

苯系物作为唯一碳源对异化铁还原过程的影响*

刘 硕, 曲 东

(西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 以水稻土浸提液为接种液、人工合成的无定形氧化铁为唯一的电子受体, 添加的苯系物(甲苯、苯胺、苯酚、苯甲酸)为唯一碳源, 在适量无机N、P、K营养供给条件下, 采用厌氧恒温混合培养方法, 研究了厌氧微生物对氧化铁还原的影响。结果表明, 由水稻土中提取的微生物可以利用苯系物作为唯一碳源, 在厌氧降解的同时将电子转移给Fe(III), 使其还原为Fe(II); 利用不同苯系物的铁还原过程难易程度有所差异, 铁还原率表现为苯甲酸最高(53.99%), 甲苯最低(19.55%), 利用苯系物的铁还原率均低于以葡萄糖为碳源时的铁还原率(71.16%); 不同浓度苯系物对氧化铁还原过程有不同程度的影响, 在一定浓度范围内, 随着苯系物浓度的增加其对氧化铁还原过程具有促进作用, 而高浓度苯系物则对氧化铁还原过程表现出抑制趋势; 以2.0 mmol/L 苯系物作为碳源时, 葡萄糖-2,6-二磺酸盐(AQDS)可明显增加Fe(II)的累积量。

[关键词] 异化铁还原; 苯系物; 水稻土; 葡萄糖-2,6-二磺酸盐

[中图分类号] S153.3; X172

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)10-0101-06

氧化铁还原过程是厌氧沉积物及淹水稻田中重要的微生物学过程, 其不仅影响着土壤中N、P、K、Si等营养元素的有效性, 而且对土壤中重金属的转化及有机物的降解具有重要意义^[1]。水稻土中氧化铁的还原属于异化还原过程, 在微生物的介导下, Fe(III)可作为电子受体进行异化还原反应生成Fe(II), 从而为土壤有机物的厌氧代谢提供电子, 并为微生物的生长提供能量。国外的研究^[2-7]表明, 芳香烃、卤代芳烃、染料及长链脂肪酸等有机污染物均有可能在铁还原条件下降解。*Geobacter metallireducens*是在纯培养研究中发现的可以在厌氧条件下氧化芳香烃的第一种微生物^[8-9]。*Ferroglogus placidus*是首次被证实可氧化芳香化合物的古生菌和超嗜热菌^[3]。同时,*Geobacter*家族也是目前导致氧化铁进行异化还原的主要微生物族群。因此, 利用异化Fe(III)还原微生物对芳香化合物的代谢作用, 将为厌氧环境中芳香化合物污染的生物修复提供新的思路。生物修复的实践^[10-12]发现, 在被石油污染含水层Fe(III)还原区采集的沉积物中, 腐殖类物质能在很大程度上促进芳香族化合物的降解。通过纯培养研究^[13]证实, 这种促进作用是因为腐殖质物质充当着铁还原微生物与铁氧化物之间的电子穿梭体。

鉴于腐殖质物质结构复杂, 实验室中常用类同腐殖物质的葡萄糖-2,6-二磺酸盐(Anthraquinone-2,6-disulfonate, AQDS)来研究其在异化Fe(III)还原过程中的作用。

由于异化铁还原是由微生物介导的氧化还原反应, 铁还原微生物的种类、Fe(III)形态、其他电子受体和电子供体的种类及电子穿梭体的存在均会直接或间接的影响到Fe(III)的还原。因此, 本试验拟以水稻土浸提液作为微生物来源, 以人工合成的无定形氧化铁为唯一的电子受体, 添加苯系物(甲苯、苯胺、苯酚、苯甲酸)为唯一碳源, 添加AQDS作为电子穿梭体, 在适量无机N、P、K营养供给条件下, 采用厌氧恒温混合培养方法, 探讨厌氧微生物对氧化铁还原的影响, 以期为铁还原条件下有机污染物的生物修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

试验所用的水稻土采自四川省邛崃市回龙镇, 土壤有机质含量为48.9 g/kg, 全铁含量为34.2 g/kg, 无定型铁含量为3.08 g/kg, 游离铁含量为11.7 g/kg, pH为7.34。土样自然风干, 磨细, 过

* [收稿日期] 2005-12-30

[基金项目] 国家自然科学基金项目(40271067); 教育部博士学科点专项科研基金项目(20020712009)

[作者简介] 刘 硕(1982-), 男, 河北邢台人, 在读硕士, 主要从事环境化学研究。

[通讯作者] 曲 东(1960-), 男, 河南陕县人, 教授, 博士, 主要从事土壤环境化学研究。E-mail: dongqu@nwafu.edu.cn

1 mm 孔径的土壤筛。

1.2 微生物接种液的制备

将风干过 1 mm 筛的供试水稻土以 m (水稻土) V (去离子水) = 1 : 9 的比例, 在 30 °C 下淹水 7 d。将培养后的土样置离心机中, 于 700 r/m in 离心 10 min, 取上清液用作微生物接种液^[14]。

1.3 试验设计及测定方法

1.3.1 以苯系物为唯一碳源时铁还原过程对苯系物利用的影响 采用厌氧培养的方法, 以人工合成的 Fe(OH)_3 ^[15] 作为唯一电子受体, 分别以苯系物(甲苯、苯胺、苯酚、苯甲酸)和葡萄糖作为唯一碳源, 同时设置不添加碳源的处理作为对照。在 10 mL 血清瓶中首先加入 1 mL 人工合成的 Fe(OH)_3 悬液^[15](含铁量为 2.883 g/L), 加盖 121 °C 灭菌 30 min, 冷却后开盖, 分别加入除菌后的氯化铵(5 g/L NH_4Cl)、25 mmol/L 磷酸盐缓冲液(KH_2PO_4 与 K_2HPO_4 的摩尔比为 0.580.9)及接种液各 1 mL, 然后分别加入苯系物(苯酚和苯甲酸直接加入 10 mmol/L 溶液 1 mL, 甲苯和苯胺分别加入原液 1.064 μL 和 0.913 μL , 并补蒸馏水 1 mL)及 10 mmol/L 葡萄糖溶液 1 mL, 各处理的碳源(按有机碳计)浓度均为 2.0 mmol/L, 盖紧橡胶塞后用铝盖密封, 于 30 °C 培养箱中暗光培养。培养过程中分别在第 0, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 55 d 采样测定 Fe(II) 浓度。每次采样时各处理取出 1 瓶, 充分摇匀, 剔除铝盖, 揭开橡胶塞用自动加样器吸取 1 mL 悬液, 每瓶 3 次重复。将取得的样品置于含 4 mL 0.5 mol/L 盐酸溶液的带盖聚乙烯管中, 在 30 °C 培养箱中浸提 24 h^[16]。测定时将浸提液用注射器吸出过 0.22 μm 滤膜, 用邻菲啰啉分光光度法^[14]测定滤液中的 Fe(II) 浓度。

1.3.2 不同浓度苯系物对铁还原过程的影响 采用厌氧培养的方法, 以人工合成的 Fe(OH)_3 为电子受体, 采用来源于四川水稻土的微生物接种液, 分别添加不同浓度的苯系物。培养液中甲苯和苯胺的最终浓度分别设置为 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0 mmol/L; 苯酚和苯甲酸的最终浓度分别设置为 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0 mmol/L; 以不添加苯系物作为对照。培养、采样及测定方法同 1.3.1。

1.3.3 AQDS 对铁还原微生物利用苯系物过程的调节作用 培养介质中以人工合成的 Fe(OH)_3 为唯一电子受体, 分别以苯系物(甲苯、苯胺、苯酚、苯甲酸)和葡萄糖为唯一碳源, 试验分别设置添加和不添加 AQDS 及不添加碳源的对照处理。在所有的培

养试验中, Fe(OH)_3 悬液、 NH_4Cl 均通过高压灭菌, 磷酸盐缓冲液和 AQDS 溶液通过细菌滤器(< 0.22 μm)除菌; 在不添加 AQDS 的处理中, 每瓶分别加入 1 mL 5 g/L 的 NH_4Cl 溶液、1 mL Fe(OH)_3 悬液、1 mL 微生物接种液及 1 mL 25 mmol/L 的磷酸盐缓冲液, 各处理的碳源(按有机碳计)浓度均为 2.0 mmol/L。在添加 AQDS 处理中, 加入 1 mL 5 g/L NH_4Cl 溶液和 25 mmol/L 磷酸盐缓冲液的混合液(< 0.22 μm 细菌滤器除菌)、1 mL Fe(OH)_3 悬液、1 mL 微生物接种液及 1 mL 0.5 mmol/L AQDS, 碳源与不添加 AQDS 处理相同。培养、采样及测定方法同 1.3.1。

2 结果与分析

2.1 以苯系物为唯一碳源时铁还原过程对苯系物利用的影响

以苯系物为唯一碳源时, 铁还原过程对苯系物的利用情况见图 1。

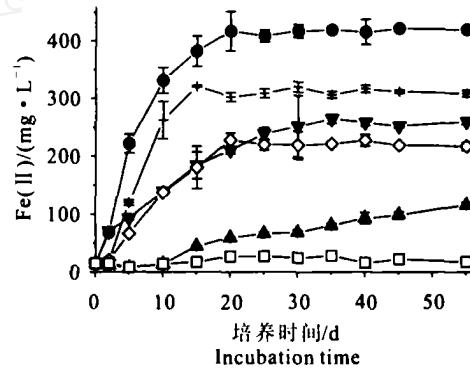


图 1 异化铁还原过程对苯系物利用的影响

- - - CK; - - - Glucose; - · - Toluene;
- ▼ - Aniline; - - - Phenol; - + - Benzoic acid

Fig. 1 Effect of iron reduction on the utilization of benzene analogs

由图 1 可知, 在 55 d 的培养过程中, 不加碳源的对照中几乎无 Fe(II) 产生, 说明缺乏电子供体时氧化铁还原过程不能发生, 同时也说明接种液或其他添加物中所含的碳源不足以影响铁还原过程。在添加苯系物的各处理中, 随培养时间的延长, Fe(II) 累计产生量逐渐增大, 培养一定时间后, 氧化铁还原过程趋于稳定, Fe(II) 含量几乎不再变化, 说明苯系物作为唯一碳源可以被铁还原过程利用。不同碳源被铁还原过程利用的难易程度不同, 当以葡萄糖作为碳源时, 在培养 20 d 内 Fe(III) 迅速被还原; 而

以苯系物作为碳源时, 苯甲酸在培养15 d内Fe(III)被迅速还原, 苯酚和苯胺分别在培养20和30 d时铁还原才趋于稳定状态; 与其他苯系物处理相比, 甲苯在培养前10 d基本没有反应, 10 d以后才慢慢被铁还原过程利用, 在培养周期内Fe(II)含量一直较低。

异化Fe(III)还原是微生物介导的生物学过程, 与微生物的生长密切相关, 所以可用表征微生物生长动力学的Logistic方程描述。Logistic方程的表达式为: $Y = a/[1 + b \cdot \exp(-cx)]$, 式中, Y 为不同时刻的Fe(II)浓度; x 为反应时间; a, b, c 均为参数。通过Logistic方程拟合, 可求出Fe(III)还原的最大潜势, 即Fe(II)最大累积量(数值等于参数 a)和Fe(III)最大还原速率(V_{\max})(数值等于 $0.25ac$)。Fe(III)的还原率用Fe(II)最大累积量与加入氧化铁

量的比值表示。不同碳源Fe(III)还原过程的Logistic方程见表1。从表1可以看出, 以葡萄糖作为碳源时, V_{\max} 达47.68 mg/(L·d), 反应末期Fe(III)还原率达71.16%, 与其他碳源相比, 其Fe(III)还原率最高; 在苯系物中, 苯甲酸作为碳源时的Fe(III)还原率和 V_{\max} 最大, 分别为53.99%和40.62 mg/(L·d); 甲苯作为碳源时的Fe(III)还原率最低, 仅为19.55%, 其Fe(III)最大还原速率也最小; 以苯胺和苯酚作为碳源时, 两者Fe(III)还原率和 V_{\max} 差异较小, 但苯胺处理的Fe(III)还原率略大于苯酚处理。不同碳源Fe(III)还原率和 V_{\max} 的差异说明, 碳源对异化铁还原过程有很大的影响。究其原因, 可能是由于碳源结构和毒性的差异对铁还原微生物产生的影响有差异所致。

表1 不同碳源Fe(III)还原过程的Logistic方程

Table 1 Logistic model of dissimilatory Fe(III) reduction of different carbon sources

碳源 Carbon source	Logistic 方程 Logistic model	Fe(III) 还原率/% Reaction rate	$V_{\max}/$ (mg · L ⁻¹ · d ⁻¹)
葡萄糖 Glucose	$Y = 410.3/[1 + 11.85 \cdot \exp(-0.465x)]$, $r = 0.993$	71.16	47.68
甲苯 Toluene	$Y = 112.7/[1 + 10.35 \cdot \exp(-0.102x)]$, $r = 0.981$	19.55	2.859
苯胺 Aniline	$Y = 256.0/[1 + 6.273 \cdot \exp(-0.190x)]$, $r = 0.987$	44.40	12.16
苯酚 Phenol	$Y = 221.1/[1 + 13.94 \cdot \exp(-0.308x)]$, $r = 0.996$	38.35	17.05
苯甲酸 Benzoic acid	$Y = 311.3/[1 + 25.33 \cdot \exp(-0.522x)]$, $r = 0.998$	53.99	40.62

2.2 不同浓度苯系物对异化铁还原过程的影响

2.2.1 甲苯 添加不同浓度的甲苯对异化铁还原过程的影响见图2。由图2可知, 在培养前30 d中, Fe(II)累积量与对照差异不明显, 30 d后不同浓度甲苯处理中的Fe(II)累积量均随着培养时间的延长而增加。究其原因, 可能是铁还原微生物不易直接利用甲苯, 而只能利用其分解后的产物(如小分子的脂肪酸), 因此利用甲苯的铁还原在初期反应很慢, 需

要在其他微生物的分解产物积累到一定数量后才能被铁还原微生物利用。当培养45~80 d, 甲苯处理的铁还原速率迅速增加, 并且Fe(II)累积量和添加的甲苯浓度成正相关关系。由以上结果可知, 甲苯在培养初期比较难被微生物利用, 但在培养一段时间后, 在一定浓度范围内随着浓度增大, 可供微生物利用的碳越多, 最终生成Fe(II)的量也越多。

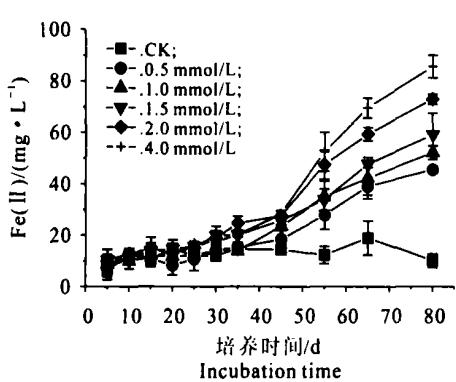


图2 添加不同浓度甲苯对异化铁还原的影响

Fig. 2 Effect of adding toluene of different concentrations on dissimilatory iron reduction

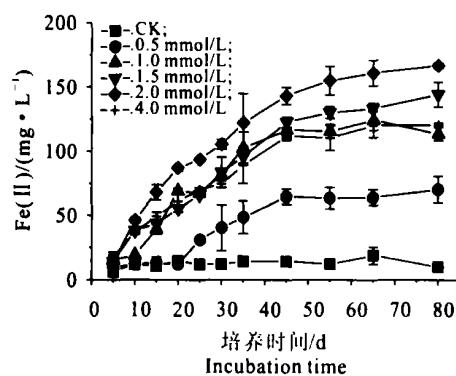


图3 添加不同浓度苯胺对异化铁还原的影响

Fig. 3 Effect of adding aniline of different concentrations on dissimilatory iron reduction

2.2.2 苯胺 由图3可以看出,当供试苯胺浓度为0.5~4.0 mmol/L时,Fe(II)含量在培养过程中均有明显的增加,除4.0 mmol/L处理外,其他处理的Fe(II)累积量均随着苯胺浓度的增大而增加,对铁还原反应的促进作用也依次增强,不同浓度处理在Fe(III)开始还原的时间上也有一定差异。苯胺浓度为0.5和1.0 mmol/L时,Fe(II)开始生成的时间分别为20 d和10 d,且这两个处理在45 d后Fe(II)的累积量才趋于稳定,其中0.5 mmol/L苯胺处理的Fe(II)最终累积量仅为70.14 mg/L,仅是2.0 mmol/L处理Fe(II)最终累积量的40%左右。在4.0 mmol/L浓度的处理中,尽管Fe(II)含量能够迅速增加,但其Fe(II)累积量却仅与1.0 mmol/L浓度苯胺处理相似。其原因可能与高浓度苯胺对铁还原

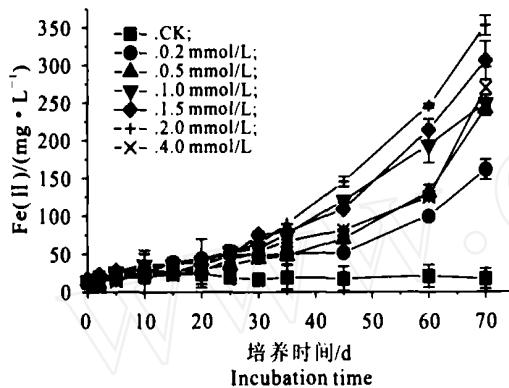


图4 添加不同浓度苯甲酸对异化铁还原的影响

Fig. 4 Effect of adding benzoic acid of different concentrations on dissimilatory iron reduction

2.2.4 苯酚 与其他碳源处理(图2,3,4)相比,不同浓度苯酚的铁还原过程(图5)均表现出较长的抑制期,其中0.2,0.5,1.0,1.5,2.0和4.0 mol/L苯酚处理的Fe(II)开始迅速增加的时间分别为第45,35,30,30,30和45天。当苯酚浓度为0.2~2.0 mol/L时,Fe(II)累积量基本上随苯酚浓度的增大而增加。4.0 mmol/L苯酚处理对铁还原微生物的活性产生一定的抑制作用,在培养周期内其Fe(II)累积量一直比较低,与0.5 mmol/L苯酚处理的Fe(II)累积量变化趋势相似。与甲苯和苯胺处理(图2,3)相比,各浓度苯酚处理在培养后期(60~70 d)依然具有较大的反应速率,其铁还原微生物活性较大,Fe(II)累积量持续增加,表现出较大的铁还原潜势。

2.3 AQDS 对铁还原微生物利用苯系物过程的调节作用

比较图6和图1可知,对照添加AQDS后,Fe(II)累积量几乎不发生变化,表明体系中微生物并

微生物产生了一定的毒性有关。

2.2.3 苯甲酸 由图4可见,在不同浓度苯甲酸处理的培养初期,铁还原反应速率较高,且随培养时间的增加Fe(II)含量迅速增大。当苯甲酸浓度小于1.0 mmol/L时,在培养前10 d各处理的Fe(II)增加很快,但10 d后Fe(II)的累积量增长趋势变缓;当苯甲酸浓度为1.0~2.0 mmol/L时,随着苯甲酸浓度的增大,苯甲酸对铁还原的促进作用依次增强;在培养周期内,4.0 mmol/L苯甲酸处理的Fe(II)累积量一直增加,但其Fe(II)累积量基本上与1.0 mmol/L苯甲酸处理相似。培养70 d时,1.5和2.0 mmol/L苯甲酸处理仍然表现出较大的铁还原潜势。

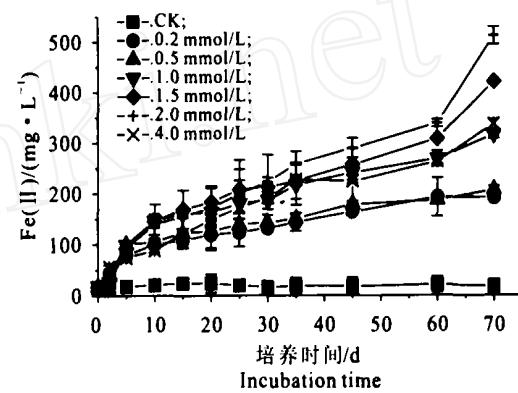


图5 添加不同浓度苯酚对异化铁还原的影响

Fig. 5 Effect of adding phenol of different concentrations on dissimilatory iron reduction

不能以AQDS作为铁还原过程的碳源而加以利用。在以葡萄糖为碳源的处理中,添加AQDS后Fe(II)累积量在第5天就几乎达到了最大,铁的还原速率显著提高。对于添加苯系物的处理,当加入AQDS后,Fe(II)累积量均明显增加。

由图1和图6还可知,以甲苯为碳源的处理在培养前10 d基本无Fe(II)生成,10 d后才慢慢开始反应,而添加AQDS后从第5天起就有Fe(II)生成,并随着培养时间的增加一直呈缓慢上升趋势;以苯胺作为碳源时,添加AQDS与否对培养前30 d的Fe(II)累积量影响不显著,两个处理的铁还原程度基本相同,但培养30 d后,添加AQDS处理的Fe(II)累积量明显高于不添加AQDS处理;以苯酚作为碳源的处理中,20 d后反应都基本达到平衡,但添加AQDS处理的Fe(II)累积量明显高于不添加AQDS处理;以苯甲酸作为碳源时,添加AQDS对Fe(II)累积量达到平衡的时间没有影响,但提高了Fe(II)

累积量。

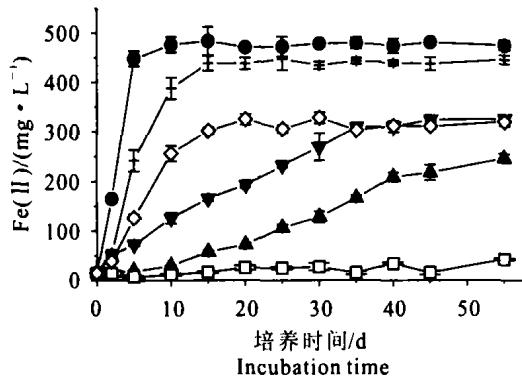


图6 AQDS 对不同碳源利用条件下铁还原过程的影响
 - . 对照+ AQDS; - . 葡萄糖+ AQDS;
 - . 甲苯+ AQDS; - ▼ . 苯胺+ AQDS;
 - . 苯酚+ AQDS; - + . 苯甲酸+ AQDS

Fig. 6 The effect of adding AQDS on Fe(III) reduction under different organic C treatments
 - . CK+ AQDS; - . Glucose+ AQDS;
 - . Toluene+ AQDS; - ▼ . Aniline+ AQDS;
 - . Phenol+ AQDS; - + . Benzoic acid+ AQDS

表2 添加AQDS 对Fe(II)最大累积量及Fe(III)还原率的影响

Table 2 Effects of adding AQDS on Fe(II) accumulation and Fe(III) reduction rate

碳源 Carbon source	Fe(II)最大累积量/ (mg·L⁻¹) Fe(II) accumulation	Fe(II)累积量增值/ (mg·L⁻¹) Difference of Fe(II) accumulation	Fe(II)增长率/% Increase rate	Fe(III)还原率/% Reduction rate
葡萄糖 Glucose	475.8	65.50	15.96	82.52
甲苯 Toluene	263.3	150.6	133.6	45.66
苯胺 Aniline	326.3	70.30	27.46	56.59
苯酚 Phenol	313.6	92.50	41.84	54.39
苯甲酸 Benzoic acid	436.9	125.6	40.35	75.77

3 讨 论

Anderson 等^[17]的研究指出, 萍、苯等芳香族化合物在不同地区沉积物中的降解情况有很大的区别。萍、苯等在一些沉积物中并不能被降解, 这和不同沉积物中的微生物数量和种类及沉积物中氧化铁的形态有很大关系。在本试验中, 采用比表面大、中性、易于被微生物利用的无定型氧化铁作为电子受体^[18], 添加苯系物作为唯一碳源, 研究结果表明, 铁还原过程对不同碳源的利用程度不同, 但添加的碳源都可以被利用, 说明苯系物可以作为铁还原过程的唯一碳源, 苯系物可以在铁还原条件下被水稻土中的微生物利用。

本研究结果表明, 以苯系物为唯一碳源, 添加不同浓度的甲苯、苯胺、苯酚、苯甲酸均对铁还原有不同程度的影响, 其通过促进或抑制铁还原过程, 进而

添加AQDS 对不同碳源处理的Fe(II)最大累积量和Fe(III)还原率的影响如表2所示, 其中添加AQDS后的Fe(II)累积量增值和增长率是与表1中不添加AQDS时的Fe(II)最大累积量相比较而得出的结果。由表2可知, 与不添加AQDS处理相比, 添加AQDS可明显使Fe(II)最大累积量增加, 同时也使Fe(III)还原率增大。

比较表1和表2可知, 以甲苯为碳源的处理中, 不添加AQDS处理时的Fe(II)最大累积量仅为112.7 mg/L, 而添加AQDS后为263.3 mg/L, 约为不添加AQDS处理的2倍, 虽然其Fe(III)还原率最低, 但增加幅度最大; 以苯酚、苯甲酸、苯胺、葡萄糖为碳源的处理中, 与不添加AQDS相比, 添加AQDS分别可使Fe(II)最大累积量增加41.84%, 40.35%, 27.46% 和15.96%。由以上研究结果可知, 虽然添加AQDS对不同碳源的促进程度不同, 但添加AQDS可明显调节铁还原过程对苯系物的利用, 尤其对较难被铁还原微生物利用的碳源的促进作用更为明显。

影响Fe(II)的最终累积量。低浓度或高浓度苯系物均对铁还原过程有抑制作用, 低浓度苯系物可能是由于所提供的碳量少, 异化铁还原过程难以充分进行; 而高浓度苯系物的抑制作用, 一方面可能是由于苯系物的毒性比较大, 使开始阶段微生物不能大量繁殖, 从而抑制铁还原反应的发生; 另一方面可能是由于苯系物并不是铁还原微生物的直接碳源, 而是先由其他微生物代谢, 然后铁还原微生物利用其代谢产物, 等铁还原微生物大量繁殖以后, Fe(II)才能大量生成。例如, 葡萄糖可被许多微生物所利用, 其降解过程中生成的H₂也可被一些异化Fe(III)还原的古生菌利用, 这也说明了苯系物被利用的过程可能是一个共营养过程。

不同碳源被利用的难易程度不同, 这和苯环上的官能团有很大的关系, 有研究^[17]证实, 甲苯先是-CH₃被利用, 然后才是苯环, 所以甲苯较苯容易被

利用,但与带- NH₂, - OH, - COOH 官能团的有机物相比,则其较难被利用。厌氧条件下铁还原微生物可以利用有机酸^[19],所以带- COOH 的苯甲酸在一定程度上容易被利用,而且苯甲酸与苯胺和苯酚相比也多1个碳,从结构上分析苯甲酸处理中的Fe(III)还原量和还原速率均应该最高,这也与本试验结果一致。苯胺、苯酚结构上比较相似,本试验结果也恰好表明两者的反应程度基本处于同一水平。

在本试验中,AQDS 并没有起到碳源的作用,但添加AQDS 的处理中Fe(II)累积量明显增加,证实了腐殖质类物质(AQDS)在氧化还原体系中作为

电子穿梭体,起到了传递电子的作用。非铁还原菌(*Propionibacterium freudenreichii*)可以在厌氧氧化过程中通过腐殖酸传递电子而使Fe(III)还原^[11],说明土壤或沉积物中的异化铁还原过程并不仅仅与铁还原菌有关。本试验体系中,以四川水稻土浸提液作为微生物接种液,添加AQDS 促进铁还原的原因一是由于AQDS 促进了铁还原微生物利用苯系物而产生的电子转移;另外,可能是由于一部分非铁还原菌利用了苯系物,并且在AQDS 作用下传递电子给氧化铁从而促进了铁还原。

[参考文献]

- [1] Lovley D R. Microbial Fe(III) reduction in subsurface environments[J]. *FEMS Microbiological Reviews*, 1997, 20: 305-313.
- [2] Lovley D R, Woodward J C, Chapelle F H. Stimulated anoxic biodegradation of aromatic hydrocarbons using Fe(III) ligands[J]. *Nature*, 1994, 370: 128-131.
- [3] Tor JM, Lovley D R. Anaerobic degradation of aromatic compounds coupled to Fe(III) reduction by *Ferroglobus placidus*[J]. *Environmental Microbiology*, 2001, 3(4): 281-287.
- [4] Kazum i J, Haggbloom M M, Young L Y. Degradation of monochlorinated and nonchlorinated aromatic compounds under iron-reducing conditions[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1995, 61(11): 4069-4073.
- [5] Rooney-Varga J, Anderson R T, Farga J. Microbial communities associated with anaerobic benzene degradation in a petroleum-contaminated aquifer[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1999, 65(7): 3056-3063.
- [6] Lovley D R, Lonergan D J. Anaerobic oxidation of toluene, phenol, and p-cresol by the dissimilatory iron-reducing organism, GS-15[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1990, 56(6): 1858-1864.
- [7] Krumholz L R, Sharp R, Fishbain S S A. Freshwater anaerobic coupling acetate oxidation to tetrachloroethylene dehalogenation[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1996, 62(11): 4108-4113.
- [8] Lovley D R, Phillips E J P. Novel mode of microbial energy metabolism: organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1988, 54(6): 1472-1480.
- [9] Lovley D R, Giavannoni S J, White D C, et al. *Geobacter metallireducens* gen. nov. sp. nov., a microorganism capable of coupling the complete oxidation of organic matter to the reduction of iron and other metals[J]. *American Microbiology*, 1993, 159(4): 336-344.
- [10] Lovley D R, Coates J D, Blunt-Harris E L, et al. Rapid anaerobic benzene oxidation with a variety of chelated Fe(III) forms[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1996, 62(1): 288-291.
- [11] Cervantes F J, Dijkema W, Duong-Dac T, et al. Anaerobic mineralization of toluene by enriched sediments with quinones and humus as terminal electron acceptors[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2001, 67(10): 4471-4478.
- [12] Bond D R, Lovley D R. Reduction of Fe(III) oxide by methanogens in the presence and absence of extracellular quinines[J]. *Environmental Microbiology*, 2002, 4(2): 115-124.
- [13] Lovley D R, Coates J D, Blunt-Harris E L, et al. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration[J]. *Nature*, 1996, 382: 445-448.
- [14] 孙丽蓉,曲东,王旭刚.土壤微团聚体中氧化铁的异化还原能力[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2004,32(10):47-50.
- [15] Schwertmann U, Cornell R M. Iron oxides in the Laboratory. Preparation and characterization[M]. Weinheim: VCH, 1991: 69-144.
- [16] Schnell S, Ratering S. Simultaneous determination of iron(III), iron(II), and manganese(II) in environmental samples by ion chromatography[J]. *Environmental Science and Technology*, 1998, 32: 1530-1537.
- [17] Anderson R T, Lovley D R. Naphthalene and benzene degradation under Fe(III)-reducing conditions in petroleum-contaminated aquifers [J]. *Bioremediation Journal*, 1999, 3(2): 121-135.
- [18] 曲东, Schnell S. 纯培养条件下不同氧化铁的微生物还原能力[J]. *微生物学报*, 2001, 41(6): 745-749.
- [19] 曲东, Schnell S, Conrad R. 外源氧化铁对水稻土中有机酸含量的影响[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(11): 1425-1428.

(下转第112页)

- [22] Lan Y, Deng B, Kim C, et al Catalysis of elemental sulfur nanoparticles on chromium (VI) reduction by sulfide under anaerobic conditions[J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(7): 2087-2094
- [23] Arias YM, Tebo B M. Cr(VI) Reduction by sulfidogenic and nonsulfidogenic microbial consortia[J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69(3): 1847-1853

Reduction capabilities of microbial Cr(VI) in anaerobic environment

L I Song, QU Dong

(College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The changes of Cr(VI) and Fe(II) concentration were measured during Co-culture experiment and slurry experiments. The microbial reducing ability of different chromate concentrations and the effect of chromate on dissimilatory iron reduction in paddy soil were investigated. The result indicated that, although microorganism from paddy soil could directly reduce Cr(VI), the reducing rate and efficiency were limited; the higher Cr(VI) concentration was, the less reducing ability the microbial showed; the microbe from different paddy soils had different effects on Cr(VI) reducing abilities; The reducing ability of the microbe from Sichuan paddy soil was higher than that from Jiangxi paddy soil. Cr(VI) added could be rapidly reduced in paddy soil under anaerobic incubation, moreover, the process of dissimilatory iron reduction of soil could obviously promote the Cr(VI) reduction. The existent of Cr(VI) could delay the appearance of Fe(II); the higher Cr(VI) concentration was, the later Fe(II) appeared. The delayed time of Fe(II) appearance was in accordance with the ending time of Cr(VI) reduction.

Key words: microbial Cr(VI) reduction; dissimilatory iron reduction; paddy soil

(上接第106页)

Abstract ID: 1671-9387(2006)10-0101-CA

Effects of benzene analogs as sole carbon source on dissimilatory iron reduction

L IU Shuo, QU Dong

(College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100, China)

Abstract: The paddy soil extraction was incubated anaerobically as inoculum and dissimilatory iron reduction was investigated during anaerobic co-culture containing ferrihydrite as sole electron acceptor, benzene analogs (toluene, aniline, phenol, benzoic acid) as sole carbon source, under suitable supplies of inorganic N, P and K nutrition. The results indicated that, the microbe in the paddy extraction could transfer electrons to Fe(III), utilizing benzene analogs as sole carbon source when microbe was degraded; the iron reduction rates were different, the maximal reduction was 53.99% with benzoic acid as carbon source and the minimum reduction was 19.55% with toluene as carbon source; the reduction level with benzene analogs as carbon source was less than that with glucose as carbon source (71.16%); different concentrations of benzene analogs had different effects on iron reduction; under suitable concentration range of benzene analogs, dissimilatory iron reduction depending upon the microorganism activities could be strengthened, however, there was a trend that iron reduction was to be suppressed when the concentration of benzene analogs was too high. The addition of anthraquinone-2, 6-disulfonate during co-culture could obviously increase Fe(II) level with 2.0 mmol/L of benzene analogs as carbon source. This showed that anthraquinone-2, 6-disulfonate could promote the transference of electrons from the benzene analogs to ferrihydrite.

Key words: dissimilatory iron reduction; benzene analogs; paddy soil; anthraquinone-2, 6-disulfonate