硒酸钠完全还原为红色单质硒并主要积累于胞外,且其还原主要发生在细胞膜及胞质内(蒋华东等, 2010)。此外,荧光假单胞菌作为种植土壤常见根际菌群,可利用多种碳源和氮源(彭珺, 2006)。为此,本文选取不同的碳源与氮源,研究荧光假单胞菌对重金属核素铀的吸附与还原作用。

本文选取荧光假单胞菌,基于查氏培养基,替代培养基中的碳源与氮源,在培养基中添加不同浓度的 U(VI)。研究不同碳氮源培养基中,铀酰离子的络合形态,以及荧光假单胞菌对 U(VI)的吸附和还原作用。同时,对于还原性葡萄糖与荧光假单胞菌对铀还原的协同作用也进行了研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

荧光假单胞菌(*Pseudomonas Fluorescent*),由实验室分离、鉴定并保藏(刘佳等, 2008)。该菌株已于 2008 年 1 月 2 日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物保藏中心,保藏号为 CGMCCNo. 2318。

### 1.2 培养基配制与培养

基于查氏培养基,替换蔗糖为葡萄糖即葡萄糖碳源培养基,氯化铵替代硝酸钠即氯化铵氮源培养基。配制方法如下,查氏培养基:  $\text{NaNO}_3$  2 g、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g、 $\text{KCl}$  0.5 g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g、蔗糖 20 g、蒸馏水 1 000 mL;葡萄糖碳源培养基:  $\text{NaNO}_3$  2 g、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

0.5 g、KCl 0.5 g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g、葡萄糖 40 g、蒸馏水 1 000 mL；氯化铵氮源培养基： $\text{NH}_4\text{Cl}$  1.4 g、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g、KCl 0.5 g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g、蔗糖 30 g、蒸馏水 1 000 mL。U(VI) 的设定浓度分别为 0、10、50、100、200 mg/L。

将菌株接种于经灭菌的 3 种基础培养基中，35℃ 条件下振荡培养 30 h，菌种活化后。以 10% 接种量转接到新鲜基础培养基中培养 30 h，重复 2 次，备用。

### 1.3 实验方法

称取 2.109 2 g  $\text{UO}_2(\text{NO}_3) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  溶于 1 000 mL 超纯水中，加入 1 mL 浓  $\text{HNO}_3$ ，配制 U(VI) 浓度为 1 000 mg/L 的溶液作为标准储备液。U(VI) 浓度测试利用 732 型可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。准确移取 1 mL 待测溶液于 50 mL 比色管中，加入 2 mL 0.05% 偶氮胂 III，用超纯水定容，652 nm 处测试其吸光度(张丽华等，2006)。其标准曲线方程为  $y = 0.004x + 0.024$  ( $R^2 = 0.995$ )。利用 iCAP6500 电感耦合等离子体发射光谱仪(美国 Thermo Fisher 公司)测试上清液中铀离子的总浓

度， $C_{\text{四价铀}} = C_{\text{总}} - C_{\text{六价铀}}$ 。荧光假单胞菌的生长曲线测试是利用分光光度计在 540 nm 下间断取样测吸光度。稀释平板涂布法测试菌落总数，每个样品为 3 个平行样。

Visual MINTEQ 是一个化学平衡模拟软件，用于解决基本的水化学类型问题，该软件普遍用于水中溶解离子形成的模拟(杨新周等，2011)，溶液条件下离子存在形态的模拟结果与 Pourbaix Atlas 手册相符(Gavrilescu *et al.*, 2009)。不同条件下铀酰离子的络合形态分析采用 Visual MINTEQ 软件模拟法。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同碳氮源、U(VI) 浓度对荧光假单胞菌生长的影响

不同碳氮源培养基条件下荧光假单胞菌的生长曲线如图 1a 所示。由图 1a 可知，碳氮源的种类对荧光假单胞菌生长影响较小。荧光假单胞菌菌落平板如图 1b、1c、1d 所示，3 种培养基中的菌落平均总数相近，分别为 259、271、268 cfu/平板。葡萄糖碳源培

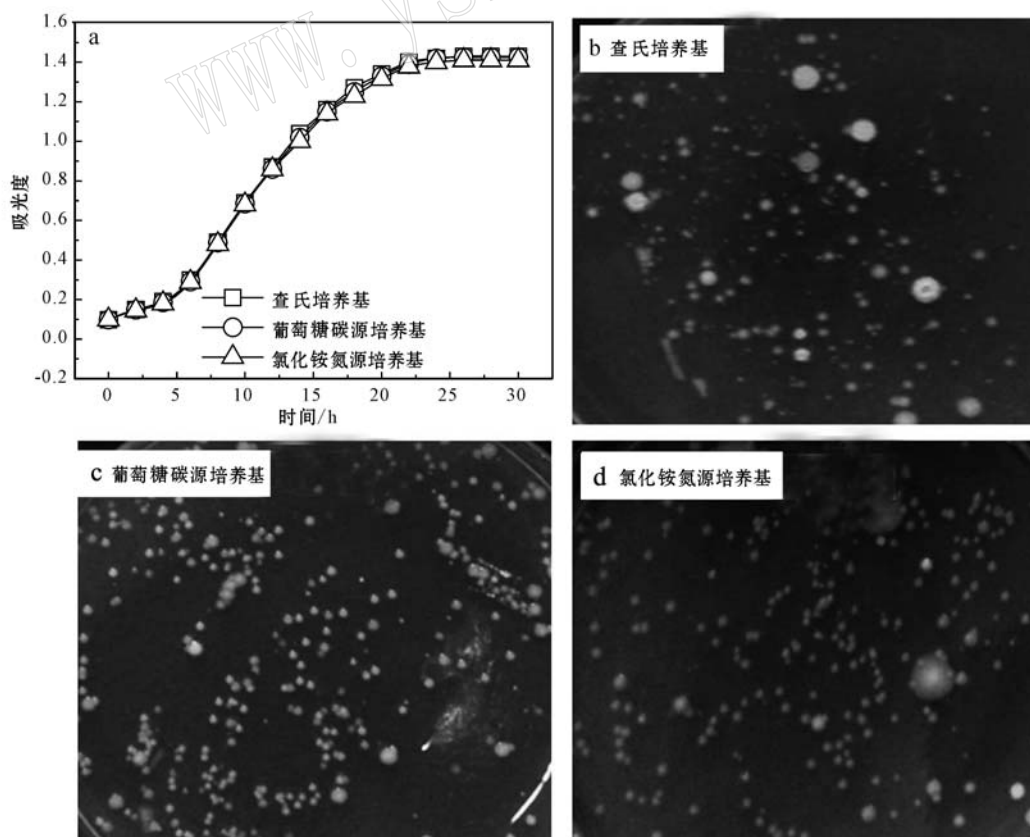


图 1 不同培养基下荧光假单胞菌的生长曲线及平板菌落分布  
Fig. 1 Growth curves and plate counting of *P. Fluorescent* under different culture conditions

培养基的菌落总数高于查氏培养基,是由于葡萄糖作为单糖可直接供微生物利用,蔗糖为二糖在溶液中水解后间接利用。氯化铵氮源培养基菌落总数高于查氏培养基,相关研究表明环境中氨类物质能促进荧光假单胞菌群落的生长(王晶莹,2012)。

荧光假单胞菌对于铀的耐受性曲线如图 2 所示。U(VI)浓度为 10 mg/L 时,对微生物生长影响较小。高浓度的铀具有一定的重金属毒性和放射性,铀酰离子的加入也严重影响了培养基的 pH 值(表 1)。随着 U(VI)浓度的增大,微生物进入对数期的时间不断延长。当铀浓度达到 200 mg/L 时,微生物已经失活。

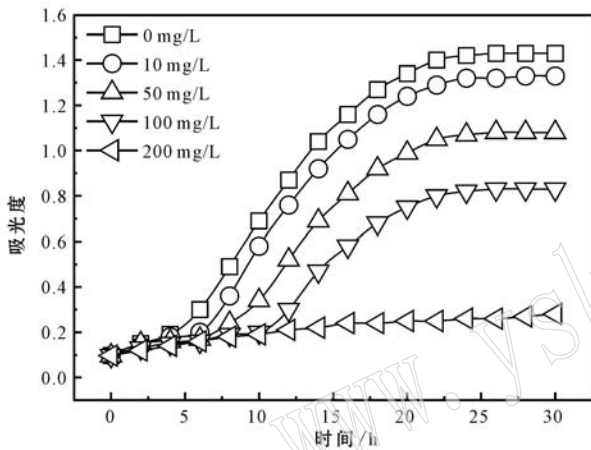


图 2 查氏培养基不同 U(VI)浓度下荧光假单胞菌的生长曲线

Fig. 2 Growth curves of *Pseudomonas Fluorescent* in Czapek's culture medium with different concentrations of U(VI)

表 1 不同浓度 U(VI)时各培养基的 pH 值

Table 1 pH values of the culture medium under different concentrations of U(VI)

浓度/mg·L <sup>-1</sup>	0	10	50	100	200
查氏培养基	8.27	7.32	3.27	2.34	1.92
葡萄糖碳源培养基	8.29	7.28	3.02	2.29	1.91
氯化铵氮源培养基	7.6	7.1	3.21	2.35	1.92

### 2.2 不同碳氮源培养基中 UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> 的络合形态

含不同浓度 U(VI)的各培养基 pH 值如表 1 所示。可知,随着铀浓度的增大,培养基 pH 值不断减小。U(VI)浓度为 200 mg/L 时,pH 值低至 1.9 左右。U(VI)浓度在 0~10 mg/L 时,氯化铵氮源培养基的初始 pH 值低于查氏培养基和葡萄糖碳源培养基,这与偏中性环境下 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 易电离为 NH<sub>3</sub> 与 1 个 H<sup>+</sup> 离子,电离出的 H<sup>+</sup> 会降低溶液的 pH 值有关。

查氏与葡萄糖碳源培养基中存在的阴离子有: NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Cl<sup>-</sup>。其中含量最高的是 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>,为 1460 mg/L,其次为 HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 560 mg/L,SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 和 Cl<sup>-</sup> 含量较低,分别为 203 mg/L 和 260 mg/L。HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 在溶液中的存在形态与环境 pH 值有很大关系。偏碱性溶液中,HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 易电离为 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 和 H<sup>+</sup>。酸性环境中,PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 与溶液中的 H<sup>+</sup> 再次结合为 HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 甚至 H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>。UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> 与溶液中阴离子的络合能力与阴离子表面所带负电荷数有关,无其它离子的影响时,各离子与 UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> 的络合能力为 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> > SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> > HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> > H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> > Cl<sup>-</sup>。查氏与葡萄糖碳源培养基中铀酰离子的络合形态模拟结果如表 2 所示。U(VI)浓度为 10 mg/L 时,pH 值为 7.3 左右,培养基中铀酰离子的络合形态主要为 UO<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>,其次是 UO<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(aq)和 UO<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub><sup>2-</sup>,溶液中有少量的黄绿色磷酸铀酰沉淀产生。U(VI)浓度为 50~100 mg/L 时,pH 值为 2.29~3.27,铀酰离子的络合形态主要为 UO<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub><sup>2-</sup>。U(VI)浓度达 200 mg/L 时,铀酰离子的络合形态主要为 UO<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub><sup>2-</sup>,其次是 UO<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(aq)、UO<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(aq)、UO<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>+</sup>、UO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(aq),还含少量的 UO<sub>2</sub>Cl<sup>+</sup>、UO<sub>2</sub>H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 UO<sub>2</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup>。

铀酰离子在氯化铵氮源培养基中的络合形态模拟结果如表 3 所示。氯化铵氮源培养基中 Cl<sup>-</sup> 含量最高,为 1190 mg/L,是其它阴离子的 2~5 倍。U(VI)浓度为 10 mg/L 时,培养基中铀酰离子的络合形态主要为 UO<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> 与 UO<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(aq),并有少量沉

表 2 查氏及葡萄糖碳源培养基中不同浓度 U(VI) % 中铀酰离子络合形态与浓度

Table 2 Chemical species and concentrations of UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> in Czapek's culture medium and glucose as carbon sources

U(VI)浓度/mg·L <sup>-1</sup>	10	50	100	200
UO <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	85.904	—	—	—
UO <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup>	6.656	99.84	99.732	83.893
UO <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (aq)	—	0.059	0.178	3.324
UO <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (aq)	7.438	0.099	0.075	—
UO <sub>2</sub> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	—	—	—	0.165
UO <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (aq)	—	—	—	3.301
UO <sub>2</sub> Cl <sup>+</sup>	—	—	—	0.174
UO <sub>2</sub> NO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	—	—	—	0.048
UO <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (aq)	—	—	—	7.622
UO <sub>2</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>+</sup>	—	—	—	1.471

注:“—”表示无此络合形态。



表3 氯化铵氮源培养基中不同浓度U(VI)中铀酰离子的络合形态与浓度

Table 3 Chemical species and concentrations of  $UO_2^{2+}$  in Czapek's culture medium using nitrogen source of  $NH_4Cl$

U(VI)浓度/ $mg \cdot L^{-1}$	10	50	100	200
$UO_2PO_4^-$	87.435	—	—	—
$UO_2HPO_4(aq)$	12.564	—	—	—
$UO_2PO_4^-$	—	0.072	—	—
$UO_2Cl_2(aq)$	—	19.117	65.341	83.909
$UO_2Cl^+$	—	0.218	0.781	1.121
$UO_2HPO_4(aq)$	—	79.788	31.476	12.23
$UO_2H_2PO_4^+$	—	0.79	2.257	2.36
$UO_2H_3PO_4^+$	—	—	0.094	0.265
$UO_2SO_4(aq)$	—	—	0.019	0.03
$UO_2NO_3^+$	—	—	0.025	0.079

注：“—”表示无此络合形态。

淀。由于培养基中的  $NH_4^+$  结合了大部分  $SO_4^{2-}$ , 减少了  $SO_4^{2-}$  与  $HPO_4^{2-}$  的竞争吸附。当 U(VI) 浓度达 50 mg/L 时, 铀酰离子存在的形式主要为  $UO_2HPO_4(aq)$ , 其次为  $UO_2Cl_2(aq)$ 。U(VI) 浓度高于到 100 mg/L 时, 铀酰离子在溶液中的络合形态依次为  $UO_2Cl_2(aq)$ 、 $UO_2HPO_4(aq)$ 、 $UO_2H_2PO_4^+$ 。

### 2.3 pH 值对荧光假单胞菌对铀吸附与还原的影响

荧光假单胞菌对铀的吸附、还原率与 pH 值的关系如图 3 所示。随着 pH 值的降低, 逐渐偏离微生物的最佳生长环境(李海华等, 2011b), 荧光假单胞菌的生物活性逐渐降低, 吸附率总体呈现下降趋势, 但还原率呈上升趋势。U(VI) 浓度为 10 mg/L 时, 培养基的 pH 值高于 5, 溶液中有少量黄绿色沉淀产生。培养基中可溶性铀及其化合物含量较少, 微

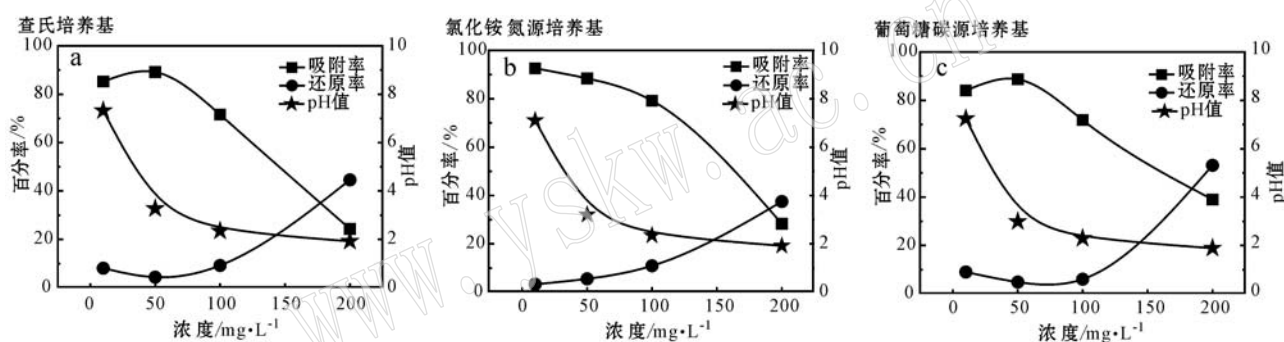


图3 pH 值与吸附和还原率的关系

Fig. 3 The influence of adsorption and reduction rates under different pH culture conditions

生物吸附到体内的重金属含量较低, 还原率较低。随着铀浓度增大, pH 值逐渐降低至小于 5, 溶液中无沉淀产生, 铀酰离子以磷酸络合态为主, 溶液中游离的铀酰离子增多, 增加了荧光假单胞菌与铀的接触机率, 提高了微生物的代谢吸附。U(VI) 达 200 mg/L 时, pH 值低于 2, 微生物失活, 细胞破碎, 铀酰离子在溶液中络合物形态稳定且可溶性高, 微生物对铀的吸附率迅速下降, 但由于细胞破碎致使细胞膜或细胞质上具有生物活性的还原点位暴露在溶液当中, 提高了 U(VI) 的还原率。

### 2.4 荧光假单胞菌对铀的吸附和还原作用研究

荧光假单胞菌在不同培养基和铀浓度条件下对铀的吸附率如图 4a 所示。不同碳氮培养基中, 微生物对铀的吸附率均在 U(VI) 为 50 mg/L 时达到最大, 分别为 89.14% 和 88.68%。随着 U(VI) 浓度增大, 不同培养基条件下荧光假单胞菌对铀的吸附率

总体呈下降趋势。U(VI) 浓度低于 100 mg/L 时荧光假单胞菌为活体, 其对铀吸附率的降低一方面是随着 U(VI) 浓度的增加, 培养基的 pH 值逐渐降低导致荧光假单胞菌细胞活性降低, 减少了微生物代谢吸附; 另一方面是因为铀在 pH 值较低的溶液下, 易与环境中存在的阴离子形成稳定的络合物。U(VI) 浓度达到 200 mg/L 时, 荧光假单胞菌失活, 其对铀的吸附为非代谢型吸附(张伟等, 2006), 吸附率大大降低, 为活体吸附率的 0.3~0.5 倍。

不同碳氮源培养基中荧光假单胞菌对铀的还原率分布如图 4b 所示。微生物活体条件下对铀的还原率(3.23%~10.94%)远小于死体条件下对铀的还原率(37.50%~53.12%)。死体条件下微生物细胞膜破碎, 使具有活性的细胞膜碎片及还原性细胞质等物质暴露于培养基中(岳洪霞等, 2010), 缩短了还原点位与六价铀的结合路程, 增大了还原点位的

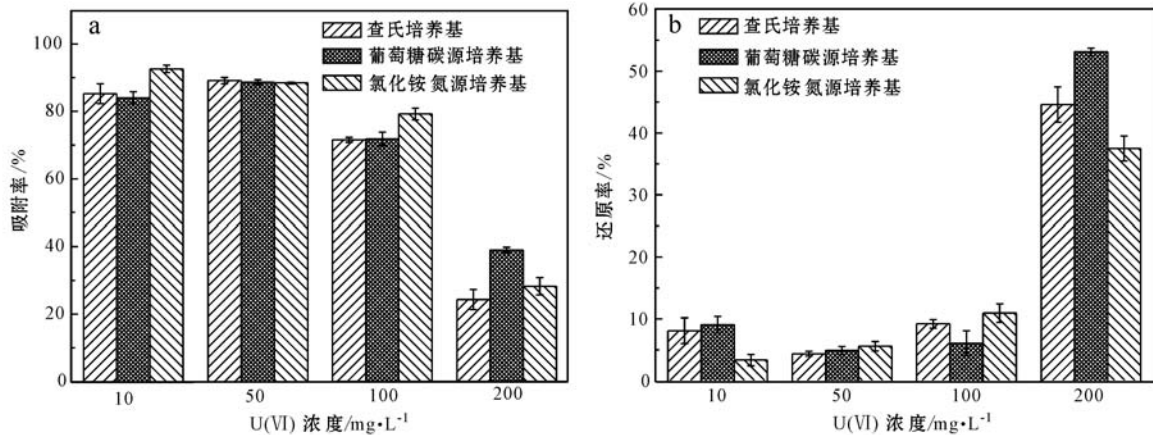


图 4 同一培养基 U(VI) 浓度对荧光假单胞菌吸附和还原铀的影响

Fig. 4 The influence of U(VI) concentrations on adsorption and reduction of U(VI) by *Pseudomonas Fluorescens* under the same culture condition

接触面。此外,菌体失活时培养基成分未充分利用,葡萄糖分子中含具有还原性的醛基,多余的葡萄糖对六价铀也具有一定的还原作用,含葡萄糖的培养基中铀的还原率高于其它两者。查氏培养基六价铀的还原率为 44.58%,葡萄糖碳源培养基还原率为 53.12%,葡萄糖碳源与荧光假单胞菌对铀的还原具有协同作用。

### 3 结论

(1) 作为土壤常见菌,荧光假单胞菌可利用多种碳源与氮源。蔗糖与葡萄糖、硝酸钠与氯化铵对其生长影响较小。荧光假单胞菌对 U(VI) 耐受浓度高于 100 mg/L,当 U(VI) 达到 200 mg/L 时,菌体失活。

(2) U(VI) 为 10 mg/L 时,3 种培养基中铀酰离子的主要络合形态均为  $\text{UO}_2\text{PO}_4^-$ 。U(VI) 为 50~200 mg/L 时,查氏培养基和葡萄糖碳源培养基中铀酰离子的主要络合形态均为  $\text{UO}_2(\text{SO}_4)_2^-$ 。氯化铵氮源培养基条件下,U(VI) 浓度达 50 mg/L 时,铀酰离子的主要络合形态为  $\text{UO}_2\text{HPO}_4(\text{aq})$ ;U(VI) 为 100~200 mg/L 时,铀酰离子的主要形态为  $\text{UO}_2\text{Cl}_2(\text{aq})$ 。

(3) U(VI) 浓度的增加使培养基的 pH 值逐渐降低,进而影响微生物活性和铀酰离子的络合形态。U(VI) 浓度小于或等于 100 mg/L 时,微生物为活体,随着培养基 pH 值的降低,荧光假单胞菌对铀吸附率呈下降趋势,还原率呈上升趋势;U(VI) 浓度达 200 mg/L 时,pH 值为 1.92,菌体失活细胞破碎,培

养基中暴露的具有活性的还原点位更易与铀酰离子结合,U(VI) 的还原率达到最高。

(4) U(VI) 浓度小于或等于 100 mg/L,荧光假单胞菌为活体条件下,荧光假单胞菌对铀的吸附主要为代谢性吸附,吸附率最高可达 92.59%,对铀的价态转变率较低。U(VI) 浓度达 200 mg/L 时荧光假单胞菌失活,对铀的吸附主要为非代谢性吸附,吸附率下降,低至 24.33%。菌体失活破碎使其一定生物活性的细胞膜和细胞质等物质暴露于溶液中,增大了铀与还原点位的结合路程与面积。同时由于细胞失活,培养基成分未被充分利用,葡萄糖分子中含有的醛基具有还原作用,致使以葡萄糖为碳源的培养基中铀的还原率最高达 53.12%。还原性葡萄糖与荧光假单胞菌对铀的还原具有协同作用。

### References

- Abbasizadeh S, Keshtkar A R and Mousavian M A. 2013. Preparation of a novel electrospun polyvinyl alcohol/titanium oxide nanofiber adsorbent modified with mercapto groups for uranium(VI) and thorium(IV) removal from aqueous solution[J]. *Chemical Engineering Journal*, 220: 161~171.
- Dakovic M, Kovacevic M, Andjus P R, et al. 2008. On the mechanism of uranium binding to cell wall of *Chara fragilis*[J]. *European Biophysics Journal*, 37(7): 1111~1117.
- Ganesh R, Robinson K G, Chu L, et al. 1999. Reductive precipitation of uranium by *Desulfovibrio desulfuricans*: evaluation of cocontaminant effects and selective removal[J]. *Water Research*, 33(16):

- 3 447~3 458.
- Gavrilescu M, Pavel L V and Cretescu I. 2009. Characterization and remediation of soils contaminated with uranium[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 163(2): 475~510.
- Jiang Huadong, He Xiaohong, Zhang Lixia, *et al.* 2010. Reduction of selenite to elemental red selenium under aerobic condition by *Pseudomonas alcaliphila* MBR[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 50(10): 1 347~1 352(in Chinese).
- Li Haihua, Bai Guoqiang and Fu Yingying. 2011a. Removal of  $\text{Cr}^{6+}$  from industry wastewater by *Aspergillus Niger* and *Pseudomonas Fluorescent*[J]. *Water-saving Irrigation*, 43~45(in Chinese).
- Li Haihua, Ying Yimei and Fu Yingying. 2011b. Study on remove characteristics of heavy metal waste water treatment using *Pseudomonas Fluorescens*[J]. *Yellow River*, 33(11): 105~106(in Chinese).
- Liu Jia, Li Daping, Liu Qiang, *et al.* 2008. Identification of dissimilatory nitrate reduction to ammonium bacterium and biomineralization [J]. *Journal of Sichuan University (Natural Science Edition)*, 45 (3): 651~655(in Chinese).
- Li X, Zhang M, Liu Y, *et al.* 2013. Removal of U(VI) in aqueous solution by nanoscale zero-valent iron (nZVI)[J]. *Water Quality, Exposure and Health*, 5(1): 31~40.
- Ozay O, Ekici S, Aktas N, *et al.* 2011. P (4-vinyl pyridine) hydrogel use for the removal of and  $\text{Th}^{4+}$  from aqueous environments[J]. *Journal of Environmental Management*, 92(12): 3 121~3 129.
- Peng Jun. 2006. Study on Isolation, Identification and Genetic Diversity of *Pseudomonas Fluorescens*[D]. Shanghai Normal University (in Chinese).
- Satpati S K, Pal S, Goswami D, *et al.* 2015. Extraction of uranium from nuclear industrial effluent using polyacrylhydroxamic acid sorbent[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(1): 255~262.
- Sharma P and Tomar R. 2008. Synthesis and application of an analogue of mesolite for the removal of uranium(VI), thorium(IV), and europium(III) from aqueous waste[J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 116(1): 641~652.
- Sprynskyy M, Kovalchuk I and Buszewski B. 2010. The separation of uranium ions by natural and modified diatomite from aqueous solution[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 181(1): 700~707.
- Wang Jingying. 2012. The Effect of Manure and Chemical Fertilizing on Nitrogen Transformation and Functional Bacia Diversity in Soil[D]. Northeast Agricultural University(in Chinese).
- Wang G, Wang X, Chai X, *et al.* 2010. Adsorption of uranium(VI) from aqueous solution on calcined and acid-activated kaolin[J]. *Applied Clay Science*, 47(3): 448~451.
- Wang G, Liu J, Wang X, *et al.* 2009. Adsorption of uranium(VI) from aqueous solution onto cross-linked chitosan[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 168(2): 1 053~1 058.
- Xie Shuibo, Zhang Chun, Zhou Xinghuo, *et al.* 2009. Removal of uranium(VI) from aqueous solution by adsorption of hematite[J]. *Journal of Environmental Radioactivity*, 100(2): 162~166.
- Xie S, Yang J, Chen C, *et al.* 2008. Study on biosorption kinetics and thermodynamics of uranium by *Citrobacter freudii*[J]. *Journal of Environmental Radioactivity*, 99(1): 126~133.
- Yang Xinzhou, Zhou Xuejin, Yang Shuke, *et al.* 2011. Visual MINTEQ modling reearch on trace elements in tea infusion[J]. *Journal of Tea Science*, 31(5): 453~457 (in Chinese).
- Yue Hongxia, Zhao Yiangying, Tian Yanjun, *et al.* 2010. The effect of cell disruption on chitin deacefylase activity[J]. *Shandong Food Fermentation*, 156(1): 3~7(in Chinese).
- Zhang Lihua, Liu Huanlang, Song You, *et al.* 2006. Determination of uranium in high-level liquid waste by spectrophotometry[J]. *China Nuclear Science and Technology Report*, 2: 14(in Chinese).
- Zhang Wei, Dong Faqin and Dai Quiwei. 2006. Microbial accumulation of uranium[J]. *Uranium Mining and Metallurgy*, 24(4): 198~202(in Chinese).

#### 附中文参考文献

- 蒋华东, 何晓红, 张礼霞, 等. 2010. 一株假单胞菌 (*Pseudomonas-alcaliphila* MBR) 好氧还原亚硒酸钠为红色单质硒[J]. *微生物学报*, (10): 1 347~1 352.
- 李海华, 白国强, 付莹莹. 2011a. 黑曲霉, 荧光假单胞菌去除  $\text{Cr}^{6+}$  工业废水实验研究[J]. *节水灌溉*, (2): 43~45.
- 李海华, 应一梅, 付莹莹. 2011b. 荧光假单胞菌对重金属废水的去除特性研究[J]. *人民黄河*, 33(11): 105~106.
- 刘佳, 李大平, 刘强, 等. 2008. 一株好氧 DNRA 细菌的分离鉴定及其诱导的生物矿化[J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 45 (3): 651~655.
- 彭珺. 2006. 荧光假单胞菌的分离, 鉴定及遗传多样性研究[D]. 上海师范大学.
- 王晶莹. 2012. 农肥和化肥对土壤氮素转化和功能细菌多样性的影响 [D]. 东北农业大学.
- 杨新周, 周学进, 杨树科, 等. 2011. 茶叶浸泡液中微量元素形态的 Visual MINTEQ 软件模拟分析[J]. *茶叶科学*, 31(5): 453~457.
- 岳洪霞, 赵祥颖, 田延军, 等. 2010. 细胞破碎方法对几丁质脱乙酰酶活性的影响[J]. *山东食品发酵*, 156(1): 3~7.
- 张丽华, 刘焕良, 宋游, 等. 2006. 分光光度法测定高放废液中的铀[J]. *中国核科技报告*, 2: 14.
- 张伟, 董发勤, 代群威. 2006. 微生物富集铀[J]. *铀矿冶*, 24(4): 198~202.