

## *Bacillus* sp. T124对六价铬的生物还原

姜毅, 汤鼎, 周宇诚, 丁聪聪, 赵兴青, 柴育红

### 引用本文:

姜毅, 汤鼎, 周宇诚, 丁聪聪, 赵兴青, 柴育红. *Bacillus* sp. T124对六价铬的生物还原[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(5): 967-97-09-1.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1046>

## 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

### Cr(VI)还原菌 *Microbacterium* sp. QH-2对铝氧化物吸附铬影响的研究

王春勇, 张震斌, 崔岩山, 朱博, 商井远, 陈玥琪

农业环境科学学报. 2021, 40(4): 801-805 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1141>

### 生物炭基硫酸盐还原菌(SRB)对Cr(VI)的吸附效应及作用机制

朱晓丽, 李雪, 寇志健, 王军强, 尚小清, 陈超

农业环境科学学报. 2021, 40(4): 866-875 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1156>

### 硫掺杂零价铁去除Cr(VI)的机理及环境影响因素

刘丽, 梁乐缤, 时悦, 王小治, 封克, 王圣森

农业环境科学学报. 2021, 40(5): 1079-1087 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1225>

### 光合细菌和生物炭对污染土壤中铬的稳定化效果及小白菜生长的影响

任晓斌, 白红娟, 卫燕红, 马瑞, 贾万利, 杨官娥

农业环境科学学报. 2021, 40(10): 2141-2149 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0162>

### *Shewanella oneidensis* MR-1异化铁还原诱导次生矿物固定镉

童昆, 徐成, 吴峥, 司友斌

农业环境科学学报. 2021, 40(10): 2114-2123 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0496>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

姜毅, 汤鼎, 周宇诚, 等. *Bacillus* sp. T124对六价铬的生物还原[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(5): 967-975.

JIANG Y, TANG D, ZHOU Y C, et al. Bioreduction of Cr(VI) by *Bacillus* sp. T124[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(5): 967-975.



开放科学 OSID

## *Bacillus* sp. T124对六价铬的生物还原

姜毅<sup>1</sup>, 汤鼎<sup>1</sup>, 周宇诚<sup>1</sup>, 丁聪聪<sup>1</sup>, 赵兴青<sup>1\*</sup>, 柴育红<sup>1,2</sup>

(1. 常州大学环境与安全工程学院, 江苏 常州 213164; 2. 常州大学怀德学院, 江苏 靖江 214500)

**摘要:**为进一步了解菌株还原Cr(VI)的机理,从矿区周边重金属污染土壤中筛选出一株对Cr耐受的菌株*Bacillus* sp. T124,对该菌株去除Cr(VI)的效率和Cr(VI)的还原产物进行了研究。结果表明:*Bacillus* sp. T124可以有效去除Cr(VI),在Cr(VI)初始浓度为100 mg·L<sup>-1</sup>的LB培养基中48 h还原率达到43.2%。此外,在作为菌体电子供体的6种碳源(葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖、乙酸钠和甘露醇)中,果糖对Cr(VI)的还原效果最好,在不同共存离子存在条件下,HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>的添加对Cr(VI)的生物还原抑制作用最明显。扫描电镜(SEM)的结果显示,经Cr(VI)处理后的细胞形态未发生明显变化;X射线衍射(XRD)和拉曼图谱的分析表明菌株对Cr(VI)的还原产物为Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>;傅里叶红外光谱(FT-IR)的结果表明还原过程有烷基和羧基以及多糖的参与,并且通过X射线电子能谱(XPS)的分析确定了去除Cr(VI)的途径为生物还原而非生物吸附。研究表明,生物还原是*Bacillus* sp. T124去除Cr(VI)的主要途径,碳源和共存离子是*Bacillus* sp. T124对Cr(VI)还原过程中的关键因素。

**关键词:** 铬;芽孢杆菌;生物还原;共存离子;环境修复

中图分类号: X172 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2022)05-0967-09 doi:10.11654/jaes.2021-1046

### Bioreduction of Cr(VI) by *Bacillus* sp. T124

JIANG Yi<sup>1</sup>, TANG Ding<sup>1</sup>, ZHOU Yucheng<sup>1</sup>, DING Congcong<sup>1</sup>, ZHAO Xingqing<sup>1\*</sup>, CHAI Yuhong<sup>1,2</sup>

(1. School of Environmental and Safety Engineering of Changzhou University, Changzhou 213164, China; 2. Huaide College of Changzhou University, Jingjiang 214500, China)

**Abstract:** To better understand the mechanism of reducing Cr(VI), a Cr tolerant strain *Bacillus* sp. T124 from a heavy metal polluted soil around a mining area was screened; the efficiency of removing Cr(VI), and the reducing products of the strain were studied. Results showed that *Bacillus* sp. T124 could effectively remove Cr(VI), and the reduction rate was 43.2% in LB medium with an initial concentration of 100 mg·L<sup>-1</sup> of Cr(VI) for 48 h. In addition, among the bacterial electron donor for Cr(VI) reduction, fructose was the most effective of the six carbon sources (glucose, fructose, sucrose, lactose, sodium acetate, and mannitol) Cr(VI), and the addition of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> had the most obvious inhibitory effect on the biological reduction of Cr(VI). Scanning electron microscope (SEM) results showed no significant changes in the morphology of the cells treated with Cr(VI). Diffraction of X-rays (XRD) and Raman spectra revealed that the reduction product of Cr(VI) was Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR) results showed that alkyl and carboxyl groups and polysaccharides were involved in the reduction process, and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) analysis suggested that the way to remove Cr(VI) was bioreduction rather than biosorption. These results showed that bioreduction was the main process that *Bacillus* sp. T124 use in removing Cr(VI), and carbon source and coexisting ions were the key factors involved in the process of Cr(VI) removal by *Bacillus* sp. T124.

**Keywords:** chromium; *Bacillus*; bioreduction; coexisting ions; environmental remediation

收稿日期: 2021-09-09 录用日期: 2021-11-23

作者简介: 姜毅(1997—),男,江苏南通人,硕士研究生,研究方向为环境工程。E-mail: 1135763883@qq.com

\*通信作者: 赵兴青 E-mail: zhaoxq@cczu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(41302025, 41541016); 国家自然科学基金重大研究计划项目(92062213)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41302025, 41541016); The Major Research Plan of the National Natural Science Foundation of China(92062213)

由于在工业中的广泛使用和排放,铬(Cr)成了一种常见的环境污染物<sup>[1]</sup>。Cr在环境中以多种价态存在,其中最常见和最稳定的是Cr(VI)和Cr(III)<sup>[2]</sup>。据报道,Cr(VI)较Cr(III)毒性更高,因为Cr(VI)具有很高的稳定性和细胞通透性<sup>[3]</sup>。因此,Cr(VI)已被许多国家指定为首要环境污染物之一<sup>[4]</sup>。而Cr(III)是维持人体新陈代谢和体内稳态所必需的,并且Cr(III)具有较低的毒性、迁移率和生物可利用度,这是因为其容易在环境中形成不溶的氢氧化物或氧化物<sup>[5]</sup>。因此,Cr(VI)污染的修复策略主要集中在将Cr(VI)还原为Cr(III)<sup>[6]</sup>。

近些年,已研究出多种将Cr(VI)转化为Cr(III)的方法,包括物理化学修复以及生物修复<sup>[7]</sup>。与生物修复相比,物理化学法快速有效,但存在操作复杂、设备昂贵和二次污染等缺点<sup>[8]</sup>。而生物修复由于成本低、环境友好等突出优势而备受关注<sup>[9]</sup>。

现在已经鉴定并分离出多种具有Cr(VI)去除能力的微生物,如 *Oceanobacillus oncorhynchi* W4<sup>[9]</sup>、*Bacillus* sp. M6<sup>[10]</sup>、*Pseudochrobactrum saccharolyticum* LY10<sup>[11]</sup>、*Desulfovibrio vulgaris*<sup>[12]</sup>、*Rhodobacter* sp. GSKRLMBKU-03<sup>[13]</sup>等。细菌还原Cr(VI)的机理主要有两种:一是间接还原,即通过细菌的代谢产物还原Cr(VI)<sup>[14]</sup>;二是直接还原,即通过细菌铬酸盐还原酶的酶促反应将Cr(VI)还原为Cr(III)<sup>[15]</sup>。ACKERLEY等<sup>[16]</sup>研究发现大肠埃希氏菌可产生一种氧不敏感性的酶——NfsA,这种酶可将Cr(VI)直接还原为Cr(III)。还有研究发现 *Shewanella oneidensis* MR-1<sup>[17]</sup>和 *Ochrobactrum* sp. <sup>[18]</sup>能将Cr(VI)还原为Cr(III)。然而,Cr(VI)生物修复过程的有效性主要取决于还原的最终产物<sup>[19]</sup>,先前的研究很大程度上忽略了Cr(III)产物的形成过程及对最终产物的表征分析。

还原产物的表征至关重要,我们不仅需要了解还原机理,还需要探究还原产物的形态和种类。耐Cr菌株 *Bacillus* sp. T124分离自长期受铬污染的土壤,本研究对该菌株还原Cr(VI)的效率和机理进行探究,并在最佳条件下评估了该菌株对Cr(VI)的还原能力。通过扫描电镜-能谱仪(SEM-EDS)分析菌株和还原产物的形态,利用X射线衍射(XRD)和拉曼光谱分析还原产物的构成,利用傅里叶红外光谱(FT-IR)和X射线电子能谱(XPS)分析还原产物的官能团变化和元素构成,以探索菌株的性质和还原产物的特征,从而了解Cr(VI)的还原机理。

## 1 材料与方 法

### 1.1 Cr(VI)还原菌株

从江苏某电镀工厂周边收集的Cr(VI)污染土壤中分离出耐受Cr(VI)且表现出最高Cr(VI)还原能力的菌株T124,16S rDNA基因序列分析将其鉴定为芽孢杆菌,命名为 *Bacillus* sp. T124。将菌株序列提交至GenBank 登记获得登录号为MN511807。LB液体培养基组成为:鱼粉蛋白胨10 g·L<sup>-1</sup>,酵母浸膏5 g·L<sup>-1</sup>,NaCl 5 g·L<sup>-1</sup><sup>[20]</sup>。将K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>溶解于去离子水中以制备Cr(VI)的储备溶液(10 g·L<sup>-1</sup>)<sup>[21]</sup>。完全抑制细菌生长的最低金属浓度被认为是最低抑制浓度(MIC),菌株T124的MIC值被确定为300 mg·L<sup>-1</sup>。

### 1.2 Cr(VI)浓度的测定

向含100 mg·L<sup>-1</sup> Cr(VI)的95 mL LB液体培养基中加入5 mL活化12 h后的菌液(OD<sub>600</sub>=1),将其置于37 °C的恒温振荡箱中以180 r·min<sup>-1</sup>的转速培养48 h。设置无细胞的培养基作为对照,以排除生物作用。所有实验均设置3个平行。分别在第0、2、4、6、8、10、12、24 h和48 h时取出2 mL样品置于比色管中。样品中的Cr(VI)浓度通过1,5-二苯碳酰二肼法测定<sup>[22]</sup>:将0.2 g 1,5-二苯碳酰二肼溶解在50 mL丙酮中,随后加入12.5 mL 85%的磷酸、12.5 mL 95%的浓硫酸以及50 mL的去离子水以获得显色剂;将2 mL显色剂添加至取出的2 mL待测样品中并用无菌水稀释至50 mL,在分光光度计上540 nm处测定混合溶液中的Cr(VI)浓度。

### 1.3 菌株T124还原Cr(VI)的影响因素

为了对菌株T124还原Cr(VI)的环境条件进行优化,在不同碳源和不同共存离子的条件下测定其对Cr(VI)的还原率。不同碳源(葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖、乙酸钠和甘露醇,15 mg·L<sup>-1</sup>,pH 7.0)下菌株对Cr(VI)的还原实验在Minimal salt medium(MSM)培养基(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 6.0 g·L<sup>-1</sup>,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.0 g·L<sup>-1</sup>,NaCl 0.5 g·L<sup>-1</sup>,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.246 g·L<sup>-1</sup>,CaCl<sub>2</sub> 0.5 g·L<sup>-1</sup>)中进行,在含有不同碳源的培养基中分别加入100 mg·L<sup>-1</sup>的Cr(VI)和5 mL活化后的菌液,将培养基置于恒温振荡箱(37 °C、170 r·min<sup>-1</sup>)培养2 d后取出测定Cr(VI)浓度。

不同共存离子(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>、Fe<sup>3+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>)下菌株对Cr(VI)的还原在LB液体培养基中进行,向各培养基中分别加入共存离子5 mg·L<sup>-1</sup>和15 mg·L<sup>-1</sup>,不同浓度的共存离子分为两组。随后加入

100 mg·L<sup>-1</sup>的Cr(VI)和5 mL活化后的菌液,将培养基置于恒温振荡箱(37 ℃、170 r·min<sup>-1</sup>)培养2 d后取出测定Cr(VI)浓度。共存离子与LB液体培养基分别于121 ℃高温灭菌30 min。

#### 1.4 SEM-EDS和XRD分析

通过离心(8 000 r·min<sup>-1</sup>、20 min)收集反应完全后的细胞和沉淀物,然后用磷酸盐缓冲液洗涤3次。冷冻干燥后的样品研磨后喷金即可上机。利用扫描电子显微镜&能谱仪(SEM & EDS,日本电子株式会社JSM-6360 LA型)对菌株的细胞形态和矿物沉淀的结构形态进行观察,并且利用能谱仪(EDS)对细胞表面成分和矿物沉淀成分进行详细的元素分析。

将离心后的沉淀物冷冻干燥并研磨成粉末,然后与光谱纯KBr以1 mg样品与100 mg KBr的比例混合压片。利用D-MAX2500型X-射线衍射仪(XRD,日本理学)对沉淀物中的矿物成分进行测定。测试参数为电压40 kV、电流40 mA,2θ角度范围为10°~90°,扫描速率为0.5°·min<sup>-1</sup>。使用MDI Jade软件(版本6, Materials, Data, Inc, 美国)对XRD数据进行分析<sup>[23]</sup>。

#### 1.5 拉曼光谱分析

利用LabRAM HR型拉曼光谱仪(Horiba-Jobin, 日本)分析与细菌细胞相关联的还原产物。制样方法同1.4,将2 mg样品粉末直接粘在双面碳导电胶上,测试参数为激发波长532 nm,分辨率为(2±1)cm<sup>-1</sup>,测量范围为250~3 000 cm<sup>-1</sup>,使用最大倍数(50倍)重复收集<sup>[24]</sup>。

#### 1.6 FT-IR和XPS分析

将反应完全后的样品以10 000 r·min<sup>-1</sup>离心20 min,得到的细胞重悬于100 mL 0.05 mol·L<sup>-1</sup>的磷酸盐缓冲液中(PBS, pH 7.0),充分搅拌,形成均匀的细胞悬液,然后再以10 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min。重复上述

步骤3次。将离心后的沉淀冷冻干燥并研磨成粉末,然后与光谱纯KBr以1 mg沉淀粉末与100 mg KBr的比例混合压片,在10 t·cm<sup>-2</sup>下静压2 min。采用Perkin-Elmer-Spectrum One型傅里叶变换红外光谱仪(Nicolt A vatar 370,美国尼高力仪器公司)收集波长范围为4 000~400 cm<sup>-1</sup>处的红外光谱数据,扫描准确度为4 cm<sup>-1</sup>[25]。

利用PHI-5000 Versaprobe III型X射线光电子能谱仪(XPS,日本)分析沉淀物中Cr的价态。测试参数为扫描周期2周期,扫描次数5次,范围200 μm,分析仪模式为55 eV和280 eV,能量步长为0.05 eV[26]。

#### 1.7 统计分析

采用SPSS 23进行数据统计分析,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和最小显著差异检验(LSD)确定变量之间的差异显著性(P<0.05)。采用Origin 2020绘图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 *Bacillus* sp. T124还原Cr(VI)

如图1a所示,在接种细菌后的12 h内,溶液中的Cr(VI)浓度快速降低,接种12 h时的Cr(VI)去除率达到了26.9%;在12~48 h内去除率仍在升高,但是速率降低,营养盐被消耗导致的细菌生长量和活性降低可能是Cr(VI)还原速率降低的原因之一。有研究表明,由碳源氧化产生的电子原本用于生物合成,但当有Cr(VI)存在时,电子会被用于还原Cr(VI),从而减慢了生长速度<sup>[27]</sup>。另外从图1b中可以明显看出反应48 h后紫色明显变淡,这表明Cr(VI)浓度明显降低,菌株对Cr(VI)的还原效果显著。XU等<sup>[28]</sup>在对小球藻去除Cr(VI)的研究中发现,在最初的30 min内小球藻快速去除Cr(VI),随后去除速率趋于平稳。DAS等<sup>[29]</sup>也发

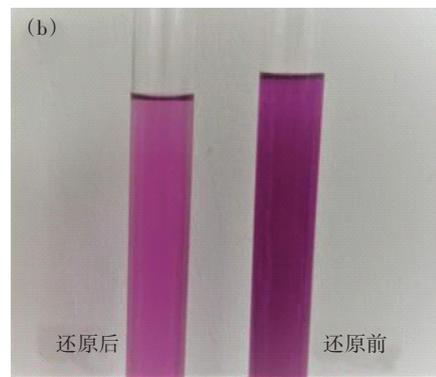
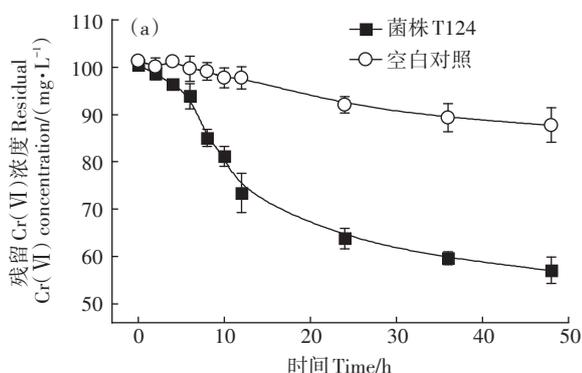


图1 *Bacillus* sp. T124在48 h内对Cr(VI)的还原和还原前后溶液颜色的变化

Figure 1 Reduction of Cr(VI) by *Bacillus* sp. T124 within 48 h and change of solution color before and after reduction

现,在 *Bacillus amyloliquefaciens* 存在的 45 h 内,初始 Cr(VI) 浓度越低,其还原速率越高,在 Cr(VI) 浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时的还原速率快于 Cr(VI) 浓度为  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时的情况。当 Cr(VI) 初始浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, *Bacillus sp.* T124 具有较高的 Cr(VI) 去除能力,在 48 h 内对 Cr(VI) 的去除率为 43.2%。在对照组中 Cr(VI) 浓度从  $101.32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  降低至  $87.72 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,这可能是 Cr(VI) 在弱碱性条件下被还原和设备仪器的误差导致的,因此可以忽略非生物因素对 Cr(VI) 去除的影响,说明 *Bacillus sp.* T124 可以从溶液中去掉 Cr(VI)。

### 2.2 碳源和共存离子对 *Bacillus sp.* T124 还原 Cr(VI) 的影响

菌株生长过程中必需的物质之一是碳源,不同碳源可能会对菌株还原 Cr(VI) 有不同影响,在 MSN 介质中研究了 6 种不同碳源(葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖、乙酸钠和甘露醇)作为电子供体对菌株 T124 还原 Cr(VI) 的影响,结果如图 2a 所示。在接种 *Bacillus sp.* T124 的 2 d 后,葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖、乙酸钠和甘露醇作为电子供体对 Cr(VI) 的去除率分别为 53.50%、76.59%、52.24%、10.28%、53.50% 和 19.24% ( $P < 0.05$ ),表明在这 6 种碳源中,果糖是最合适的电子供体。葡萄糖、蔗糖以及乙酸钠作为电子供体时的还原效果也较好,乳糖和甘露醇则不适合作为菌株还原 Cr(VI) 的电子供体。TAN 等<sup>[30]</sup>发现果糖作为电子供体时, *Bacillus sp.* CRB-B1 对 Cr(VI) 的去除率最高,葡萄糖和蔗糖次之,其结论与本实验相同。而 DAS 等<sup>[29]</sup>在利用 *Bacillus amyloliquefaciens* 还原 Cr(VI) 时则发现葡萄糖是最合适的碳源,其次是果糖。DEY 等<sup>[31]</sup>发现 *Arthrobacter* 利用甘油作为电子供体的效果最好,而蔗糖作为电子供体的效果最差。这说明不同

的菌株对碳源的适应程度不同, *Bacillus* 更偏向于选择果糖或葡萄糖作为电子供体<sup>[32]</sup>。

共存离子可能造成竞争效应从而影响 Cr(VI) 的还原<sup>[33]</sup>。本研究中 3 种含氧阴离子和 4 种重金属离子 ( $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$ ) 对菌株 T124 还原 Cr(VI) 的影响结果如图 2b 所示。共存离子的添加对 Cr(VI) 的生物还原具有抑制作用,具体抑制效果为  $\text{HCO}_3^- > \text{Cd}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{SO}_4^{2-} > \text{NO}_3^- > \text{Fe}^{3+}$ ,其中  $\text{HCO}_3^-$  的抑制效果最为明显。重金属离子可以降低菌株的活性和破坏菌株蛋白质的结构,并且存在离子间竞争吸附的可能<sup>[34]</sup>。 $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  对 Cr(VI) 还原过程的抑制作用尤为明显,说明菌株 T124 可能对 Pb 和 Cd 的耐受性较低, $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  的存在影响了菌株 T124 的电子转移效率,使菌株不能产生足够的还原酶来还原 Cr(VI)。TAN 等<sup>[30]</sup>发现,在加入  $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{Cd}^{2+}$  后, *Bacillus sp.* CRB-B1 对 Cr(VI) 的去除率降低了 25%。

### 2.3 SEM-EDS 和 XRD 分析

细菌细胞的 SEM-EDS 分析结果见图 3。在 5 000 倍放大倍数下,不含 Cr(VI) 的细菌细胞为长杆状,表面平坦且无孔(图 3a)。EDS 的结果表明,未经 Cr(VI) 处理的细菌样品中不含 Cr(VI)。如图 3b 所示,经 Cr(VI) 处理后的 *Bacillus sp.* T124 的细胞形态无明显变化,没有破裂和穿孔,这表明浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 Cr(VI) 不会对细菌产生严重的毒害作用,该菌株可以耐受高达  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 Cr(VI);另外还观察到一些无定形物质结垢附着在细胞表面,其可能是 Cr(VI) 生物还原过程中的还原产物。本研究进一步对附着在细胞表面的无定形物质进行了 EDS 分析,结果在无定形物质中检测到了元素 Cr。由于 EDS 检测的 X 射线能量很高,并且可以穿透薄细菌细胞样品,所以在消除其他干扰成分后,细胞表面的无定形颗粒物可以被

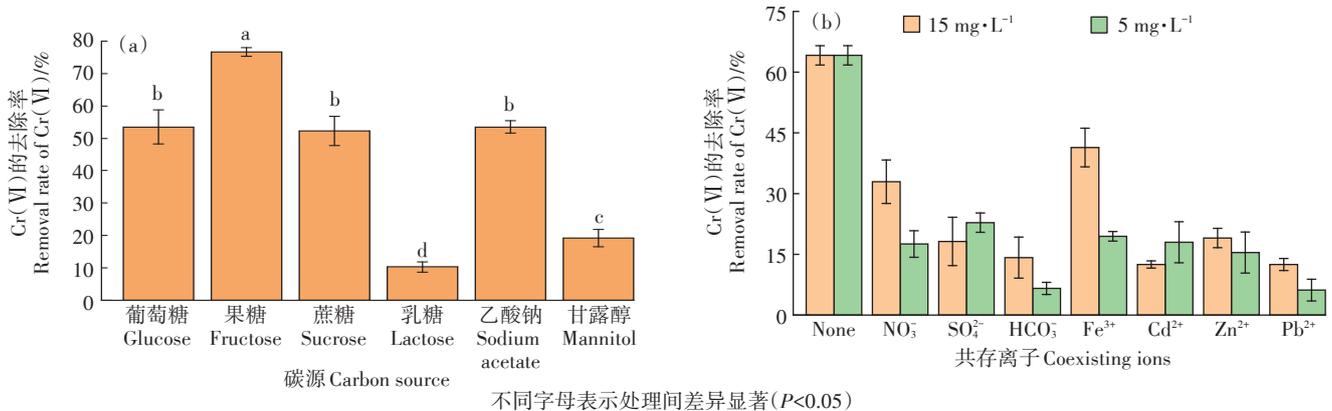


图 2 不同碳源和不同共存离子对 *Bacillus sp.* T124 还原 Cr(VI) 的影响

Figure 2 Effects of different carbon sources and co-existing ions on the reduction of Cr(VI) by *Bacillus sp.* T124

视为含Cr物质。SEM-EDS证实了检测到的细胞表面有含Cr化合物的存在。LI等<sup>[35]</sup>在用SEM-EDS分析经过Cr(VI)处理48 h的 *Pseudochrobactrum saccharolyticum* W1 细胞时发现,浓度为  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的Cr(VI)不会对菌株产生毒害作用,菌株的细胞形态没有变化,并且还发现细胞表面的无定形颗粒为含Cr物质。而有些细胞会因为Cr的存在而发生形态变化<sup>[36]</sup>,如CHEN等<sup>[25]</sup>在分析了 *Cellulosimicrobium funkei* AR8 的细胞形态后发现,未经Cr(VI)处理的细胞具有规则光滑的表面,而经Cr(VI)处理后的细胞是不规则、凹陷、起皱的形态,并且带有一些穿孔。*Bacillus* sp. T124在经过高浓度的Cr(VI)处理后,细胞形态未有明显变化,这表明 *Bacillus* sp. T124具有Cr(VI)的高耐受性。

为了确定Cr(VI)还原过程中Cr(III)的形成,通过XRD扫描了经过Cr(VI)处理的细菌细胞,结果如

图3c所示。经过Cr(VI)处理生成的产物在 $2\theta$ 为 $21.3^\circ$ 、 $31.66^\circ$ 和 $38.44^\circ$ 处显示出3个明显的 $\text{Cr}_2\text{O}_3$ 沉淀峰,在使用标准JCPDS(参考代码01-084-0312)对比后证实了 $\text{Cr}_2\text{O}_3$ 的存在,故可认为产物中存在Cr(III),且其是由Cr(VI)被 *Bacillus* sp. T124部分还原形成的。CHEN等<sup>[25]</sup>在利用XRD扫描经Cr(VI)处理的细菌细胞后发现,在 $2\theta$ 为 $24.54^\circ$ 、 $33.66^\circ$ 、 $36.26^\circ$ 、 $39.83^\circ$ 、 $41.55^\circ$ 、 $44.27^\circ$ 、 $50.31^\circ$ 和 $54.95^\circ$ 处也出现了明显的 $\text{Cr}_2\text{O}_3$ 沉淀峰。DHAL等<sup>[37]</sup>在研究从铬铁矿土壤中分离出的 *Bacillus* sp. 还原Cr(VI)时也发现了相似的Cr(III)沉淀。MOHITE等<sup>[38]</sup>报道了 *Schwanniomyces occidentalis* 介导的Cr(VI)到Cr(III)纳米颗粒的生物转化,并通过XRD分析得到了证实。而在KARTHIK等<sup>[24]</sup>的报道中发现, *Pseudomonas aeruginosa* strain G12处理Cr(VI)后,Cr的峰主要出现在了 $27.4^\circ$ 、 $31.7^\circ$ 、 $45.8^\circ$ 和 $53.9^\circ$ ,对应于这些峰的晶体组成与 $\text{CrCl}_3$ 相似,因此推断

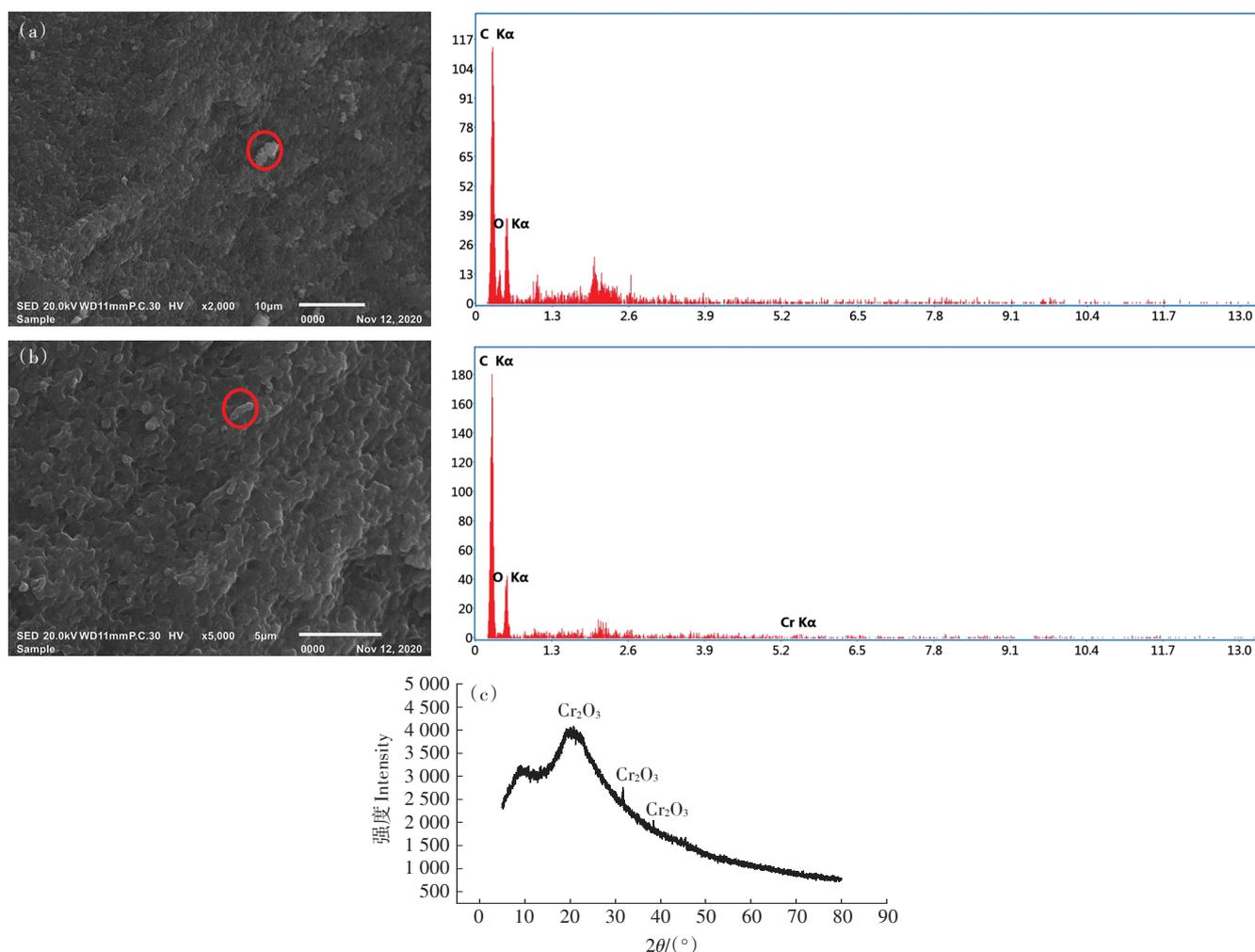


图3 Cr(VI)处理前(a)后(b)*Bacillus* sp. T124的SEM-EDS图像( $\times 5\,000$ 倍)和Cr(VI)处理后(c)*Bacillus* sp. T124的XRD图像  
Figure 3 SEM-EDS patterns( $\times 5\,000$  times) of *Bacillus* sp. T124 of before (a) Cr(VI) treated cells and after Cr(VI) treated cells (b) XRD pattern of *Bacillus* sp. T124 of Cr(VI) treated cells (c)

Cr(VI)确实被还原为了Cr(III),且Cr(III)与Cl<sup>-</sup>复合在细菌表面形成了CrCl<sub>3</sub>。

### 2.4 拉曼光谱分析

拉曼光谱法是表征涉及分子结构和重金属基络合物的强大工具,因此为了检测细菌还原后Cr可能的价态,通过拉曼光谱分析了经Cr(VI)处理后的细菌细胞<sup>[30]</sup>。如图4所示,Cr(VI)处理后的细胞及其相关产物在600 cm<sup>-1</sup>处显示出清晰的特征峰,该峰与标准Cr(III)相对应。拉曼光谱分析的结果表明*Bacillus sp.* T124确实还原了Cr(VI),并且细胞固定的Cr为Cr(III)。WANG等<sup>[39]</sup>利用共振拉曼光谱法和表面增强拉曼光谱法在单细胞水平上分析了*Shewanella oneidensis*对Cr(VI)到Cr(III)的影响。RAVINDRANATH等<sup>[40]</sup>用表面增强拉曼光谱法证实了*S. oneidensis* MR-1细胞内Cr(VI)的减少。KARTHIK等<sup>[41]</sup>也报道了*Cellulosimicrobium funkei* AR6在经Cr(VI)处理后,细胞在拉曼图谱中600 cm<sup>-1</sup>附近区域显示出强烈的特征峰。对*Bacillus amyloliquefaciens*的Cr(VI)还原产物(沉淀物)进行拉曼光谱分析发现,在600 cm<sup>-1</sup>附近区域存在Cr(III)峰<sup>[30]</sup>。因此,拉曼光谱的分析结果进一步证实了*Bacillus sp.* T124将Cr(VI)还原为Cr(III)。

### 2.5 FT-IR和XPS分析

重金属离子与细菌细胞的相互作用很大程度上取决于细菌细胞活性位点上的官能团。因此,为了研究Cr与微生物相互作用中可能涉及的官能团,在对照细胞和Cr(VI)处理后的细胞中进行了FT-IR分析。FT-IR光谱记录了4 000~400 cm<sup>-1</sup>波长范围的图像,如图5a所示。将对照细胞与Cr(VI)处理的细胞对比发现,Cr(VI)处理的细胞在不同波长下显示出了几处不同强度的谱带。例如=C—H链烷烃由2 925 cm<sup>-1</sup>处

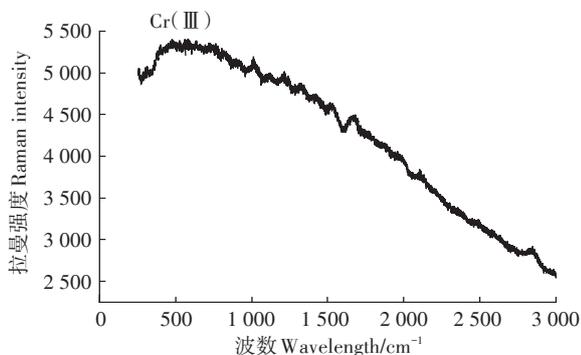


图4 经过Cr(VI)处理后的*Bacillus sp.* T124的拉曼光谱图  
Figure 4 Raman spectra of *Bacillus sp.* T124 of Cr(VI) treated cells

变为2 924 cm<sup>-1</sup>,2 852 cm<sup>-1</sup>处是代表C—H伸缩振动的吸收峰<sup>[27]</sup>。酰胺 I 带的CO—NH和酰胺 II 带的N—H/C—H吸收峰分别从1 650 cm<sup>-1</sup>和1 541 cm<sup>-1</sup>处移动至1 653 cm<sup>-1</sup>和1 542 cm<sup>-1</sup>处<sup>[22,30]</sup>。对称振动—COOH的特征峰由1 403 cm<sup>-1</sup>处移动到了1 454 cm<sup>-1</sup>处<sup>[42]</sup>。对应于C—OC(醚基基团)和=C—H的吸收峰从1 074 cm<sup>-1</sup>和699 cm<sup>-1</sup>处移动到了1 045 cm<sup>-1</sup>和700 cm<sup>-1</sup>处<sup>[43]</sup>。Cr(VI)处理后,从光谱中检测到生物物质上官能团的4个变化:第1个变化为2 925 cm<sup>-1</sup>处烷烃吸收峰变尖,金属离子含量增加,代表烷烃参与了Cr(VI)的还原过程<sup>[26]</sup>;第2个变化是2 852 cm<sup>-1</sup>处吸收峰的增强,这是C—H的拉伸,再次表明还原Cr(VI)的过程有烷烃的参与;第3个变化是1 403 cm<sup>-1</sup>处羧基吸收峰的左

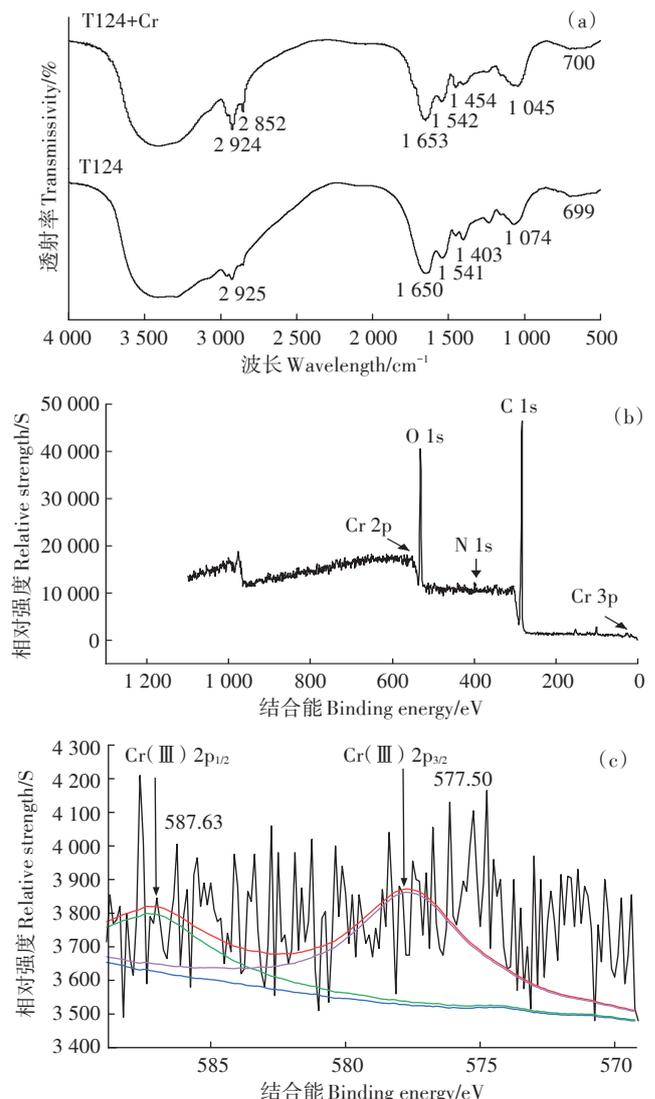


图5 Cr(VI)处理后*Bacillus sp.* T124的FT-IR光谱图和XPS光谱图  
Figure 5 FT-IR spectra and XPS spectra of *Bacillus sp.* T124 of Cr(VI) treated cells

移,这是羧酸盐官能团与金属阳离子配位络合的典型现象<sup>[28]</sup>,在本研究中该现象可能是由于Cr(Ⅲ)与羧酸酯基团络合而产生的;第4个变化是 $1\ 074\ \text{cm}^{-1}$ 处C—OC的左移且吸收峰减弱,这可能是由于多糖参与了Cr(VI)的还原。VILLAENSEUSA等<sup>[44]</sup>在使用葡萄秸秆吸收铜和镍离子的类似研究中也表明,C—OC可能与金属离子的去除有关。本研究结果表明,烷基和羧基以及多糖参与了Cr(VI)的还原并且可以与Cr配位以减少Cr(VI)对细菌细胞的毒性<sup>[45]</sup>。

XPS是研究Cr(VI)还原过程中*Bacillus* sp. T124细胞中的官能团和元素Cr化合价的有效分析方法。如图5b所示,从*Bacillus* sp. T124的XPS调查光谱中监测到3个主要峰,分别位于286.31、400.63 eV和532.83 eV处,分别代表C 1s、N 1s和O 1s<sup>[46]</sup>。此外,在579 eV和48 eV处发现了两个弱峰,分别代表Cr 2p和Cr 3p。如图5c所示,在587.63 eV(Cr 2p<sub>1/2</sub>)和577.50 eV(Cr 2p<sub>3/2</sub>)附近出现了两个不同的峰(从Cr光谱获得),表明Cr(VI)还原产物的化合价主要为Cr(Ⅲ)<sup>[47]</sup>。同时也证明*Bacillus* sp. T124是通过还原而非吸附的方式去除了环境中的Cr(VI)<sup>[48-49]</sup>。YAO等<sup>[21]</sup>在利用XPS分析*Pseudomonas umsongensis* CY-1还原Cr(VI)和Hg(Ⅱ)的产物化合价时得出了与本研究相似的结论。BAI等<sup>[50]</sup>在利用XPS分析经过Cr(VI)处理的*Caldicellulosiruptor saccharolyticus*时发现Cr 2p<sub>1/2</sub>和Cr 2p<sub>3/2</sub>存在分裂,形成了不同的还原产物,这证明了使Cr(VI)减少的途径是还原而非吸附。以上结果进一步证明*Bacillus* sp. T124对Cr(VI)的去除是通过生物还原这一途径实现的,并且Cr的还原产物主要为Cr(Ⅲ)。

### 2.6 *Bacillus* sp. T124对Cr(VI)的去除机制

由本课题组前期研究可知<sup>[50]</sup>,Cr(VI)还原的过程主要在细胞外进行。对于特定的还原位点,菌株的每个组分均具有还原Cr(VI)的能力,但是每个组分的单独还原能力完全不同。现已知的Cr(VI)去除机制有生物吸附、细胞内积累和生物还原<sup>[51]</sup>,其中由还原酶在细胞壁膜上介导的生物还原是*Bacillus* sp. T124去除Cr(VI)的主要途径,*Bacillus* sp. T124分泌的还原酶大多数在细胞外实现对Cr(VI)的还原,可能是Cr(VI)的毒性限制了细胞内还原的过程<sup>[52]</sup>。SILVER等<sup>[53]</sup>发现在利用硫酸盐的生物细胞中,Cr(VI)是通过硫酸盐转运通道的膜被吸收。另外有研究表明,细胞外还原的Cr主要是水溶性有机Cr(Ⅲ),这些Cr(Ⅲ)无法渗透进入细胞内<sup>[54]</sup>,而部分在细胞内被储存于细胞质中的Cr(Ⅲ)是由Cr(VI)还原而来。AHEMAD

等<sup>[55]</sup>也发现Cr通过质粒转运至细胞质,慢慢地在细胞内积累,细胞内的个别成分(有机酸、核酸和氨基酸等)可作为电子供体,而Cr(VI)作为电子受体接受电子后还原为Cr(Ⅲ)。总体来说,细胞表面还原的Cr(VI)通常有一部分会被释放到上清液中或者被官能团所吸附<sup>[56]</sup>,因此细胞外Cr(VI)的还原对菌本身起到了间接的保护作用,并且在Cr(VI)的转移中不需要消耗额外的能量<sup>[57]</sup>。

通常不同细菌对Cr(VI)的还原机制有所差别,影响还原的因素也有所不同。例如,有些细菌会利用Cr(VI)作为最终的电子受体,有些细菌则会利用分泌的可溶性酶将Cr(VI)还原为Cr(Ⅲ)<sup>[58]</sup>。此外,CHEN等<sup>[59]</sup>指出蜡状芽孢杆菌对Cr(VI)的还原与细胞壁膜有关,在本研究中静止细胞较渗透细胞对Cr(VI)的还原量高出10.5%,也验证了这一结论,说明Cr(VI)的还原受限于细胞壁膜的通透性。肖伟等<sup>[60]</sup>也发现细胞壁膜的通透性可以对Cr(VI)还原酶的作用产生影响。XRD和拉曼分析进一步证明了在细胞膜上*Bacillus* sp. T124将Cr(VI)还原为Cr(Ⅲ),且还原产物为Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>,由FTIR的结果得出烷基、羧基以及多糖参与了Cr(VI)的还原,减轻了Cr(VI)对细菌细胞的毒性。XPS分析为证明Cr(VI)的还原产物主要为Cr(Ⅲ)提供了更多的依据,并且说明*Bacillus* sp. T124对Cr(VI)的去除途径是生物还原而非吸附,此结果和YAO等<sup>[61]</sup>得到的反应机制一致。

## 3 结论

(1) *Bacillus* sp. T124能有效去除Cr(VI),在48 h内可去除43.2%的Cr(VI)。

(2) *Bacillus* sp. T124对Cr(VI)的还原效果主要受碳源和共存离子的影响。添加共存离子对Cr(VI)的还原产生了抑制作用,其中HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>的抑制效果最为明显。

(3) 表征分析结果进一步证实了*Bacillus* sp. T124对Cr(VI)的去除主要是通过生物还原这一途径实现的,并且Cr的还原产物主要为Cr(Ⅲ)。

### 参考文献:

- [1] 王婷. 铬污染土壤修复技术的研究进展[J]. 科技视界, 2014(7): 5, 13. WANG T. Research progress on remediation technology of chromium contaminated soil[J]. *Science & Technology Vision*, 2014(7): 5, 13.
- [2] 韩建均, 柴陆军, 张娟, 等. 硫酸盐还原菌原位修复六价铬污染土壤[J]. 化工环保, 2020, 40(6): 613-618. HAN J J, CHAI L J, ZHANG J, et al. *In-situ* remediation of hexavalent chromic-contaminated soil

- with sulfate-reducing bacteria[J]. *Environmental Protection of Chemical Industry*, 2020, 40(6):613-618.
- [3] HE Z, HU Y, YIN Z, et al. Microbial diversity of chromium-contaminated soils and characterization of six chromium-removing bacteria[J]. *Environmental Management*, 2016, 57(6):1319-1328.
- [4] SANDANA-MALA J G, SUJATHA D, ROSE C. Inducible chromate reductase exhibiting extracellular activity in *Bacillus methylotrophicus* for chromium bioremediation[J]. *Microbiological Research*, 2015, 170: 235-241.
- [5] FERNANDEZ P M, VINARTA S C, BERNALA R, et al. Bioremediation strategies for chromium removal: Current research, scale-up approach and future perspectives[J]. *Chemosphere*, 2018, 208:139-148.
- [6] ZENG Q, HU Y, YANG Y, et al. Cell envelop is the key site for Cr(VI) reduction by *Oceanobacillus oncorhynchi* W4, a newly isolated Cr(VI) reducing bacterium[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 368: 149-155.
- [7] BARRERA-DIAZ C E, LUGO-LUGO V, BILYEU B. A review of chemical, electrochemical and biological methods for aqueous Cr(VI) reduction[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 223/224:1-12.
- [8] XIA S, SONG Z, JEYAKUMAR P, et al. A critical review on bioremediation technologies for Cr(VI)-contaminated soils and wastewater[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2019, 49(12):1027-1078.
- [9] YIN K, WANG Q, LV M, et al. Microorganism remediation strategies towards heavy metals[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 360: 1553-1563.
- [10] LI M, HE Z, HU Y, et al. Both cell envelope and cytoplasm were the locations for chromium(VI) reduction by *Bacillus* sp. M6[J]. *Biore-source Technology*, 2019, 273:130-135.
- [11] LONG D, TANG X, CAI K, et al. Cr(VI) reduction by a potent novel alkaliphilic halotolerant strain *Pseudochrobactrum saccharolyticum* LY10[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 256/257:24-32.
- [12] FRANCO L C, STEINBEISSER S, ZANE G M, et al. Cr(VI) reduction and physiological toxicity are impacted by resource ratio in *Desulfovibrio vulgaris*[J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2018, 102(6):2839-2850.
- [13] RAJYALAXMI K, MERUGU R, GIRISHAM S, et al. Chromate reduction by purple non sulphur phototrophic bacterium *Rhodobacter* sp. GSKRLMBKU-03 isolated from pond water[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 2017, 89(1):259-265.
- [14] ROMO-RODRIGUEZ P, ACEVEDO-AGUILAR F J, LOPEZ-TORRES A, et al. Cr(VI) reduction by gluconolactone and hydrogen peroxide, the reaction products of fungal glucose oxidase: Cooperative interaction with organic acids in the biotransformation of Cr(VI)[J]. *Chemosphere*, 2015, 134(11):563-570.
- [15] THATOI H, DAS S, MISHRA J, et al. Bacterial chromate reductase, a potential enzyme for bioremediation of hexavalent chromium: A review [J]. *Journal of Environmental Management*, 2014, 146(12):383-399.
- [16] ACKERLEY D F, GONZALEZ C F, PARK C H, et al. Chromate-reducing properties of soluble flavoproteins from *Pseudomonas putida* and *Escherichia coli*[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2004, 70(2):873-882.
- [17] HAN J C, CHEN G J, QIN L P, et al. Metal respiratory pathway-independent Cr isotope fractionation during Cr(VI) reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Environmental Science and Technology Letters*, 2017, 4(11):500-504.
- [18] URVASHI T, DATTA M. Reduction of toxic chromium and partial localization of chromium reductase activity in bacterial isolate DM1[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2005, 21(6/7):891-899.
- [19] LI B, PAN D, ZHENG J, et al. Microscopic investigations of the Cr(VI) uptake mechanism of living *Ochrobactrum anthropi*[J]. *Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids*, 2008, 24(17):9630-9635.
- [20] HE Z, LI S, WANG L, et al. Characterization of five chromium-removing bacteria isolated from chromium-contaminated soil[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2014, 225(3):1904.
- [21] YAO Y, HU L, LI S, et al. Exploration on the bioreduction mechanisms of Cr(VI) and Hg(II) by a newly isolated bacterial strain *Pseudomonas umsungensis* CY-1[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 201:110850.
- [22] BHARAGAVA R N, MISHRA S. Hexavalent chromium reduction potential of *Cellulosimicrobium* sp. isolated from common effluent treatment plant of tannery industries[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 147:102-109.
- [23] AN Q, DENG S, XU J, et al. Simultaneous reduction of nitrate and Cr(VI) by *Pseudomonas aeruginosa* strain G12 in wastewater[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 191:110001.
- [24] 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]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 333:42-53.
- [25] CHEN Z, GUAN X, ZHANG L, et al. Investigation of lead(II) uptake by *Bacillus thuringiensis* 016[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2015, 31:1729-1736.
- [26] MARY-MANGAIYARKARASI M S, VINCENT S, JANARTHANAN S, et al. Bioreduction of Cr(VI) by alkaliphilic *Bacillus subtilis* and interaction of the membrane groups[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2011, 18(2):157-167.
- [27] VITI C, MARCHI E, DECOROSI F, et al. Molecular mechanisms of Cr(VI) resistance in bacteria and fungi[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2014, 38(4):633-659.
- [28] XU H, WONG Y S, WONG M H, et al. Biosorption and bioreduction of Cr(VI) by a microalgal isolate, *Chlorella miniata*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2007, 146(1/2):65-72.
- [29] DAS S, MISHRA J, DAS S K, et al. Investigation on mechanism of Cr(VI) reduction and removal by *Bacillus amyloliquefaciens*, a novel chromate tolerant bacterium isolated from chromite mine soil[J]. *Chemosphere*, 2014, 96:112-121.
- [30] TAN H, WANG C, ZENG G, et al. Bioreduction and biosorption of Cr(VI) by a novel *Bacillus* sp. CRB-B1 strain[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 386:121628.
- [31] DEY S, PAUL A K. Optimization of cultural conditions for growth associated chromate reduction by *Arthrobacter* sp. SUK 1201 isolated from chromite mine overburden[J]. *Journal of Hazardous Materials*,

- 2012, 213/214:200-206.
- [32] LI C, YANG J, WANG X, et al. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a phosphate accumulating bacterium *Pseudomonas stutzeri* YG-24[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 182:18-25.
- [33] TAN H, WANG C, ZENG G, et al. Bioreduction and biosorption of Cr(VI) by a novel *Bacillus* sp. CRB-B1 strain[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 386:121628.
- [34] CHENG Y, YAN F, HUANG F, et al. Bioremediation of Cr(VI) and immobilization as Cr(III) by *Ochrobactrum anthropi*[J]. *Environmental Science and Technology*, 2010, 44(16):6357-6363.
- [35] LI M, ZHUO Y, HU Y, et al. Exploration on the bioreduction mechanism of Cr(VI) by a gram-positive bacterium: *Pseudochrobactrum saccharolyticum* W1[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 184:109636.
- [36] WU M, LI Y, LI J, et al. Bioreduction of hexavalent chromium using a novel strain CRB-7 immobilized on multiple materials[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 368:412-420.
- [37] DHAL B, THATOI H, DAS N, et al. Reduction of hexavalent chromium by *Bacillus* sp. isolated from chromite mine soils and characterization of reduced product[J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2010, 85(11):1471-1479.
- [38] MOHITE P T, KUMAR A R, ZINJARDE S S. Biotransformation of hexavalent chromium into extracellular chromium(III) oxide nanoparticles using *Schwanniomyces occidentalis*[J]. *Biotechnology Letters*, 2016, 38(3):441-446.
- [39] WANG Y, SEVINC P C, BLECHIK S M, et al. Single-cell imaging and spectroscopic analyses of Cr(VI) reduction on the surface of bacterial cells[J]. *Langmuir*, 2013, 29(3):950-956.
- [40] RAVINDRANATH S P, HENNE K L, THOMPSON D K, et al. Raman chemical imaging of chromate reduction sites in a single bacterium using intracellularly grown gold nanoislands[J]. *ACS Nano*, 2011, 5(6):4729-4736.
- [41] KARTHIK C, RAMKUMAR V S, PUGAZHENDHI A, et al. Biosorption and biotransformation of Cr(VI) by novel *Cellulosimicrobium funkei* strain AR6[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2017, 70:282-290.
- [42] LIN Z, WU J, XUE R, et al. Spectroscopic characterization of Au<sup>3+</sup> biosorption by waste biomass of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Spectrochimica Acta Part A*, 2005, 61(4):761-765.
- [43] HE Z, YANG Y, ZHOU S, et al. The effect of culture condition and ionic strength on proton adsorption at the surface of the extreme thermophile *Acidianus manzaensis*[J]. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 2013, 102:667-673.
- [44] VILLAESCUSA I, FIOL N, MARTINEZ M, et al. Removal of copper and nickel ions from aqueous solutions by grape stalks wastes[J]. *Water Research*, 2004, 38(4):992-1002.
- [45] ARIVALAGAN P, SINGARAJ D, HARIDASS V, et al. Removal of cadmium from aqueous solution by batch studies using *Bacillus cereus* [J]. *Ecological Engineering*, 2014, 71:728-735.
- [46] WANG Y, CHAI L, LIAO Q, et al. Structural and genetic diversity of hexavalent chromium-resistant bacteria in contaminated soil[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2015, 33(3/4):222-229.
- [47] CHENG W, DING C, WANG X, et al. Competitive sorption of As(V) and Cr(VI) on carbonaceous nanofibers[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016, 293:311-318.
- [48] TIAN X, WANG W, TIAN N, et al. Cr(VI) reduction and immobilization by novel carbonaceous modified magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/halloysite nanohybrid[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 309:151-156.
- [49] HAN R, LI F, LIU T, et al. Effects of incubation conditions on Cr(VI) reduction by c-type cytochromes in intact *Shewanella oneidensis* MR-1 cells[J]. *Frontiers Microbiology*, 2016, 7:746.
- [50] BAI Y N, LU Y Z, SHEN N, et al. Investigation of Cr(VI) reduction potential and mechanism by *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* under glucose fermentation condition[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 344:585-592.
- [51] ZHAO X Q, TANG D, JIANG Y. Effect of the reduction-mineralization synergistic mechanism of *Bacillus* on the remediation of hexavalent chromium[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 777:146190.
- [52] TAN H, WANG C, ZENG G, et al. Bioreduction and biosorption of Cr(VI) by a novel *Bacillus* sp. CRB-B1 strain[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 386:121628.
- [53] SILVER S, SCHOTTEL J, WEISS A. Bacterial resistance to toxic metals determined by extrachromosomal R factors[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2001, 48(1/2/3/4):263-281.
- [54] WU M, LI Y, LI J, et al. Bioreduction of hexavalent chromium using a novel strain CRB-7 immobilized on multiple materials[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 368:412-420.
- [55] AHMAD M. Bacterial mechanisms for Cr(VI) resistance and reduction: An overview and recent advances[J]. *Folia Microbiologica*, 2014, 59(4):321-332.
- [56] CHEUNG K H, GU J D. Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A review[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2007, 59(1):8-15.
- [57] DAS S, MISHRA J, DAS S K, et al. Investigation on mechanism of Cr(VI) reduction and removal by *Bacillus amyloliquefaciens*, a novel chromate tolerant bacterium isolated from chromite mine soil[J]. *Chemosphere*, 2014, 96(3):112-121.
- [58] AHMAD W A, SHAHIR S, ZAKARIA Z A. Mechanisms of bacterial detoxification of Cr(VI) from industrial wastewater in the presence of industrial effluent as potential energy source[R]. Malaysia: Universiti Teknologi Faculty of Science, 2009.
- [59] CHEN Z, HUANG Z P, CHENG Y J, et al. Cr(VI) uptake mechanism of *Bacillus cereus*[J]. *Chemosphere*, 2012, 87(3):211-216.
- [60] 肖伟, 王磊, 李倬镨, 等. 六价铬还原细菌 *Bacillus cereus* S5.4 还原机理及酶学性质研究[J]. *环境科学*, 2008, 29(3):751-755. XIAO W, WANG L, LI Z K, et al. Mechanisms and enzymatic characters of hexavalent chromium reduction by *Bacillus cereus* S5.4[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(3):751-755.
- [61] YAO Y, HU L, LI S, et al. Exploration on the bioreduction mechanisms of Cr(VI) and Hg(II) by a newly isolated bacterial strain *Pseudomonas umsongensis* CY-1[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 201:110850.

(责任编辑:李丹)