

王莉, 陈晓明, 肖伟, 等. 氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*)对重金属富集植物腐蚀作用研究[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(12): 2420-2430.

WANG Li, CHEN Xiao-ming, XIAO Wei, et al. The corrosive effects of *Thiobacillus ferrooxidans* on heavy metal-enriched plant[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(12): 2420-2430.

氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*)对重金属富集植物腐蚀作用研究

王莉^{1,2}, 陈晓明^{1,2*}, 肖伟^{1,2}, 张祥辉^{1,2}, 罗学刚^{1,2}

(1.西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010; 2.西南科技大学核废物与环境安全国防重点实验室, 四川 绵阳 621010)

摘要:为了获得重金属富集植物生物法预处理的最佳工艺条件, 实现其资源化利用, 以黑麦草(*Lolium perenne*)为材料, 探究氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*, T.f)在不同接种量和不同浓度底物添加剂(S^0 、 $Na_2S_2O_3$ 、 $FeSO_4$ 、 FeS 和 Fe^0)条件下对黑麦草的腐蚀作用, 通过扫描电镜进一步观察其对细胞壁的破坏情况。结果表明:氧化亚铁硫杆菌对黑麦草具有较好的腐蚀作用, 各接种量(5%~15%)之间差异较小, 反应第10 d, 10%接种量处理组中黑麦草的纤维素降解率达40.97%, 半纤维素降解率达77.49%, 木质素降解率达19.33%。投加底物添加剂后, 氧化亚铁硫杆菌对纤维素降解率有明显提高。总体来看, 添加 $14\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 S^0 对黑麦草的降解效果较好, 纤维素、半纤维素及木质素的降解率分别达到81.31%、82.29%、26.02%, 此条件下铀、铬、镉的浸出效率均较高。在氧化亚铁硫杆菌及底物添加剂的作用下, 除 FeS 、 Fe^0 处理组外, 其他各处理组的pH值均呈下降趋势, 反应10 d后, pH值最低降至1.0左右, pH值的降低能有效提高半纤维素降解率, 但与纤维素及木质素的降解率无明显关系。扫描电镜结果表明氧化亚铁硫杆菌对黑麦草细胞壁有较强的破坏作用。氧化亚铁硫杆菌对黑麦草具有很好的腐蚀效果, 并且能充分利用底物添加剂提高黑麦草中纤维素降解率。后期需进一步考虑提高氧化亚铁硫杆菌对木质素的降解效率及黑麦草中重金属的回收率。

关键词:黑麦草; 氧化亚铁硫杆菌; 腐蚀作用; 纤维素; 半纤维素; 木质素

中图分类号: X712 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2016)12-2420-11 doi:10.11654/jaes.2016-0826

The corrosive effects of *Thiobacillus ferrooxidans* on heavy metal-enriched plant

WANG Li^{1,2}, CHEN Xiao-ming^{1,2*}, XIAO Wei^{1,2}, ZHANG Xiang-hui^{1,2}, LUO Xue-gang^{1,2}

(1.School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China; 2.State Defense Key Laboratory of the Nuclear Waste and Environmental Security, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China)

Abstract: In order to obtain the optimal processing conditions and solve the resource utilization for the biological pretreatment of heavy metal-enriched plants, this paper explored the corrosive behavior of ryegrass (*Lolium perenne*) inoculated *Thiobacillus ferrooxidans* (T.f) under different concentrations of substrates (including S^0 , $Na_2S_2O_3$, $FeSO_4$, FeS and Fe^0) conditions. Destruction of the cell wall structure of ryegrass was detected by scanning electron microscopy. The results showed that T.f had strong corrosion effect on ryegrass. There was no significant difference of degradation effect in inoculation amount (5%~10%) of T.f. At the 10th day, the cellulose digestibility, hemicellulose digestibility, and lignin digestibility of ryegrass were 40.97%, 77.49%, and 19.33%, respectively with 10% T.f. After supplementing different substrates with T.f, the digestibility of cellulose was significantly improved. Overall, the digestibility of ryegrass was better at the dosing quantity of S^0 was $14\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. In this case, the digestibility of cellulose, hemicellulose and lignin of ryegrass can be up to 81.31%, 82.29% and 26.02%, respectively. Meanwhile, the recovery efficiency of uranium, chromium and cadmium were high. Under the mutual influences of T.f

收稿日期: 2016-06-20

基金项目: 国家核设施退役及放射性废物治理科研重点项目(14ZG6101); 国民核生化灾害防护国家重点实验室开放基金项目(SKLNBC2015-04); 核废物与环境安全国防重点学科实验室基金(15yhk05)

作者简介: 王莉(1990—), 女, 四川彭州人, 硕士研究生, 主要从事重金属富集生物质的降解和重金属回收利用研究。E-mail: 380959774@qq.com

* 通信作者: 陈晓明 E-mail: cxmhyx99@163.com

and different substrates, the pH of all substrates groups declined dramatically, except the groups of FeS and Fe⁰. The lowest value of pH was about 1.0 at the 10th day. The results showed that the decrease of pH could effectively increase the digestibility of hemicelluloses, but no significant relationship on the cellulose and lignin. Furthermore, T.f had strong destructive action on the cell wall structure of ryegrass detected by the scanning electron microscope. T.f made strong corrosion on ryegrass and combined with making full use of the substrates, it could improve the digestibility of cellulose of ryegrass. To summary, the study on both corrosion efficiency of lignin and recovery efficiency of heavy metals will be improved in the further.

Keywords: ryegrass; *Thiobacillus ferrooxidans*; corrosive effects; cellulose; hemicellulose; lignin

随着经济的发展,重金属污染日趋严重。植物修复技术以其成本低廉、对环境干扰小等优点成为当前环境科学和污染生态学等领域的研究热点^[1-7]。但是,该技术在处理环境问题的同时会产生大量的重金属富集生物质,一旦处理不当,重金属很可能重新释放到环境中造成“二次污染”^[8]。目前对重金属富集生物质的资源化利用仍存在高成本和低效率等问题,其中原料预处理技术的不成熟成为了限制其资源化利用的瓶颈之一。

生物质预处理方法可以大体上分为物理法、物理-化学法、化学法和生物法 4 大类^[9-10]。前三类中应用较多的包括酸碱预处理技术、离子液体预处理技术、臭氧预处理技术等^[11-14],虽然能够脱除生物质中大量的纤维素、半纤维素和木质素,具有一定的研究价值,但其主要受限于两点:一是对反应温度要求较高,二是需要较高的合成和制备成本。而微生物法预处理技术^[15-16]具有作用条件温和、能耗低、处理成本少等优点,成为生物质预处理的一个重要研究方向和研究热点。近年来,微生物法预处理技术研究领域对白腐菌、软腐菌等产酶真菌研究较多^[16],而对细菌的研究却鲜见。

半纤维素和纤维素对酸、碱溶液及氧化剂较敏感,在适当的氢离子浓度、氧化条件和温度作用下化学结构能够被破坏。氧化亚铁硫杆菌属专性化能自养菌,能够通过氧化底物添加剂(Fe²⁺、S⁰、S²⁻等)获得生长、扩增所需的能量,同时产生硫酸及其他代谢产物,已广泛应用于金属和土壤的腐蚀作用、污泥重金属生物淋滤和其他重金属回收利用的研究中,但在生物质方面的应用极少^[17-20]。与现有微生物法预处理技术不同,试验以重金属富集植物黑麦草为材料,利用氧化

亚铁硫杆菌破坏黑麦草结构,通过投入底物添加剂加速反应,提高黑麦草中纤维素的降解效率并分析最佳腐蚀条件下重金属的浸出情况。该研究对于黑麦草中重金属的进一步回收及固体废弃物的资源化利用具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 菌种

氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*, ATCC 53990),购于中国微生物菌种中心。

1.2 黑麦草预处理

黑麦草(*Lolium perenne*)是我国各地常见的优质牧草,具有生长速度快、生物量大、可多次刈割等优点,在重金属植物修复、水土保持等方面具有较大优势^[3-7,21-22]。本试验黑麦草采用土培盆栽方式种于西南科技大学国防重点实验室温室,待种子发芽后 52 d,株高约 30 cm,植株处于旺盛生长期时收获,经过清水去除泥土等杂质,截取其地上部分,105 °C条件下干燥 30 min,65 °C烘干至恒重,最后利用植物粉碎机(RT-02A)将其粉碎后备用。黑麦草中初始成分如表 1 所示。

1.3 试验方案设计

1.3.1 氧化亚铁硫杆菌接种量对腐蚀作用的影响

种子液按照 10%的接种量接入 9K 培养基,于 140 r·min⁻¹、30 °C条件下振荡培养 3 d,再按照 1%、3%、5%、10%、15%的接种量分别培养 3 d,并按照固液比 1:30 加入黑麦草,30 °C条件下培养,分别在 2、4、6、8、10 d 反应后取样分析,每个处理组重复三次,其中以 9K 培养基为对照组。9K 培养基配方如下:

A 液:(NH₄)₂SO₄ 3.0 g, K₂HPO₄ 0.5 g, KCl 0.1 g,

表 1 黑麦草初始成分(干重)

Table 1 Analysis of the initial composition of ryegrass(dry weight)

初始成分	纤维素	半纤维素	木质素	铀/mg·kg ⁻¹	铬/mg·kg ⁻¹	镉/mg·kg ⁻¹
黑麦草	37.54%±1.33%	28.54%±1.12%	21.95%±0.96%	300±32.0	9.50±0.870	0.900±0.100

$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g, $Ca(NO_3)_2$ 0.01 g, 去离子水 800 mL, pH2.0, 121 °C 高压灭菌 30 min。B 液: $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 44.78 g, 去离子水 200 mL, pH2.0, 0.22 μm 的微孔滤膜过滤除菌。将灭菌后的 A 液与 B 液混匀。

1.3.2 底物添加剂对腐蚀作用的影响

取 5 组 250 mL 锥形瓶, 每组 25 个, 按照固液比 1:30 加入黑麦草和 10% 氧化亚铁硫杆菌。然后分别添加不同浓度的 5 组底物添加剂 (S^0 、 $Na_2S_2O_3$ 、 $FeSO_4$ 、 FeS 、 Fe^0), 每组浓度分别为 2.0、4.0、6.0、10.0、14.0 $g \cdot L^{-1}$, 30 °C 条件下培养, 在 2、4、6、8、10 d 反应后取样分析。每个处理组重复三次, 其中以 9K 培养基为对照组 1, 以只含相应的底物添加剂为对照组 2, 以 10% 氧化亚铁硫杆菌为对照组 3。

1.4 样品分析方法

1.4.1 含量分析

纤维素、半纤维素、木质素含量分析: 从第 2 d 起每隔 1 d 取样并离心 ($8000 r \cdot min^{-1}$, 15 min) 后, 上清液采用玻璃电极法测定其 pH 值, 过滤弃其上清液, 将剩余固体水洗 3 次, 75 °C 烘干至恒重, 称重, 并分析其成分变化。样品中纤维素含量采用蒽酮比色法测定^[23], 半纤维素含量采用 DNS 比色法测定^[23], 木质素含量采用乙酰溴比色法测定^[24]。纤维素、半纤维素、木质素降解率计算公式如下:

$$\text{纤维素降解率} = (\text{样品初始纤维素含量} \times \text{样品质量} - \text{处理后样品纤维素含量} \times \text{处理后样品质量}) / (\text{样品初始纤维素含量} \times \text{样品质量}) \times 100\%$$

将上述公式的纤维素含量换成半纤维素含量或木质素含量, 其他不变, 计算出半纤维素和木质素的降解率。

1.4.2 腐蚀前后形貌及重金属分析

黑麦草样品采用日本电子光学公司 JSM-5600LV 型扫描电镜 (SEM) 对腐蚀前后的表面形貌进行分析, 利用电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 测定样品中重金属含量。

1.4.3 数据统计方法

运用 SPSS 22.0 和 Oringe 8.5 软件对测定数据进行统计分析, 图中数据为 3 次重复的平均值 \pm 标准差 (SE), 并采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和最小显著差异法 (LSD) 比较不同数据组间的差异。

2 结果与讨论

2.1 氧化亚铁硫杆菌接种量对黑麦草腐蚀作用的影响

以 9K 培养基为对照组, 分析并研究了氧化亚铁

硫杆菌接种量对黑麦草腐蚀作用的影响, 结果如图 1 所示。由图 1A 可以看出, 氧化亚铁硫杆菌在腐蚀过程中 pH 值先上升至 2.2 再逐步下降, 最后稳定在 1.37, 主要原因为起初 Fe^{2+} 被氧化亚铁硫杆菌氧化而消耗酸, 导致 pH 值上升, 之后 Fe^{3+} 水解产生酸, 致使 pH 值下降。同时可以看出, 不同接种量的 pH 值变化情况相似, 此研究结果与 Wen 等^[25] 和 Gan 等^[26] 的相似; 对照组中 pH 值的变化可能是腐蚀过程中产生的一些有机化合物所导致。图 1B、图 1C 表明, 随着时间的推移, 各处理组和对照组中黑麦草的纤维素、半纤维素降解率逐渐增加, 且各处理组的结果明显大于对照组, 而 5%~15% 接种量各处理组之间差异较小。图 1D 显示各处理组的木质素降解率均略大于对照组, 但差异不显著 ($P > 0.05$), 且各处理组之间差异较小。

通过综合分析可知, 10% 接种量效果最佳, 反应第 10 d, 其纤维素降解率达 40.97%, 半纤维素降解率达 77.49%, 木质素降解率达 19.33%。

研究结果表明, 氧化亚铁硫杆菌对黑麦草具有较好的腐蚀作用, 且 10% 接种量效果最佳, 因而选择以 10% 接种量的氧化亚铁硫杆菌进行下一步研究。

2.2 底物添加剂对腐蚀过程中 pH 值的影响

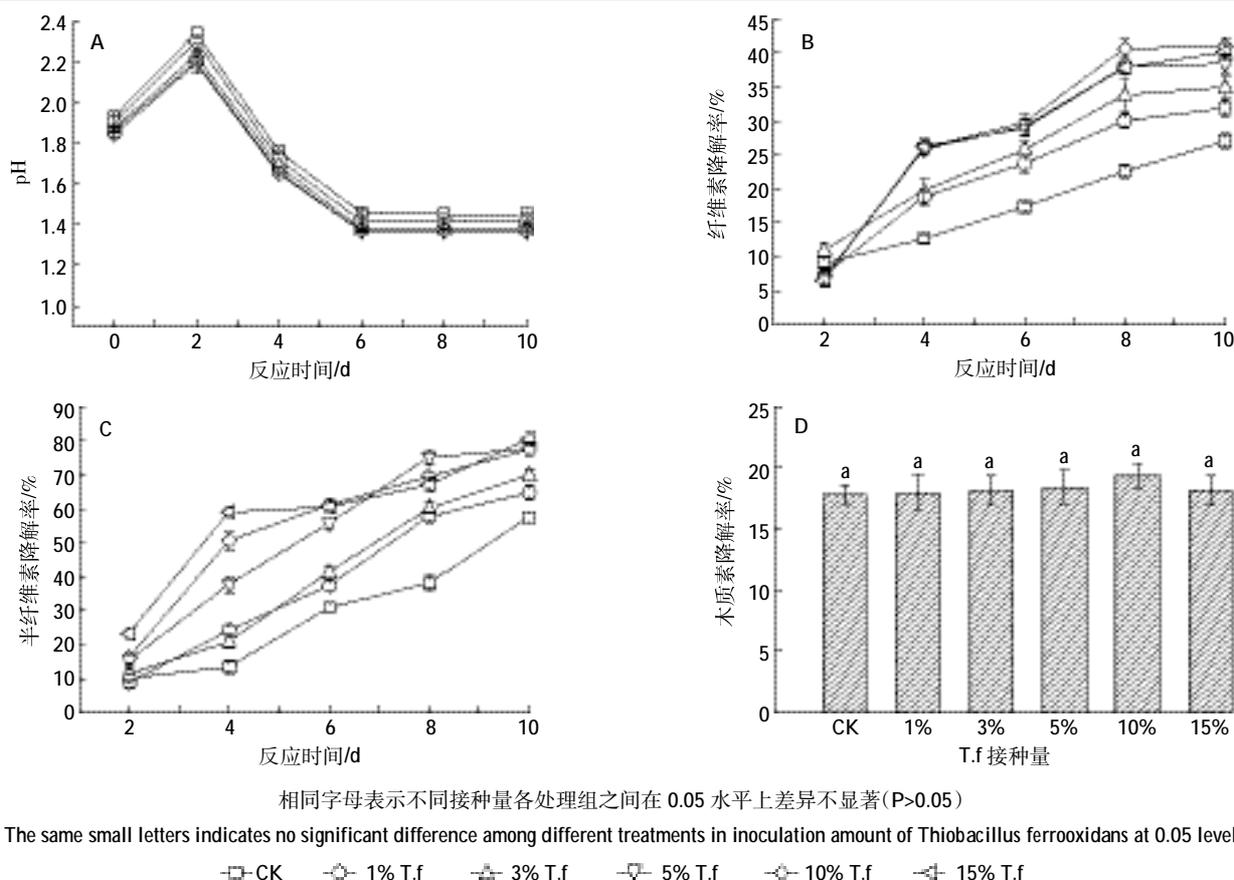
以 10% 氧化亚铁硫杆菌为对照组, 分析其在加入 5 种底物添加剂后对腐蚀过程中 pH 值的影响, 结果如图 2 所示。

加入底物添加剂后, 随着腐蚀的进行, 除硫化亚铁和单质铁外, 其他各处理组的 pH 值总体呈逐步下降趋势, 其中单质硫 pH 值下降幅度最大。反应第 2 d, 所有处理组 pH 值均小于对照组; 到第 4 d, 硫化亚铁与单质铁各处理组的 pH 值开始迅速上升, 且浓度较高时其 pH 值也较高, 经分析推测, 这与溶液中生成 H_2S 和 S^{2-} 在短时间内的不完全氧化有关; 到第 10 d, 因单质硫被氧化成硫酸, 单质硫各处理组的 pH 值均下降至 1.0 左右。此研究结果与张军等^[27] 和陈丽璇等^[28] 的相似。由于硫代硫酸钠为强酸弱碱性盐, 当浓度较高 (大于 $6 g \cdot L^{-1}$) 时水解产生 OH^- 的速率大于酸化速率, 致使 pH 值高于对照组。硫酸亚铁各处理组的 pH 值与对照组相差不大。

综上分析, 单质硫致酸效果最佳, 而硫化亚铁、单质铁的致酸效果较差。此结果有利于进一步探究 pH 值是否会影响纤维素、半纤维素、木质素的降解效率。

2.3 底物添加剂对黑麦草中纤维素的影响

以 9K 培养基作为对照组 1, 分别以只含相应的底物添加剂为对照组 2 (由于 9K 培养基中投加不同



相同字母表示不同接种量各处理组之间在 0.05 水平上差异不显著 ($P>0.05$)

The same small letters indicates no significant difference among different treatments in inoculation amount of *Thiobacillus ferrooxidans* at 0.05 level

□ CK ○ 1% T.f. △ 3% T.f. ▽ 5% T.f. ◇ 10% T.f. ▲ 15% T.f.

图 1 氧化亚铁硫杆菌不同接种量对黑麦草腐蚀作用的影响

Figure 1 The effects of corrosion behavior of ryegrass under different inoculation amount of *Thiobacillus ferrooxidans*

浓度的同一种底物对黑麦草的成分影响几乎一致,本文只给出浓度为 $2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时的结果),以 10% 氧化亚铁硫杆菌为对照组 3,探究 5 种底物添加剂对黑麦草中纤维素的影响,结果见图 3。

与 3 个对照组相比,投加底物添加剂后,黑麦草中纤维素的降解率均有明显提高 ($P<0.05$)。投加单质硫的氧化亚铁硫杆菌处理组中,浓度对纤维素降解率有一定影响,高浓度时作用效果较好,反应第 10 d,浓度为 $14\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,纤维素降解率最大达 81.31%,而硫代硫酸钠和硫酸亚铁在低浓度时作用效果较好。投加硫化亚铁和单质铁后浓度对纤维素降解率的影响随着时间的推移逐渐缩小,两种添加剂降解效果均较好。

由于氧化亚铁硫杆菌能够通过氧化底物添加剂 (Fe^{2+} 、 S^0 、 S^{2-} 等) 促进自身代谢作用,投入的 5 种底物添加剂均能明显提高黑麦草中纤维素的降解率。反应 10 d 后,浓度为 $4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫化亚铁处理组纤维素降解率最大,达 87.26%,比对照组 1 提高了 223.07%,比对照组 2 提高了 175.53%,比对照组 3 提高了

112.99%。Pia-Maria 等^[29]和 Ballesteros 等^[30]用 0.2% H_2SO_4 ($200\text{ }^\circ\text{C}$, 10 min) 和 0.15% H_2SO_4 ($154.5\text{ }^\circ\text{C}$, 10 min) 处理稻草秸秆,纤维素脱除率分别仅为 78% 和 70%。Oberoi 等^[31]和 Jin-Woo 等^[32]分别用 NaOH 和氨水在高温条件下处理稻草,其纤维素脱除率为 50% 和 5%,远低于本试验结果。此外, Sathitsuksanoh 等^[33]研究发现 [BMIM]Cl 离子液体 ($110\text{ }^\circ\text{C}$, 72 h) 能够脱除玉米秸秆中 92% 的纤维素,但成本较高; Davinia 等^[34]的研究中白腐菌 (*I. lacteus*) 经过长达 21 d 的反应仅能降解小麦秸秆中 47% 的纤维素。

根据 2.2 节中对 pH 值的研究结果,硫化亚铁处理组致酸效果较差,说明酸性的强弱并不是影响纤维素结构破坏的唯一因素,这可能与氧化亚铁硫杆菌的氧化作用或其他因素有关。Antonopoulou 等^[35]也证实了该结论,其利用不同 pH 值 (5.89、1.89、1.19) 的 H_2SO_4 处理向日葵秸秆,结果发现随着 pH 值的降低,向日葵秸秆中半纤维素脱除率逐渐增大,但纤维素的脱除率与对照组并没有明显差异,且 pH 值最低时,纤维素脱除率并非最高。

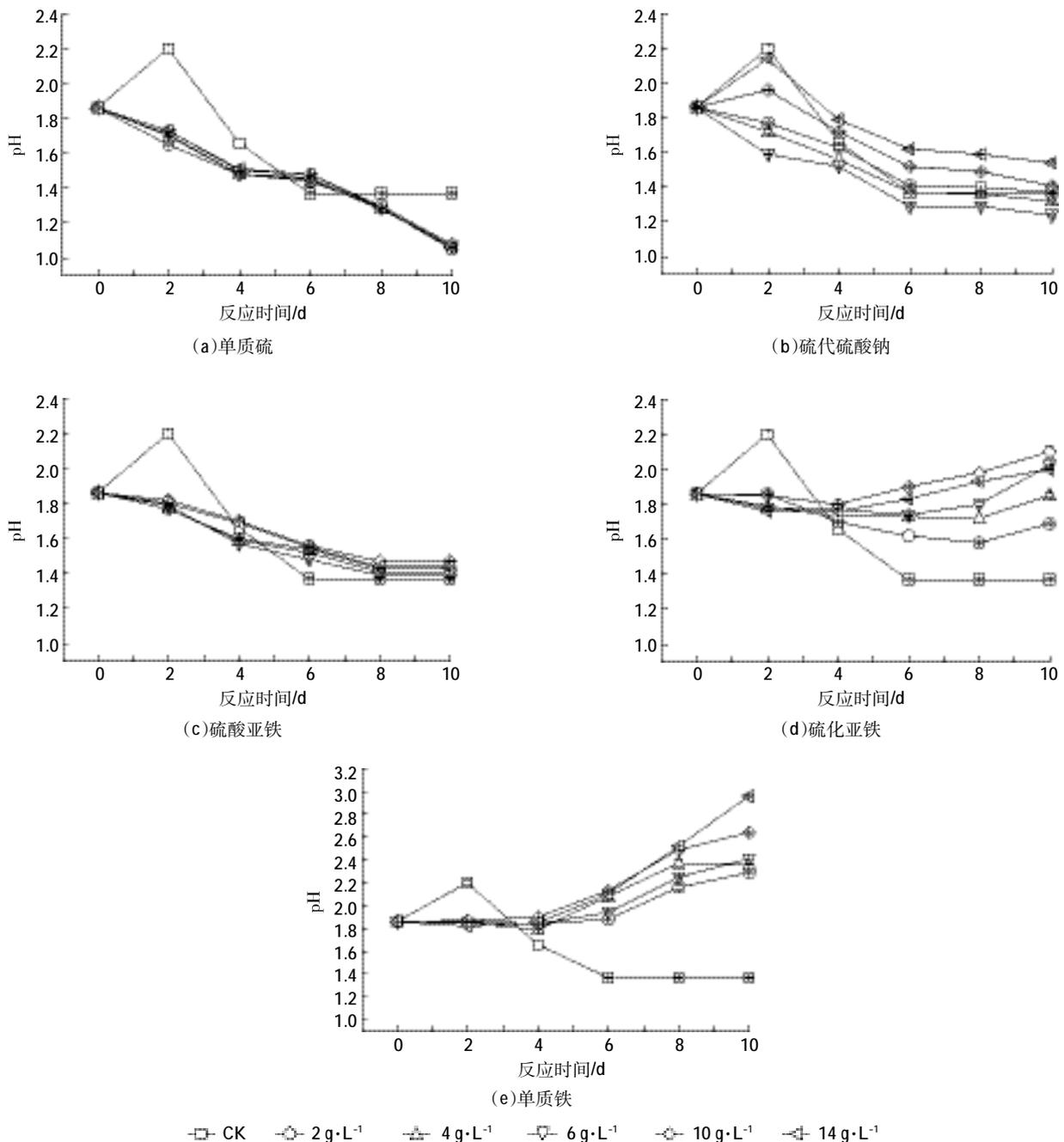


图 2 5 种底物添加剂对氧化亚铁硫杆菌 pH 值的影响
Figure 2 The effects of pH of *Thiobacillus ferrooxidans* under five kinds of substrates

2.4 底物添加剂对黑麦草中半纤维素的影响

采用与 2.3 节相同的分析方法,探究 5 种底物添加剂对黑麦草中半纤维素的影响,结果如图 4 所示。

反应 10 d 后,相比对照组 1 和 2,除硫化亚铁与单质铁外,其他 3 种底物添加剂均能显著提高半纤维素降解率($P < 0.05$)。相比对照组 3,5 种底物添加剂中仅单质硫($10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $14 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)和硫代硫酸钠($2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)能提高半纤维素降解率。结合 2.2 节中对 pH 值的研

究结果发现,投加 $14 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 单质硫的致酸效果最佳,同时其对半纤维素降解率最大,高达 82.29%,而投加单质铁的致酸效果较差,其对半纤维素的降解效果也较差。由此说明,半纤维素结构的破坏程度受 pH 值的影响较大。该研究结果与 Guo 等^[36]和 Antonopoulou 等^[35]的研究结果相符。

氧化亚铁硫杆菌能够充分利用致酸效果较好的底物添加剂对黑麦草进行腐蚀,提高半纤维素降解

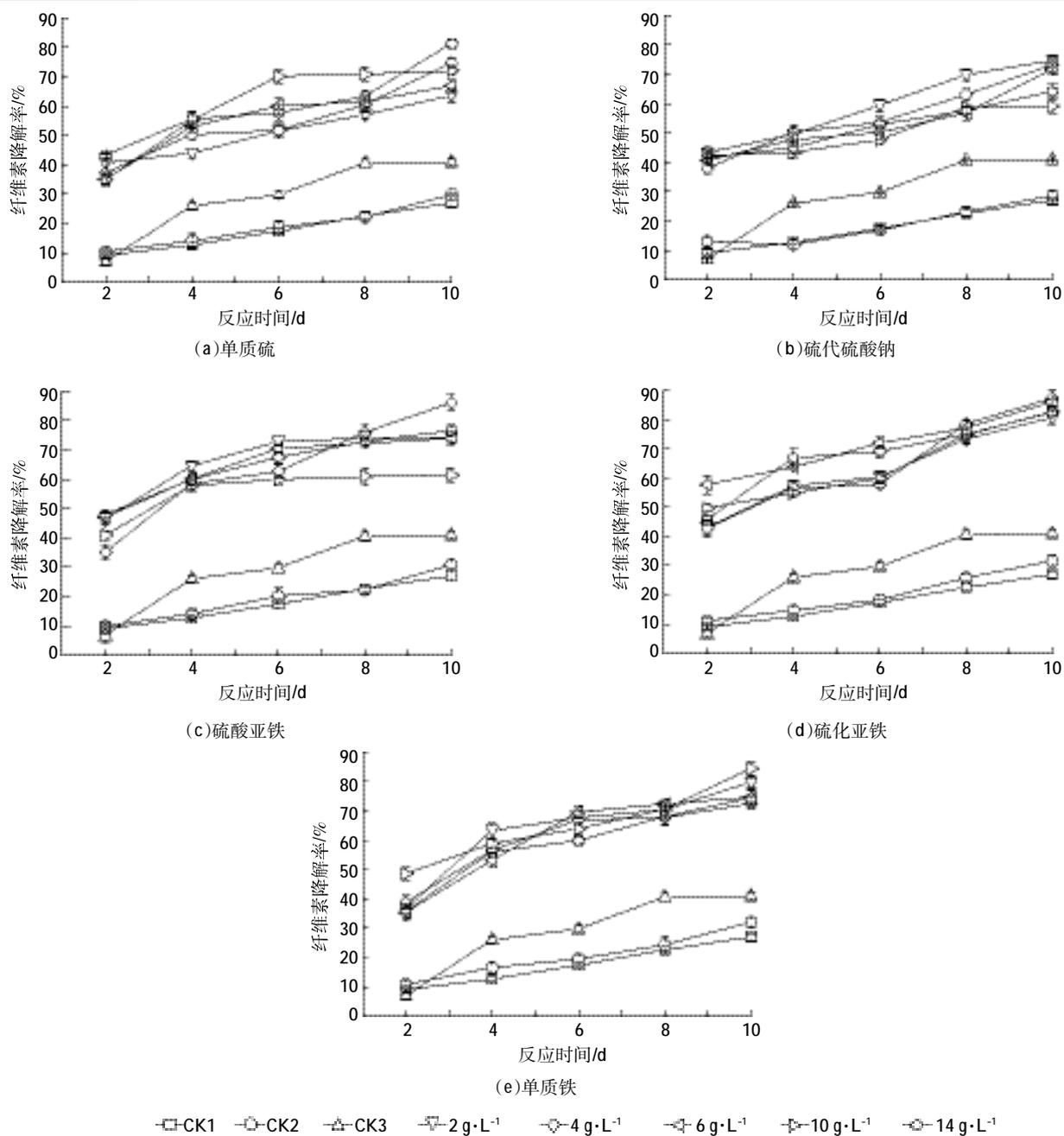


图3 5种底物添加剂对黑麦草中纤维素的影响

Figure 3 The effects of content of cellulose in ryegrass under five kinds of substrates

率,其中降解率最高可达 82.29%。Lee 等^[37]利用 15% 草酸(168 °C, 26 min)仅能脱除玉米秸秆中75.74%的半纤维素;García-Cubero 等^[38]和 Agudelo 等^[39]分别采用臭氧和蒸汽爆破技术处理黑麦秸秆,半纤维素的脱除率仅为 50%和 52%。与前人相比,本试验方法优于一般的生物质预处理技术,能够对半纤维素进行更有效的去除。

2.5 底物添加剂对黑麦草中木质素的影响

由图 5 可以看出,相比 3 个对照组,除硫代硫酸

钠效果较差外,其余 4 种底物添加剂均能在一定程度上提高木质素降解率,同一底物的不同浓度之间差异较小(P>0.05)。5 种底物添加剂中,6 g·L⁻¹ 硫化亚铁处理组中木质素降解率最大,达 27.68%,比对照组 1 提高了 55.24%,比对照组 2 提高了 48.90%,比对照组 3 提高了 43.20%。该结果表明氧化亚铁硫杆菌对木质素降解率并不高,与 Song 等^[40]研究结果相似,其主要原因为木质素具有芳香性高聚物的特性,结构非常稳定,在一般的酸碱条件下很难被破坏。Davinia

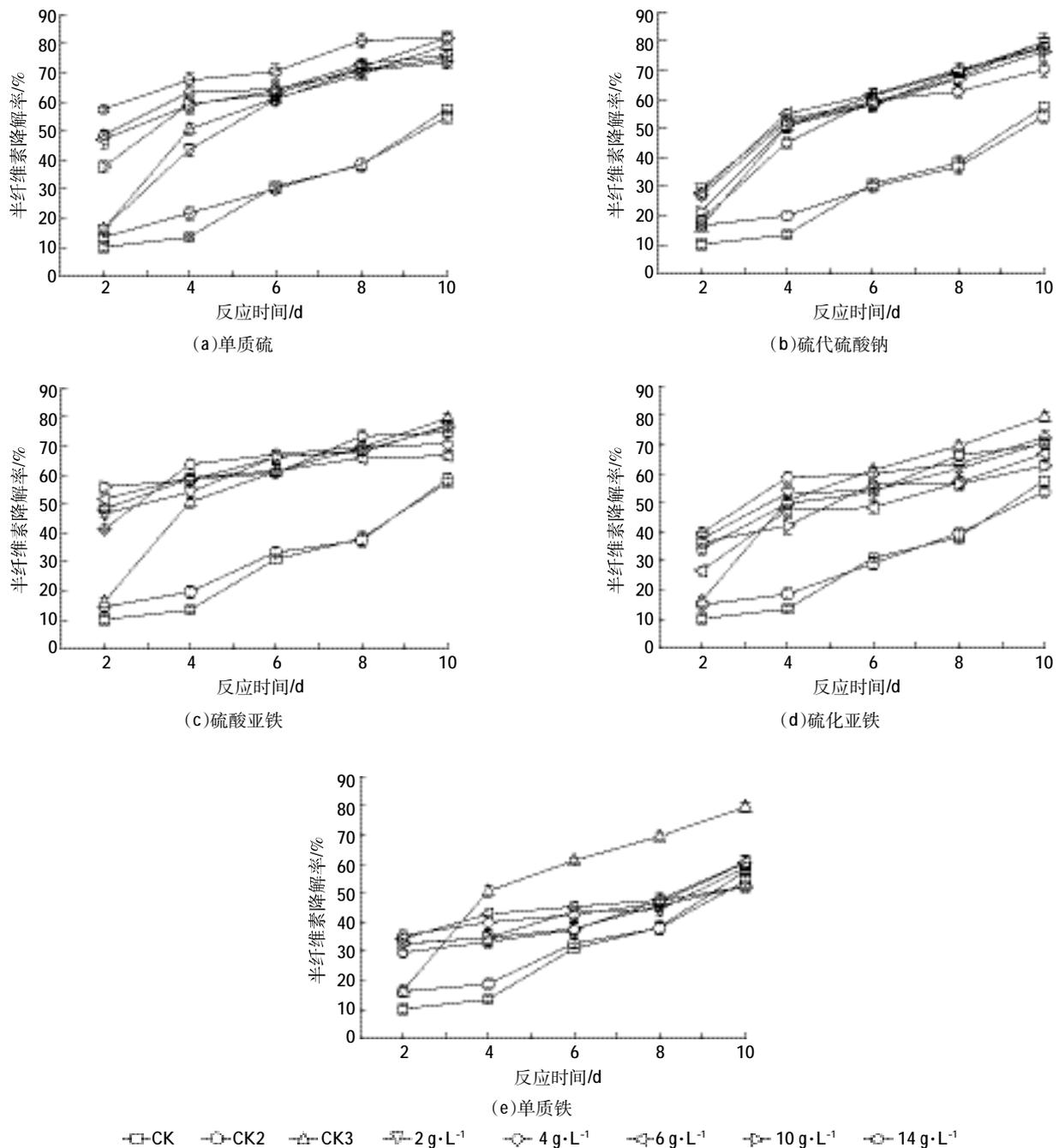
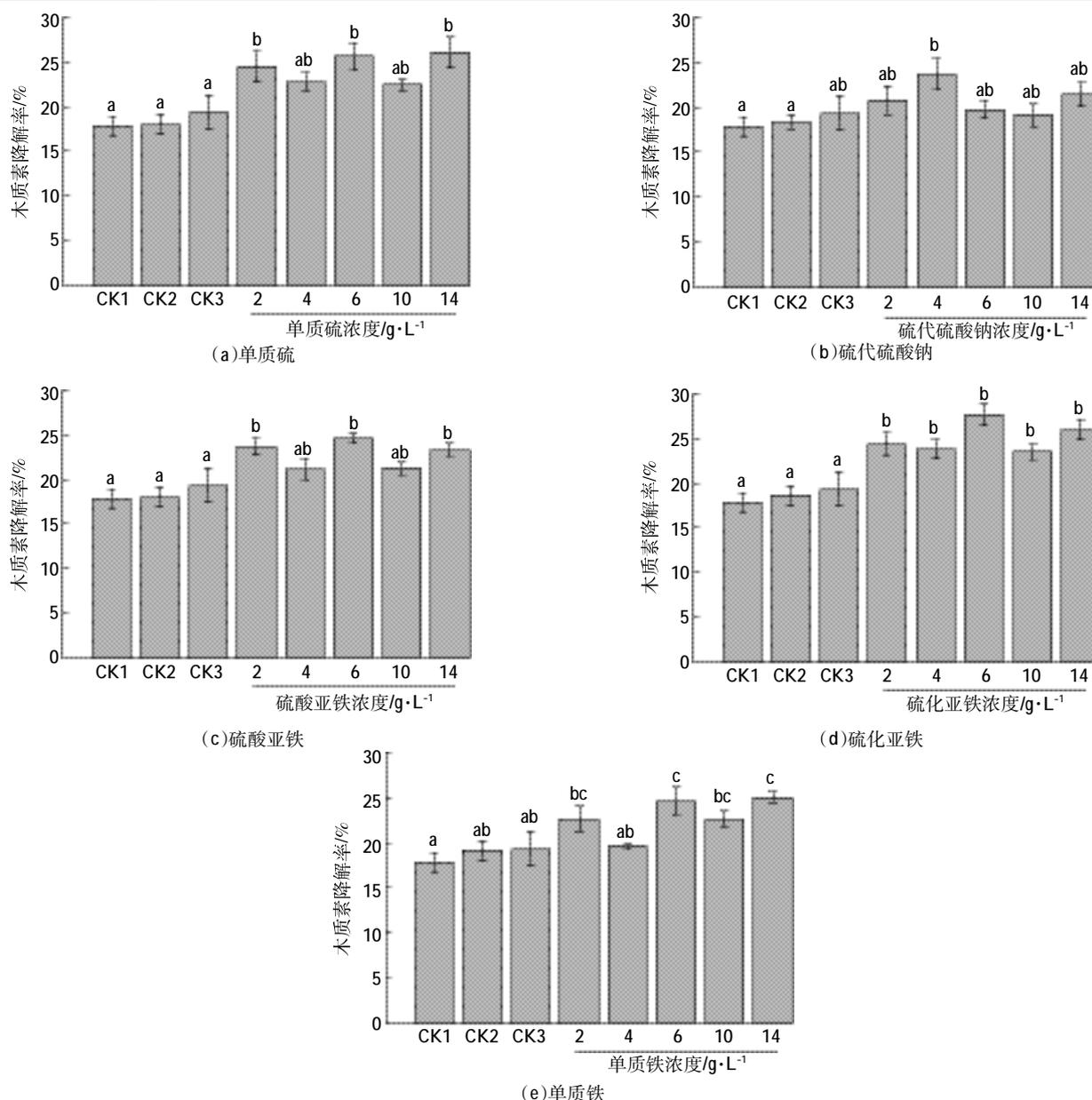


图4 5种底物添加剂对黑麦草中半纤维素的影响
Figure 4 The effects of content of hemicellulose in ryegrass under five kinds of substrates

等^[34]发现白腐菌(*P. tigrinus*)经过21 d的反应能够降解小麦秸秆中47%的木质素,Ravichandra等^[41]和Rouches等^[42]研究结果同样表明白腐菌能够对木质素进行很好的降解。由于腐蚀后的黑麦草中纤维素和半纤维素的降解导致了木质素的暴露。因此,在将来的研究中,可以考虑从白腐菌、褐腐菌、软腐菌等产酶真菌中挑选出对木质素有较好破坏能力的微生物,对腐蚀后的黑麦草进行进一步降解^[43]。

2.6 黑麦草腐蚀前后 SEM 电镜分析

为了进一步了解氧化亚铁硫杆菌腐蚀黑麦草过程中黑麦草内部形态学的变化,本研究对腐蚀前后的黑麦草进行了SEM观察,结果如图6所示。腐蚀前,黑麦草细胞壁由致密的层状结构组成,有较为明显的纹路(表面沾染少许碎片,对观察结果存在一定影响)。经氧化亚铁硫杆菌腐蚀后,黑麦草细胞壁结构疏松多孔,形成大小不等的缺口,一些基本的植物组分(表皮和维



不同字母表示在同一底物不同处理浓度之间差异显著(P<0.05)

The different small letters indicate significant differences among different concentrations in same substrates treatments at 0.05 level

图5 5种底物添加剂对黑麦草中木质素的影响

Figure 5 The effects of content of lignin in ryegrass under five kinds of substrates

管束等结构)也发生了变化,最初连接的组织遭到破坏,可能与氧化亚铁硫杆菌产酸作用和其氧化作用造成细胞壁中纤维素、半纤维素、木质素结构破坏有较大关系。此结果与 Antonopoulou 等^[35]和 Martins^[44]等利用化学和真菌处理向日葵秸秆和石炭酸灌木叶的研究结果相似。

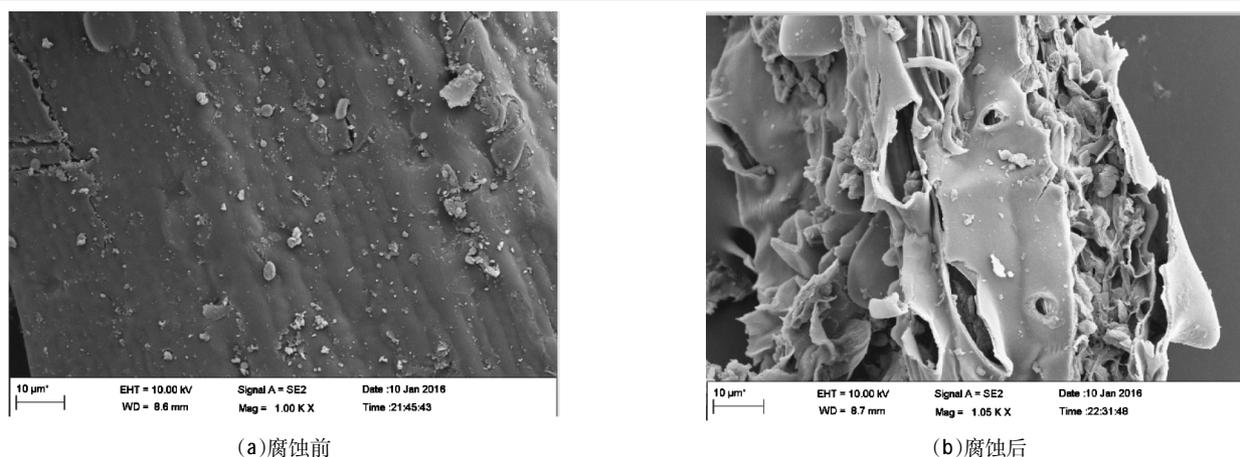
2.7 最优腐蚀条件下重金属的浸出效率

通过上述研究可知,14 g·L⁻¹的单质硫对黑麦草的腐蚀效果最佳,因而对该条件下重金属铀、铬、镉的

浸出情况进行了分析,其浸出效率分别高达80.1%、62%、85.3%(表2)。由此说明,氧化亚铁硫杆菌不仅在污泥重金属生物淋滤中有很好的应用价值^[27-28],而且能有效降低黑麦草中重金属的含量,这将有利于黑麦草中重金属的进一步回收和其固体废弃物的资源化利用。

3 结论

(1)氧化亚铁硫杆菌对黑麦草具有较强的腐蚀作



(a) 腐蚀前

(b) 腐蚀后

图6 黑麦草经氧化亚铁硫杆菌腐蚀前后 SEM 图片

Figure 6 SEM pictures of ryegrass before and after corrosion in *Thiobacillus ferrooxidans*

表2 最优腐蚀条件下重金属浸出情况(干重)

Table 2 Recovery of heavy metals in ryegrass under optimal corrosion conditions (dry weight)

重金属	最佳腐蚀条件 (14 g·L ⁻¹ 单质硫+10% T.f)	10% T.f	9K 培养基	9K 培养基+底物 (14 g·L ⁻¹ 单质硫)
剩余固体重金属含量/ mg·kg ⁻¹	铀	59.7±6.03a	82.5±9.1a	166.8±17.87b
	铬	3.61±0.30a	4.03±0.28ab	4.731±0.16c
	镉	0.13±0.020a	0.18±0.012a	0.43±0.049b
重金属浸出效率/%	铀	80.1±2.01b	72.5±3.03b	46.4±5.96a
	铬	62.0±3.16c	57.6±2.93bc	50.2±1.68a
	镉	85.3±2.22c	79.4±1.12b	55.2±5.23a

注:同一行中不同字母表示对同一金属浸出效果的不同处理组之间差异显著(P<0.05)。

Note: The different small letters in the same line indicate significant differences among different treatments in leaching efficiency of the same metal at 0.05 level.

用。投加底物添加剂后,氧化亚铁硫杆菌对纤维素降解率有显著提高(P<0.05)。总体来看,投加 14 g·L⁻¹ 的单质硫对黑麦草的降解效果较好,该试验方法优于一般的生物质预处理技术。

(2)在氧化亚铁硫杆菌及底物添加剂的作用下,单质硫致酸效果最佳。pH 值的降低能有效提高半纤维素降解率,但与纤维素及木质素的降解率无明显关系。

(3)氧化亚铁硫杆菌对黑麦草细胞壁结构有较强破坏作用。

(4)在最优腐蚀条件下,纤维素、半纤维素的降解使得重金属浸出效率较高,有利于黑麦草中重金属的进一步回收及固体废弃物的资源化利用。

本课题的试验方法相比于一般的酸、碱等预处理技术,能显著提高纤维素、半纤维素的降解效率,并可在较低温度下完成,对设备要求低,且经济实惠;相比于真菌预处理技术,本方法能缩短反应周期,提高降

解效率,具有较高的应用价值。

参考文献:

- [1] 刘维涛,倪均成,周启星,等. 重金属富集植物生物质的处置技术研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(1): 15-27.
LIU Wei-tao, NI Jun-cheng, ZHOU Qi-xing, et al. Research progress of disposal technology for heavy metal-enriched plant biomass[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2014, 33(1): 15-27.
- [2] 石福贵,郝秀珍,周东美,等. 鼠李糖脂与EDDS强化黑麦草修复重金属复合污染土壤[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(9): 1818-1823.
SHI Fu-gui, HAO Xiu-zhen, ZHOU Dong-mei, et al. Remediation of the combined polluted soil by growing ryegrass enhanced by EDDS/rhamnolipid[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2009, 28(9): 1818-1823.
- [3] 郝希超,陈晓明,罗学刚,等. 不同牧草在铀胁迫下生长及铀富集的比较研究[J]. 核农学报, 2016, 30(3): 548-555.
HAO Xi-chao, CHEN Xiao-ming, LUO Xue-gang, et al. Comparative study on the growth and uranium enrichment in different grasses[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2016, 30(3): 548-555.
- [4] 阮晨,陈晓明,刘小玲,等. 4种草坪植物成苗期Co(II)耐受性综

- 合评价[J]. 核农学报, 2015, 29(4): 777-785.
- RUAN Chen, CHEN Xiao-ming, LIU Xiao-ling, et al. Comprehensive evaluation of resistance to Co(II) of four kinds of lawn plant in adult stage[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2015, 29(4): 777-785.
- [5] 荣丽杉, 梁宇, 刘迎九, 等. 5种植物对铀的积累特征差异研究[J]. 环境科学与技术, 2015, 38(11): 33-36.
- RONG Li-Shan, LIANG Yu, LIU Ying-jiu, et al. Comparative study of uranium accumulation abilities of five herbs[J]. Environmental Science & Technology, 2015, 38(11): 33-36.
- [6] Zou X L. Phytoextraction of heavy metals from contaminated soil by co-cropping solanum nigrum with ryegrass associated with endophytic bacterium[J]. Separation Science and Technology, 2015, 50(12): 1806-1813.
- [7] Zhu T Y, Fu D F, Yang F. Effect of saponin on the phytoextraction of Pb, Cd and Zn from soil using Italian ryegrass[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2015, 94(1): 129-133.
- [8] Maurya D P, Singla A, Negi S. An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol[J]. 3 Biotech, 2015, 5(5): 597-609.
- [9] Srivastava N, Rawat R, Oberoi H S, et al. A review on fuel ethanol production from lignocellulosic biomass[J]. International Journal of Green Energy, 2015, 12(9): 949-960.
- [10] Chaturvedi V, Verma P. An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value added products[J]. 3 Biotech, 2013, 3(5): 122-130.
- [11] Singh J, Suhag M, Dhaka A. Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: A review[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 117C: 624-631.
- [12] Travaini R, Martín-Juárez J, Lorenzo-Hernando A, et al. Ozonolysis: An advantageous pretreatment for lignocellulosic biomass revisited[J]. Bioresource Technology, 2016, 199: 2-12.
- [13] Zheng Y, Zhou J, Xu F Q, et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production[J]. Progress in Energy and Combustion Science, 2014, 42(1): 35-53.
- [14] Alvira P, Tomás-Pejojó E, Ballesteros M, et al. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(13): 4851-4861.
- [15] Sindhu R, Binod P, Pandey A. Biological pretreatment of lignocellulosic biomass: An overview[J]. Bioresource Technology, 2016, 199: 76-82.
- [16] Wan C X, Li Y B. Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass[J]. Biotechnology Advances, 2012, 30(6): 1447-1457.
- [17] Wang B, Yuan X Y, Han L, et al. Release and bioavailability of heavy metals in three typical mafic tailings under the action of *Bacillus mucilaginosus* and *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. Environmental Earth Sciences, 2015, 74(6): 5087-5096.
- [18] Vukovic M, Pesic B, Strbac N, et al. Linear polarization study of the corrosion of iron in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans* bacteria[J]. International Journal of Electrochemical Science, 2012, 7(3): 2487-2503.
- [19] Lvanus R C. Bioleaching of metals from electronic scrap by pure and mixed culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*[J]. Metalurgia International, 2010, 15(4): 62-70.
- [20] 甘莉, 刘贺琴, 王清萍, 等. 氧化亚铁硫杆菌生物浸出污泥中的重金属离子[J]. 中国环境科学, 2014, 34(10): 2617-2623.
- GAN Li, LIU He-qin, WANG Qing-ping, et al. Bioleaching of heavy metals in sewage sludge using *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. China Environmental Science, 2014, 34(10): 2617-2623.
- [21] Zalewska M. Response of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) to soil contamination with zinc[J]. Journal of Elementology, 2012, 17(2): 329-343.
- [22] Wang K, Huang H G, Zhu Z Q, et al. Phytoextraction of metals and rhizoremediation of PAHs in co-contaminated soil by co-planting of *Sedum alfredii* with ryegrass (*Lolium perenne*) or castor (*Ricinus communis*) [J]. International Journal of Phytoremediation, 2013, 15(3): 283-298.
- [23] 王金主, 王元秀, 李峰, 等. 玉米秸秆中纤维素、半纤维素和木质素的测定[J]. 山东食品发酵, 2010(3): 44-47.
- WANG Jin-zhu, WANG Yuan-xiu, LI Feng, et al. Determination of cellulose, hemicellulose and lignin in corn stalk[J]. Shandong Food Fermentation, 2010(3): 44-47.
- [24] 王建庆, 曹佃元, 张玉. 乙酰溴法测定棉籽壳中木质素的含量[J]. 纺织学报, 2013, 34(9): 12-16.
- WANG Jian-qing, CAO Tian-yuan, ZHANG Yu. Acetyl bromide test method for determining amount of lignin in cottonseed coat[J]. Journal of Textile Research, 2013, 34(9): 12-16.
- [25] Wen Y, Qing P W, Cai X T, et al. Bioleaching of heavy metals from sewage sludge by *Acidithiobacillus thiooxidans*: A comparative study[J]. Journal of Soils and Sediments, 2012, 12(6): 900-908.
- [26] Gan M, Zi B S, Zhu J Y, et al. Efficient bioleaching of heavy metals from contaminated sediment in batch method coupled with the assistance of heterotrophic microorganisms[J]. Environ Earth Science, 2016, 75(6): 457-467.
- [27] 张军, 徐浚洋, 王敦球, 等. 含硫底物种类与浓度对污泥重金属生物沥滤的影响[J]. 环境工程, 2015, 4(9): 39-57.
- ZHANG Jun, XU Jun-yang, WANG Dun-qiu, et al. Effects of types and concentrations of sulfur substrate on bioleaching heavy metals from sewage sludge[J]. Environmental Engineering, 2015, 4(9): 39-57.
- [28] 陈丽璇, 陈菲, 蔡晓东, 等. 底物种类和浓度对污泥重金属生物淋滤效果的影响[J]. 亚热带植物科学, 2013, 42(4): 337-341.
- CHEN Li-xuan, CHEN Fei, CAI Xiao-Dong, et al. Effects of substrates on bioleaching of heavy metals from sewage sludge[J]. Subtropical Plant Science, 2013, 42(4): 337-341.
- [29] Pia-Maria B, Mats G, Guido Z. Ethanol and biogas production after steam pretreatment of corn stover with or without the addition of sulphuric acid[J]. Biotechnology for Biofuels, 2013, 6(1): 1-11.
- [30] Ballesteros I, Ballesteros M, Manzanares P, et al. Dilute sulfuric acid pretreatment of cardoon for ethanol production[J]. Biotechnology for Biofuels, 2008, 42(1): 84-91.
- [31] Oberoi H S, Babbar N, Sandhu S K, et al. Ethanol production from al-

- kali-treated rice straw via simultaneous saccharification and fermentation using newly isolated thermotolerant *Pichia kudriavzevii* HOP-1[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2012, 39(4):557-566.
- [32] Jin-Woo K, Seob K K, Jin-Suk L, et al. Two-stage pretreatment of rice straw using aqueous ammonia and dilute acid[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(19):8992-8999.
- [33] Sathitsuksanoh N, Zhu Z G, Zhang Y H. Cellulose solvent-based pretreatment for corn stover and avicel: Concentrated phosphoric acid versus ionic liquid[BMIM]Cl[J]. *Cellulose*, 2012, 19(4):1161-1172.
- [34] Davinia S, Alicia P, Maria L A, et al. Fungal pretreatment: An alternative in second-generation ethanol from wheat straw[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(16):7500-7506.
- [35] Antonopoulou G, Dimitrellos G, Beobide A S, et al. Chemical pretreatment of sunflower straw biomass: The effect on chemical composition and structural changes[J]. *Waste and Biomass Valorization*, 2015, 6(5):733-746.
- [36] Guo P, Mochizuki K, Cheng W, et al. Effects of different pretreatment strategies on corn stalk acidogenic fermentation using a microbial consortium[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(16):7526-7531.
- [37] Lee J W, Houtman C J, Kim H Y, et al. Scale-up study of oxalic acid pretreatment of agricultural lignocellulosic biomass for the production of bioethanol[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(16):7451-7456.
- [38] García-Cubero M A, González-Benito G, Indacochea I, et al. Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of wheat and rye straw[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 100(4):1608-1613.
- [39] Agudelo R A, Garcia-Aparicio M P, Gorgens J F. Steam explosion pretreatment of triticale(\times triticosecale wittmack) straw for sugar production[J]. *New Biotechnology*, 2016, 33(1):153-163.
- [40] Song Z L, Gai H Y, Liu X F, et al. Comparison of seven chemical pretreatments of corn straw for improving methane yield by anaerobic digestion[J]. *PloS One*, 2014, 9(4):1-8.
- [41] Ravichandra P, Raju B R, Priyanka N, et al. Simultaneous pretreatment and saccharification of rice husk by phanerochete chryso sporium for improved production of reducing sugars[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 128C:113-117.
- [42] Rouches E, Zhou J P, Steyer H C. White-rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion: Impact of glucose supplementation[J]. *Process Biochemistry*, 2016, 51(5):555-564.
- [43] 王宏勋, 杜甫佑, 张晓昱. 白腐菌选择性降解秸秆木质纤维素研究[J]. *华中科技大学学报(自然科学版)*, 2006, 34(3):97-100.
WANG Hong-xun, DU Fu-you, ZHANG Xiao-yu. Selective degradation of corn straw lignocellulose by white-rot fungi[J]. *Huazhong University of Science & Technology (Nature Science Edition)*, 2006, 34(3):97-100.
- [44] Martins S, José A T, Solange I M. Solid-state fermentation as a strategy to improve the bioactive compounds recovery from *larrea tridentata* leaves[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2013, 171(5):1227-1239.