

海洋细菌作用下海水中铬化学形态的转化

杨逸萍 胡明辉 王培新

(厦门大学海洋学系)

J M 马 丁

(法国国家科研中心海洋生物地球化学研究所)

摘 要 于外加Cr(VI)和Cr(III)的天然海水中接种海洋细菌,充氧条件下培养。在细菌对数生长期,大部分Cr(VI)被还原为Cr(III),继而转化为有机铬。在稳定期,有机铬为溶解铬的主要形态。在无菌控制实验中,Cr(VI)和Cr(III)浓度基本不随培养时间变化。说明在没有海洋细菌活动参与下,水中铬形态转化难以进行。实验结果为天然海水中溶解态铬的热力学不平衡状态提供部分可能的解释。

关键词 铬 海洋细菌 化学形态

前 言

近十余年来,在天然水体痕量元素化学形态的研究中,以生物为媒介的氧化还原反应和光化学反应等动力学过程,以及在过程中产生的不稳定形态在元素地球化学循环中的作用,正日益引起人们的重视。越来越多的证据表明,生物在许多痕量元素形态转换中扮演了重要的,有时甚至是主导的角色^[3, 11, 14, 15]。

海水中溶解态铬主要以Cr(VI)、Cr(III)和有机铬等形态存在^[2, 7, 22]。其中Cr(VI)和Cr(III)的化学行为和生物效应迥然不同。Cr(VI)溶解度较大,在海洋中主要以含氧形式存在。Cr(III)溶解度较小,可强烈吸附在颗粒表面而沉降^[2],或与海水中天然有机物形成稳定络合物^[1]。Cr(VI)对生物有毒性,微量Cr(III)却是生物必需元素之一。

从热力学平衡角度出发,在充氧海水中Cr(VI)为稳定形态。据计算,在海水pH=8.1, pE=12.5条件下,Cr(VI)/Cr(III)比值应为 10^{21} ^[3]。实际上,天然海水中Cr(VI)和Cr(III)并存。据报道,Cr(VI)/Cr(III)比值为1~4^[2, 4, 6]。这个事实暗示,天然海水中某些化学和生物过程可将Cr(VI)还原为Cr(III)。海水中的有机物也可还原Cr(VI)为Cr(III)^[2, 7~9]。另据报道,由于海水中H₂O₂和溶解氧氧化Cr(III)的速度很慢,导致海水中存在热力学不稳定形态Cr(III)^[19]。此外,生物活动亦可促进海水中Cr(VI)的还原^[10]。

关于天然环境下海洋细菌与铬的相互作用已有报道。Smillie等发现,沉积物上覆水中Cr(VI)可被由硫酸盐还原菌产生的H₂S还原为Cr(III)^[15]。Aislabie等曾对新西兰Sawyes湾

本文于1993-04-04收到,修改稿于1993-12-10收到。

和Otago湾沉积物中细菌与Cr(Ⅲ)的相互作用进行过系列研究,发现排污口附近沉积物中Cr(Ⅲ)可被细菌结合在其胞外多聚物上,认为这是导致Cr(Ⅲ)进入食物链的途径之一^[14]。另外,近年国内外有人分离出Cr(VI)还原菌,试图应用于含铬废水的净化处理^[20, 21]。但这些研究侧重于从微生物的生理、生化过程研究铬VI的还原作用。关于海洋细菌在海水中铬形态转化中的作用尚未见报道。

本文通过对近岸表层海水中海洋细菌的分批培养试验,结合对水中痕量铬的化学形态分析,观测培养过程中Cr(VI)、Cr(Ⅲ)及有机铬浓度的变化情况,初步探讨了海洋细菌在海水中铬形态转化中的作用。

2 材料与方法

2.1 采样和细菌分析

分别于1990年3月和6月采集厦门近岸表层海水,置于无菌、洁净的棕色磨口瓶中。水样立即用Whatman GF/F滤膜过滤,以除去水中浮游生物。过滤后的海水立即进行细菌计数,随后鉴定到属。计数和鉴定按《海洋调查规范》规定方法进行。两次采集的水样中海洋细菌丰度分别为 1.4×10^5 、 3.6×10^5 cell/cm³。菌属组成及分布见表1。

表1 厦门近岸表层海水中细菌菌属组成及分布*

菌 属	A (%)	B (%)
弧菌属(<i>Vibrio</i>)	23.5	61.9
假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)	8.4	10.0
气单胞菌属(<i>Aeromonas</i>)	11.6	5.3
黄杆菌属(<i>Flavobacterium</i>)	7.3	0
无色杆菌属(<i>Achromobacter</i>)	4.9	0.5
不动杆菌属(<i>Acinetobacter</i>)	11.8	0
产碱菌属(<i>Alcaligenes</i>)	10.0	1.2
微球菌属(<i>Micrococcus</i>)	2.8	8.5
葡萄球菌属(<i>Staphylococcus</i>)	0	10.1
棒状杆菌属(<i>Corynebacterium</i>)	8.2	0.5
未知菌	5.6	0

* A为1990-03采集的样品, B为1990-06采集的样品。

2.2 接种和培养

本实验用稀释10倍的ZoBell 2216E液体培养液(pH7.6~7.8)培养海洋细菌。取若干份200cm³培养液,经灭菌后置于无菌操作箱中,每份加入1.0cm³刚采集、过滤后的天然海水,于18~20°C、自然光下培养至出现明显的灰白色(已达对数生长期,细菌数约 1.3×10^7 cell/cm³)。

在系列实验中,将此200cm³已接种的培养液加入到1800cm³过滤过的陈海水中〔外加不同量Cr(VI)和Cr(Ⅲ)〕,混匀。再分成7~8份,各置于光学质地相同、洁净的三角瓶中,

于18~20°C、自然光下培养。从培养开始每天取1瓶,少量用于计数,其余经离心分离后测定清液中Cr(VI)、Cr(III)和溶解有机铬浓度。

同时进行控制试验以作参照。取200cm³未接种培养液代替上述已接种培养液,其他条件与实验组相同。

为了监测培养过程溶解氧变化情况,同时另做一实验系列,每天测定溶解氧含量。在8天培养期间,溶解氧变化范围为400~470μmol/dm³。

在以上接种和培养过程中,所用器皿、移液管以及陈海水和培养液等均先经灭菌处理。有关操作和培养均在无菌操作箱内进行。

2.3 不同形态铬含量的测定

Cr(VI)采用示差脉冲吸附伏安法测定。用该法测定海水中Cr(VI)时,检测限为0.04μg/dm³,变异系数为7.0% [1.0μgCr(VI)/dm³, n=8]^[16]。所用仪器为EG & G PAR 384B极谱分析仪。Cr(III)用水合氧化铁共沉淀富集,再氧化为Cr(VI)后测定。样品经HNO₃+H₂O₂消化后测定总溶解铬[Cr(T)]。由于培养液中有有机物含量较高,对Cr(VI)的直接测定有干扰,故先将Cr(VI)还原为Cr(III),测定Cr(VI)+Cr(III)总量。Cr(VI)和溶解有机铬浓度均由差减法求得。培养液中铬形态分析流程见图1。

3 结果与讨论

3.1 海洋细菌培养介质中铬化学形态分析方法验证结果

由于培养介质系在海水中添加少量培养基,培养过程中细菌产生代谢产物,故其中有有机物含量较高。在这样复杂的体系中进行(μg/dm³)数量级铬化学形态分析,尚未见报道。为了保证分析结果的可靠性,本文建立培养介质中铬形态分析流程时,对各形态测定方法的精密度和回收率逐一加以验证(总溶解铬因缺乏合适标准物质,未做回收试验)。验证结果见表2。

表2 细菌培养液中铬形态分析精密度和回收率验证结果

铬形态	变异系数(%)	回收率(%)
Cr(III)+Cr(VI)	7.4(1.40μg/dm ³ , n=6)	91~113
Cr(III)	9.8(0.50μg/dm ³ , n=6)	90~110
总溶解铬[Cr(T)]	8.9(2.00μg/dm ³ , n=6)	

3.2 Cr(VI)对海洋细菌生长的抑制作用

在接种海洋细菌的海水中外加不同量的Cr(VI),在相同条件下培养8天,每天取样计数细菌数,结果见图2。可见,不同Cr(VI)浓度下细菌生长曲线形状基本相同,对数生长期均持续至第5天左右,第5天后进入稳定期。当Cr(VI)浓度为10、50和100μg/dm³时,细菌生长曲线与控制组[无外加Cr(VI)]基本重合,达稳定期后细菌密度约为9×10⁸ cell/cm³。而Cr(VI)

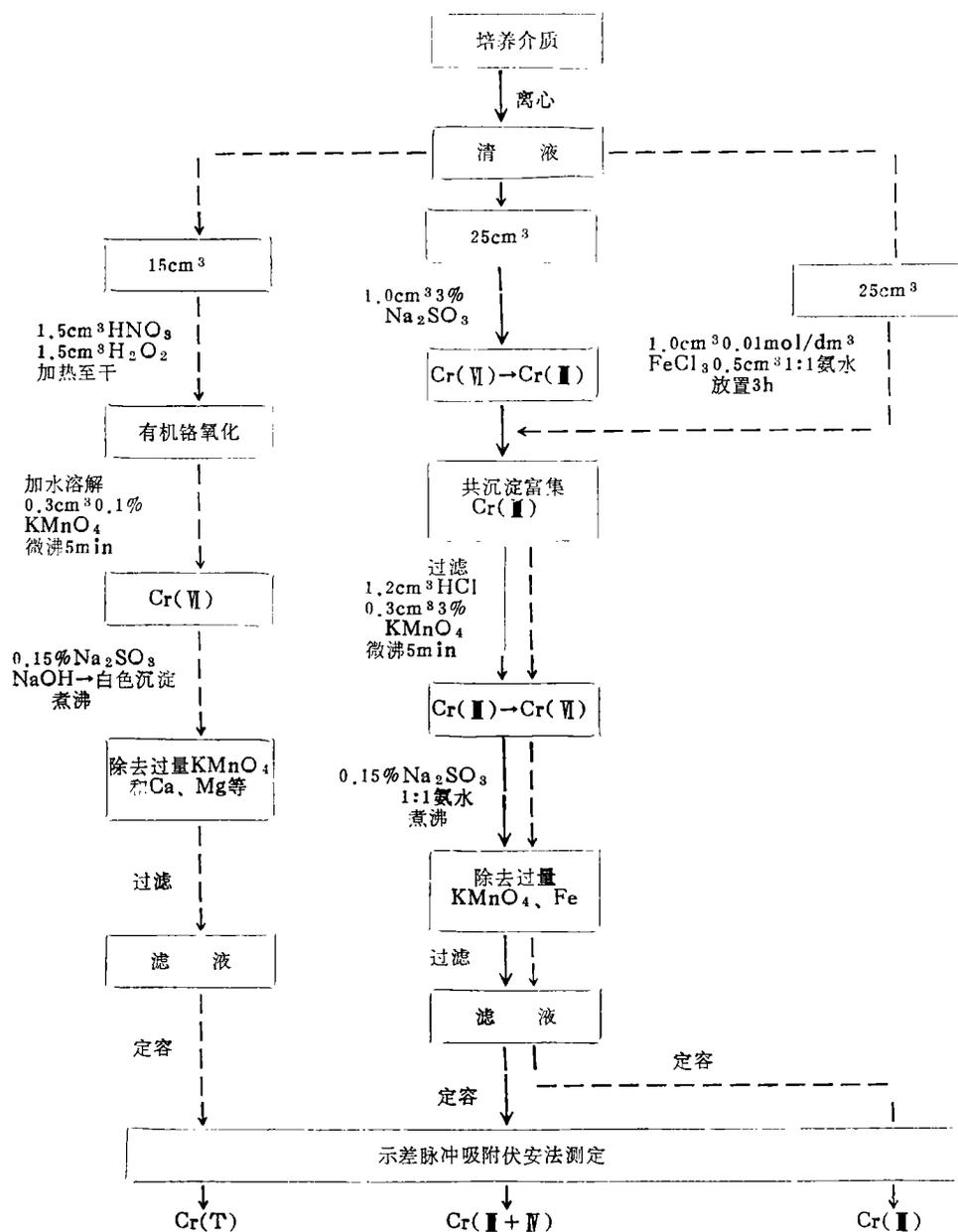


图1 海洋细菌培养液中铬形态分析流程

[Cr(III + VI) - Cr(III) = Cr(VI) Cr(T) - Cr(III + VI) = 溶解有机铬]

浓度为1.0和10mg/dm³时, 分别在培养2天和1天后, 生长曲线开始较明显偏离控制组曲线. 不过, 即使Cr(VI)浓度高达10mg/dm³, 稳定期细菌数也仅比控制组低25%左右, 说明在这样高Cr(VI)浓度下, 海洋细菌的生长仅受轻度抑制.

3.3 海洋细菌作用下溶解铬形态的转化

本文进行了5个系列分批培养试验. 系列实验1和2是用1990年3月采集的海水接种, 分别

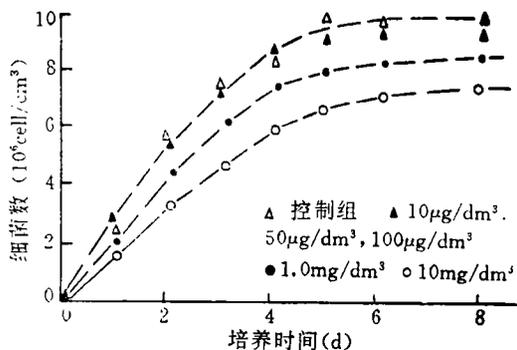


图2 不同Cr(VI)浓度下海洋细菌生长曲线

外加Cr(VI)4.0、8.0 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 。实验3和4是用同年6月采集的海水接种，也分别外加Cr(VI)4.0、8.0 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 。系列实验5是用1990年3月采集海水接种，外加Cr(III)3.0 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 。每个系列在培养开始后，每天取样测定溶液中Cr(VI)、Cr(III)和有机铬浓度，结果见图3~7。

与实验组相比，每个系列的控制组(无菌介质)中Cr(VI)和Cr(III)浓度基本不随培养时间而变化。可见，在海水中添加少量培养基后，虽然溶液中有机物的种类和数量均较明显

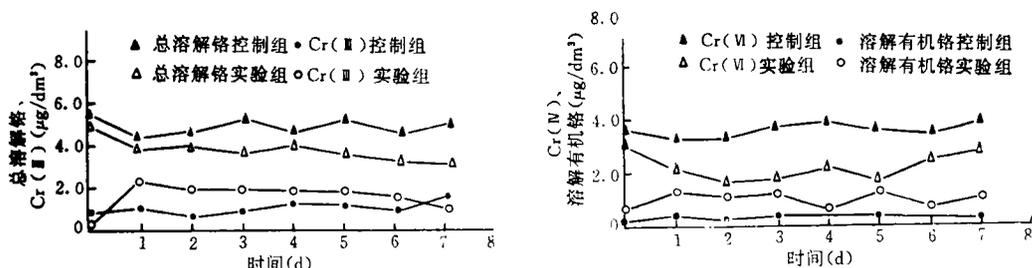


图3 培养期间各形态铬浓度变化(系列实验1)

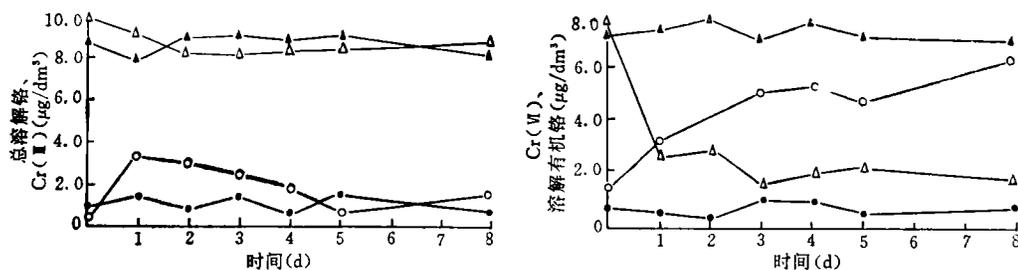


图4 培养期间各形态铬浓度变化(系列实验2)

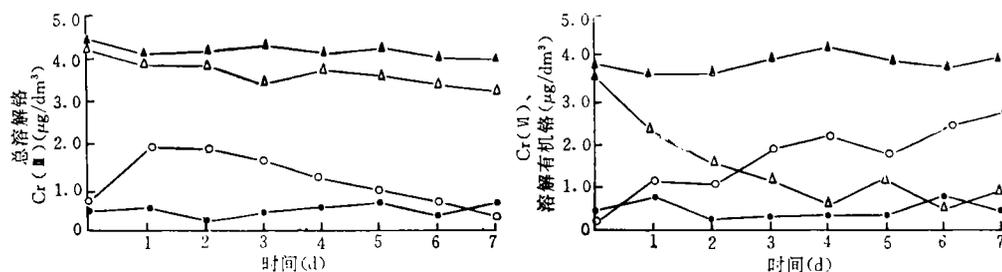


图5 培养期间各形态铬浓度变化(系列实验3)

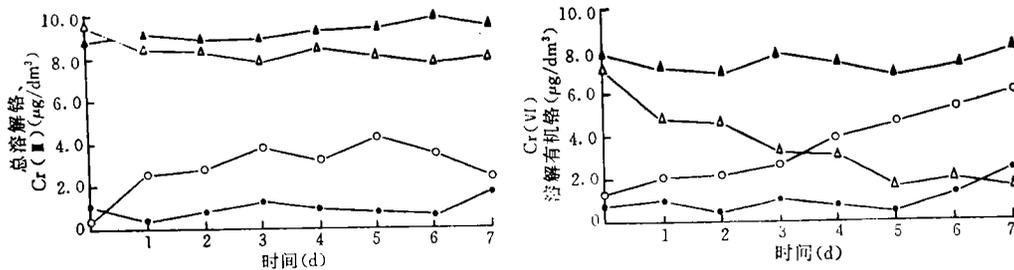


图6 培养期间各形态铬浓度变化(系列实验4)

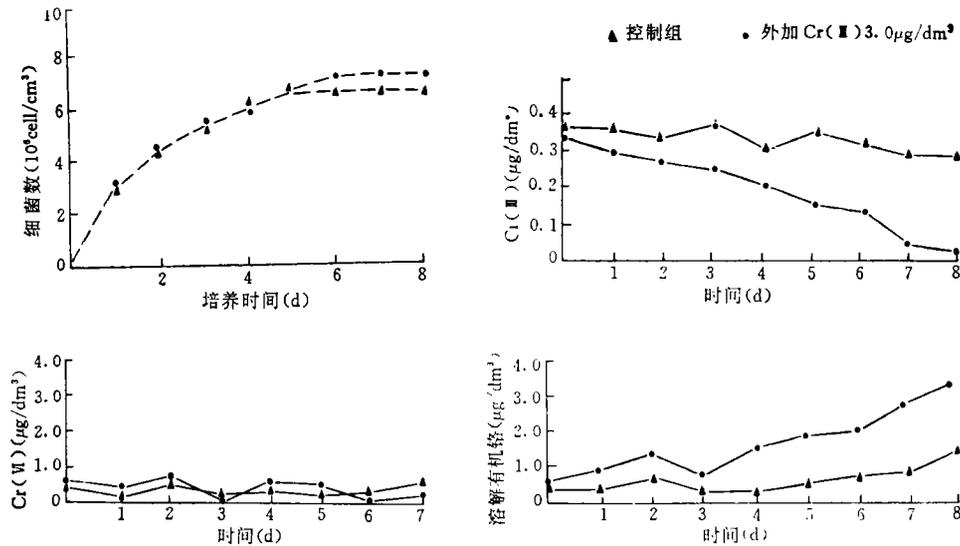


图7 培养期间各形态铬浓度变化(系列实验5)

增加,除了海水中天然有机物外,还有培养基所含蛋白质水解产物以及多种碳水化合物,但在没有海洋细菌活动参与下,并没有观测到Cr(VI)的还原作用,或至少Cr(VI)无法迅速被还原.所以,本实验结果不完全支持先前有关Cr(VI)被水中有机物还原的报道.笔者认为,在研究Cr(VI)和有机物相互作用时,不能忽视海洋细菌的作用.此外,在系列实验1、4、的控制组中,进入稳定期后有机铬浓度略呈上升趋势.看来,在无菌介质中,Cr(III)亦可能转化为有机铬,不过转化的速度比较慢.

相反地,实验组(有菌介质)培养期间铬形态出现了较明显的转化.

在系列实验1和2(图3、4)中,培养的第一天,Cr(VI)浓度迅速下降.如系列实验2中降低约70%,随后呈缓慢下降趋势.相应地,Cr(III)在培养开始后迅速增大,在第一天即达最大值,而后逐渐降低.有机铬浓度在培养期间逐渐增大,第五天(进入稳定期)后达到最大值.

系列实验5为外加Cr(III)的培养实验(图7).前4天Cr(III)浓度缓慢下降,第四天后下降速度明显加快,至第八天Cr(III)浓度降低了90%左右.相应地,有机铬浓度在培养期间逐渐增大,在第七至八天达最大值.由于原海水中Cr(VI)浓度很低,故培养期间其浓度基本在方法检测限水平波动或未能检出,无法观测到其还原作用.不过,由此也可说明,Cr(III)在培养期间未出现明显的氧化作用.

以上结果表明,在海洋细菌作用下,添加培养基的海水中,Cr(VI)被还原为Cr(III),还原作用主要发生在细菌活性最强烈的对数生长期.大部分Cr(III)随即与介质中有机物结合,转化为有机铬.在稳定期,有机铬浓度最高,为溶解铬的主要形态.

根据以上3个系列实验的结果,计算在稳定期(第五天)Cr(VI)、Cr(III)有机铬浓度占总溶解铬浓度的百分数,并与近年来某些作者对近岸表层海水中溶解铬化学形态分析结果相比较,发现实验室培养结果与现场观测结果大致接近(表3).

表3 海水中溶解铬各形态占总铬百分比

类别	Cr(VI)	Cr(III)	有机铬	参考文献	
培养实验	系列1	20	24	56	本文
	系列2	27	13	60	
	系列5	8	16	76	
厦门近岸表层海水	30	20	50	[22]	
日本海近岸表层海水	25~40	10~20	45~65	[2]	

系列实验3、4(图5、6)的结果与系列实验1、2(图3、4)相比,每天Cr(VI)和Cr(III)浓度变化幅度有所不同.前者在稳定期Cr(III)浓度的下降和有机铬浓度的增大更为显著.结合系列实验5的结果(图7),可更明显地看出,虽然培养开始后Cr(III)就逐步转化为有机铬,但这种转化主要出现在稳定期.

以上两组实验接种所用海水系在同年不同季节采集,总细菌数差别不大,但海水中细菌属组成有所不同.使培养期间铬形态之间转化速率有所不同.然而转化的总趋势是相同的.

通过实验室分批培养试验,结合对介质中溶解铬的化学形态分析,发现在海洋细菌生命活动参与下,海水中大部分Cr(VI)还原为Cr(III).Cr(III)的氧化速度很慢,但易于和水中有机物结合,转化为溶解有机铬,从而在水相维持着一个动态不平衡状态.本实验结果可为天然海水中溶解铬形态的热力学不平衡状态提供部分可能的解释.

参考文献

- Murray J W, Spell B and Paul B. The contrasting geochemistry of manganese and chromium in eastern tropical Pacific Ocean. Trace metal in sea water, Plenum Press, 1983, 643~669
- Nakayama E *et al.* Dissolved state of chromium in sea water. Nature, 1981, 290, 768~770
- Elderfield H. Chromium speciation in sea water. Earth Planet. Sci. Lett., 1970, 9, 10~16
- Aboul Dahad O. Chromium biogeochemical cycle in Abu Kir Bay, coast of Alexandria, Egypt. Est. Coast. Shelf. Sci., 1989, 29, 327~340
- Ahern F *et al.* Speciation of chromium in sea water. Anal. Chim. Acta., 1985, 175, 147~151
- Cranston R E. Chromium in Cascadia Basin, Northeast Pacific Ocean. Mar. Chem., 1983, 13, 109~125
- Nakayama E *et al.* Chemical speciation of chromium in sea water. Anal. Chim. Acta., 1981, 130, 289~294
- 吴瑜端,蔡卫君.纳污河口水体中溶解有机物对Cr(VI)的还原作用——实验室模拟.环境科学学报, 1983, 3(2): 176~180

- 9 周家义等. 海水中铬的存在形态及其在海-底质间相互交换研究. 海洋和湖沼, 1980, 11, 30~45
- 10 Mearn A J *et al.* Chromium effect on coastal organisms. J. Water Pollut. Control. Fed. 1976, 48, 1929~1939
- 11 Johnson D L. Bacterial reduction of arsenate in sea water. Nature. 1972, 240, 44~45
- 12 Morris A W *et al.* Very low salinity regions of estuaries: important site for chemical and biological reactions. Nature, 1978, 274, 678~680
- 13 Emerson S *et al.* Environmental oxidation rate of Mn(II); bacterial catalysis. Geochim. Cosmochim. Acta, 1982, 46, 1073~1079
- 14 Aislabie J and Loutit M W. Accumulation of Cr(III) by bacteria isolated from polluted sediment. Mar. Environ. Res., 1986, 20, 221~232
- 15 Smillie R H *et al.* Reduction of chromium(VI) by bacterially produced hydrogen sulphide in a marine environment. Water Res., 1981, 15, 1351~1354
- 16 杨逸萍, 刘革. 示差脉冲吸附伏安法测定海水中痕量Cr(VI). 厦门大学学报(自然科学版), 1990, 29 (3): 318~322
- 17 Frey B E *et al.* Sensitivity of estuarine phytoplankton to hexavalent chromium. Est. Coast. Shelf. Sci., 1983, 17, 181~188
- 18 Van der Weijden C H and Reith M. Chromium(III) and chromium(VI) interconversion in sea water. Mar. Chem., 1982, 11, 565~572
- 19 Pettine M and Millero F J. Chromium speciation in sea water: the probable role of hydrogen peroxide. Limnol. Oceanogr., 1990, 35, 730~736
- 20 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): 104~108
- 21 Komori K *et al.* A method for removal of toxic chromium using dialysis-sac cultures of a chromate-reducing gram-variable bacterium with mixed type of flagellation. Microbiologica, 1990, 33, 117~119
- 22 杨孙楷, 林建东. 海水中可溶态铬的化学形态研究. 海洋学报, 1985, 7, 572~585