

# 溶液培养条件下腐殖酸对 Cr(VI)微生物还原的影响<sup>①</sup>

李忠佩<sup>1,2</sup>, 徐丽娜<sup>1,2</sup>, 车玉萍<sup>1</sup>

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 探明铬(Cr)的氧化还原作用机制对于深入认识其污染过程特征进而制订科学的防控措施有重要意义。本研究采用从山西大同风化煤、河南巩县褐煤和云南昆明滇池底泥中提取的腐殖酸(分别记为 HAs、HAh、HAK), 通过分别添加, 以及共同添加葡萄糖和不同制备来源或不同浓度的腐殖酸, 并接种水稻土悬液, 研究了溶液培养条件下腐殖酸对 Cr(VI)的微生物还原过程的影响。结果表明: 在有充足碳源存在条件下腐殖酸能够发挥其电子传递作用促进 Cr(VI)的微生物还原过程。腐殖酸促进 Cr(VI)还原的作用随其添加浓度的升高而增强, 腐殖酸浓度为 0.02 g/L 时其促进作用较微弱, 而 2.00 g/L 时培养期间 Cr(VI)的还原率达到 95% 以上。腐殖酸的结构组成差异对其作用于 Cr(VI)的微生物还原过程有重要的影响, 腐殖化程度相对较高的 HAK 和 HAs 对 Cr(VI)的微生物还原的促进作用明显, HAK 更因含有一定量的多糖或类多糖物质而加快了 Cr(VI)微生物还原过程的发生时间, 而 HAh 则对 Cr(VI)的微生物还原的影响较小。

**关键词:** 溶液培养; Cr(VI); 微生物还原; 腐殖酸

**中图分类号:** X53

近年来, 由于工业发展所导致的铬(Cr)对水体和土壤的污染问题受到社会广泛关注, 探明 Cr 的氧化还原作用机制对于深入认识其污染过程特征进而制订科学的防控措施有重要意义。Cr 在环境中主要以 Cr(VI)和 Cr(III)的形态存在, 尽管 Cr 是人体的必需元素, 但是 Cr(VI)在环境中具有高可溶性、移动性和高毒性等特点, 其致癌致畸的作用对人类和动植物的生长造成严重的危害<sup>[1-2]</sup>; 而 Cr(III)在环境中主要以氢氧化物的形式与有机物形成络合物并沉淀, 因此其移动性小, 在环境中稳定、无危害。传统的 Cr(VI)污染修复方法主要通过化学沉淀、离子交换和活性炭吸附等化学方式, 但是其修复过程花费昂贵且易造成二次污染。通过微生物作用将 Cr(VI)还原为 Cr(III)的生物修复方式更为经济、安全和持久, 且未污染和已污染环境中普遍存在大量的具有 Cr(VI)还原能力的微生物群落, 使 Cr(VI)污染的微生物修复方法成为可能<sup>[3-5]</sup>。十几年来, Cr 污染的微生物修复方式得到了普遍的研究, 微生物细胞的生存能力和代谢活性是微生物修复 Cr(VI)污染环境效率的主要限制因素<sup>[6]</sup>。提高微生物修复效率的改良研究主要有生物膜技术和基因工程菌等方法, 每

种方法各有其优缺点<sup>[1,7-9]</sup>。许多文献报道<sup>[10-12]</sup>, 普遍存在于水体和土壤环境中的高分子多聚有机物——腐殖酸在厌氧条件下能够发挥电子传递作用促进微生物对一些高价重金属, 如 Cr(VI)、U(VI)、Fe(VI)等的还原。但是, 由于腐殖酸本身的复杂性, 其参与微生物金属还原或电子传递的反应机理及其作用官能团还尚不清楚。本研究通过人工制备不同来源的腐殖酸, 模拟厌氧条件下溶液中 Cr(VI)的微生物还原过程, 探讨腐殖酸的结构组成与微生物还原 Cr(VI)的反应效率之间的关系, 结果可为深刻理解环境中 Cr 的污染过程机制以及改良微生物修复方式提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 微生物接种液的制备

采用新鲜高肥力红壤水稻土制备土壤悬液。该土壤采自中国科学院红壤生态实验站周围典型稻田的 0~15 cm 土层。土样经自然风干, 挑去石块和少量植物根系, 磨细过 1 mm 筛备用。土壤的有机质含量为 39.7 g/kg, pH 5.2, 碱解氮 149.9 mg/kg, 速效磷 12.8 mg/kg。按水土比 1:9 的比例添加去离子水,

基金项目: 国家自然科学基金项目(41171233)资助。

作者简介: 李忠佩(1962—), 男, 广西桂林人, 研究员, 主要从事土壤生物化学研究。E-mail: zhpli@issas.ac.cn

30℃下淹水 7 天后, 700 r/min 离心 10 min, 取上清液用作微生物接种液。

## 1.2 基础无机盐培养液的配置

按  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  9.0 mmol/L、 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  5.7 mmol/L、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3.3 mmol/L、 $\text{NaHCO}_3$  2.0 mmol/L 的组成溶解无机盐于去离子水中<sup>[13]</sup>, 用 HCl 或 NaOH 将 pH 调至 7.0, 高压灭菌, 备用。

表 1 供试腐殖酸的基本化学性状  
Table 1 Basic chemical properties of humic acids tested

腐殖酸来源	C(g/kg)	N(g/kg)	E4	E4/E6
山西大同风化煤(HAs)	506.7	52.4	2.62	2.91
河南巩县褐煤(HAh)	508.2	39.4	2.44	4.44
云南昆明滇池底泥(HAK)	451.2	40.3	1.38	2.97

## 1.4 培养试验

无菌操作条件下, 吸取  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  作为 Cr( ) 来源, 添加无机盐培养液提供微生物所需的矿质元素, 设置对照(CK, 空白溶液)、添加山西大同风化煤腐殖酸和/或葡萄糖(HAs、G、HAs+G、1/2(HAs+G))、葡萄糖加不同浓度腐殖酸(G+2.00HAs、G+0.20HAs、G+0.02HAs)、分别都添加葡萄糖和山西大同风化煤、河南巩县褐煤、云南昆明滇池底泥腐殖酸(G+HAs、G+HAh、G+HAK)等处理, 每处理视取样次数设若干重复。 $\text{K}_2\text{CrO}_4$  的培养浓度为 0.4 mmol/L, HAh 和 HAK 的培养浓度为 2.00 g/L, HAs 的培养浓度分别为 2.00、0.20、0.02 g/L, 葡萄糖的培养浓度为 G 2.891 6 g/L(其含碳量与 2.00 g/L HAs 的含碳量相等)。葡萄糖和  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  溶液采用细菌滤器( $<0.22 \mu\text{m}$ )过滤除菌。以严格的厌氧操作技术接入 1 ml 微生物接种液, 然后充氮气 5 min 除去瓶内氧气, 迅速盖上胶塞, 28℃ 恒温培养。定期采样测定 Cr( ) 浓度。

## 1.5 测定方法和数据统计

在确定的取样期每处理取出 3 个重复, 充分摇匀, 用移液枪吸取 1 ml 溶液于 5 ml 浸提液蒸馏水中, 摇匀, 恒温 28℃ 条件下提取 1 h 后, 用注射器吸取浸提液过孔径为 0.45  $\mu\text{m}$  的滤膜, 收集滤液, 采用二苯碳酰二肼分光光度法(DPC 比色法)测定滤液中的 Cr( ) 浓度<sup>[15]</sup>。

腐殖酸碳(C)测定采用费尔恩法<sup>[16]</sup>, 腐殖酸氮(N)测定采用半微量开氏法<sup>[17]</sup>, 腐殖酸 E4/E6 比值的测定按照 Kononova 的方法进行<sup>[14]</sup>, 腐殖酸的红外光谱测定采用 NEXUS670 气相色谱-傅里叶变换红外光谱联用仪(美国)在湿度 $<70\%$ 、室温 25℃ 条件下进行。

本研究实验数据运用 SPSS 12.0 软件进行 One-Way ANOVA 统计, 并使用 Duncan 检验进行差异显著性分析( $P < 0.05$ )。

## 1.3 供试腐殖酸的提取和配制

收集山西大同风化煤、河南巩县褐煤、云南昆明滇池底泥, 采用 NaOH 提取和酸沉淀并经电渗析分离纯化的方法获得腐殖酸样品<sup>[14]</sup>。3 种不同来源的腐殖酸分别表示为 HAs、HAh、HAK。使用时, 将腐殖酸样品溶解于 30 mmol/L 的  $\text{NaHCO}_3$  溶液中, 高压灭菌。供试腐殖酸样品的基本化学性状见表 1。

## 2 结果与分析

### 2.1 供试腐殖酸的组成特征

腐殖酸在一定浓度范围和相同测定条件下, 其 E4/E6 比值是一个特征性常数, 可以表征腐殖酸的腐殖化程度<sup>[18]</sup>。根据 E4/E6 比值推测, 山西褐煤和云南滇池底泥腐殖酸的腐殖化程度较高, 分子结构比河南褐煤腐殖酸相对复杂, 其官能团种类和含量可能相对较多(表 1)。

腐殖酸的红外光谱(IR)能够定性反映腐殖酸官能团组成特征。图 1 显示, HAK 在  $1078 \text{ cm}^{-1}$  处有吸收, 而 HAs 和 HAh 在  $1100 \sim 1020 \text{ cm}^{-1}$  范围内则没有显著吸收峰,  $1100 \sim 1020 \text{ cm}^{-1}$  范围内的吸收表征腐殖酸上多糖或类多糖物质的 C-O 伸缩<sup>[19-20]</sup>, 说明 3 种供试的腐殖酸中 HAK 包含多糖和类多糖结构(图 1)。

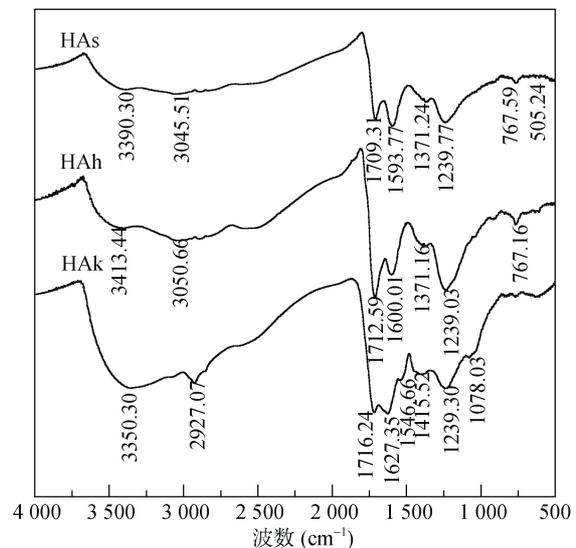


图 1 供试腐殖酸的红外光谱图  
Fig. 1 FTIR spectra of humic acids tested

## 2.2 腐殖酸和葡萄糖对 Cr(VI) 的微生物还原的影响

通过添加具有相同碳含量的腐殖酸和葡萄糖,观察纯溶液培养条件下腐殖酸和葡萄糖对 Cr(VI) 的微生物还原过程的影响。结果显示(图 2),厌氧培养条件下,15 天的培养期内未添加外源物质的处理(CK)其溶液中 Cr(VI) 的浓度有略微的降低,从原来的 22.86 mg/L 降至 20.78 mg/L;而单独添加腐殖酸的处理(HAs)中 Cr(VI) 浓度从 19.06 mg/L 降至 14.26 mg/L。一些文献的研究结果表明,在无菌和不添加外源有机物条件下,培养期内不会发生 Cr(VI) 浓度的变化<sup>[21]</sup>。而接种悬液后,微生物作用导致了 Cr(VI) 的还原。本实验中造成对照处理 Cr(VI) 浓度降低的原因可能是所制备的水稻土悬液中有微量的有机碳能够作为电子供体供给微生物还原少许 Cr(VI),以及微生物细胞的同化作用吸收了微量的 Cr(VI)<sup>[22]</sup>。而 HAs 处理中除微生物因素外主要是因为腐殖酸上的还原性官能团能够将 Cr(VI) 还原为 Cr(III)<sup>[12, 23-24]</sup>。单独添加葡萄糖的处理(G),溶液中 Cr(VI) 被还原的速率显著高于 CK 处理,15 天内其浓度由 22.18 mg/L 降至 16.05 mg/L,还原率为 27.65%,说明葡萄糖作为可利用碳源促进了微生物对 Cr(VI) 的还原。葡萄糖存在情况下同时添加腐殖酸的处理(G+HAs),因腐殖酸上还原性官能团的化学还原作用,其溶液中 Cr(VI) 的初始浓度(18.63 mg/L)低于未添加腐殖酸的处理,培养过程中 Cr(VI) 迅速被还原,至 12 天时其浓度降至 0.76 mg/L,仅为 G 和 HAs 处理中的 4.5% 和 5%,还原率达到了 95% 以上,说明在有充足可利用碳源条件下,腐殖酸发挥了电子传递作用促进微生物对 Cr(VI) 的还原。

## 2.3 添加不同浓度腐殖酸对 Cr(VI) 的微生物还原的影响

在有葡萄糖作为可利用碳源的情况下,添加不同

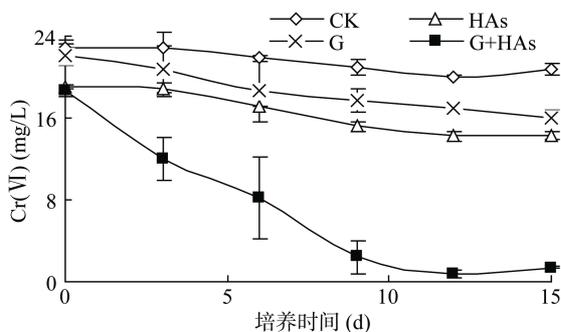


图 2 添加葡萄糖和腐殖酸对溶液中微生物还原 Cr(VI) 的影响(腐殖酸添加量: 2.00g/L)

Fig. 2 Effects of glucose and humic acid additions on Cr(VI) microbial reduction in solutions

浓度的腐殖酸对 Cr(VI) 的微生物还原的影响有明显差异。结果显示(图 3),添加 2.00 g/L 和 0.20 g/L 腐殖酸的处理(G+2.00HAs、G+0.20HAs)中 Cr(VI) 初始浓度比仅添加葡萄糖的处理(G)低了约 3.00 mg/L,而添加 0.02 g/L 腐殖酸的处理(G+0.02HAs)与 G 处理相近,其原因可能主要是腐殖酸上的还原性官能团数量随其浓度的降低而减少,从而对溶液中 Cr(VI) 的化学还原作用也随之减弱。厌氧培养 15 天内,G 处理中 Cr(VI) 浓度从 20.30 mg/L 降至 14.44 mg/L,其还原率为 28% 左右;G+0.02HAs 处理中其浓度从 20.02 mg/L 降至 14.10 mg/L,还原率约为 30%;G+0.20HAs 处理中则从 16.10 mg/L 降至 7.83 mg/L,还原率达到了 51%;而 G+2.00HAs 处理培养至第 10 天时溶液中 Cr(VI) 浓度接近于 0,还原率达到 95% 以上。说明在有可利用碳源条件下,腐殖酸促进微生物还原 Cr(VI) 的作用随其浓度的升高而增加。其中,添加浓度为 2.00 g/L 时,使溶液中 0.4 mmol/L 的 Cr(VI) 的还原率达到了 95% 以上;而 0.02 g/L 时,其促进作用不明显。

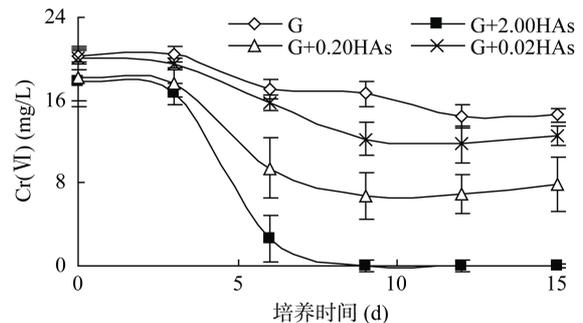


图 3 不同浓度腐殖酸对溶液中微生物还原 Cr(VI) 的影响

Fig. 3 Effect of humic acid concentrations on Cr(VI) microbial reduction in solutions

## 2.4 不同来源的腐殖酸对 Cr(VI) 的微生物还原的影响

腐殖酸是由许多低分子分解产物聚合而成的多聚化合物<sup>[25]</sup>,其结构组成复杂,不同来源的腐殖酸因其性质组成的差异对溶液中微生物还原 Cr(VI) 的影响有区别。结果显示(图 4),厌氧条件下,添加提取于山西大同风化煤(HAs)、河南巩县褐煤(HAh)及云南昆明滇池底泥的腐殖酸(HAk),因各自含有不等数量的还原性官能团使溶液中 Cr(VI) 的初始浓度均有相应的降低,其中添加 HAK 的处理中降幅最大,添加 HAs 和 HAh 的处理之间较接近,这是因为 HAK 上的多糖或类多糖结构与 Cr(VI) 发生不可逆氧化还原反应,而 HAs 和 HAh 则只能通过羟基醌等官能团

的可逆氧化还原反应作用<sup>[26]</sup>。G+HAK 处理从培养开始迅速发生 Cr(Ⅵ) 的还原, 培养至第 6 天其浓度从 15.38 mg/L 降至接近于 0 mg/L, 还原率达到了 95% 以上。添加 HAs 的处理, Cr(Ⅵ) 的微生物还原过程经历了 3 天的延滞期后迅速开始, 至第 9 天时溶液中 Cr(Ⅵ) 浓度从 17.73 mg/L 降至接近 0 mg/L, 还原率也达到 95% 以上。而添加 HAh 的处理中, 经过 6 天延滞期后, 溶液中 Cr(Ⅵ) 的浓度开始降低, 但是其降低幅度较小, 其后微生物还原 Cr(Ⅵ) 的速度缓慢, 培养至第 12 天时其浓度降为 14.5 mg/L, 与仅添加葡萄糖(G)的培养液中 Cr(Ⅵ) 的浓度 14.4 mg/L 相近。

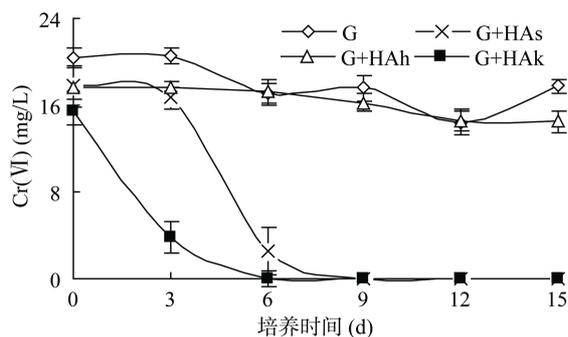


图 4 不同来源腐殖酸对溶液中微生物还原 Cr(VI) 的影响 (腐殖酸添加量: 2.00 g/L)

Fig. 4 Effect of humic acids originated from different materials on microbial Cr(VI) reduction in solutions

从以上结果可知, 不同制备来源的腐殖酸对溶液中 Cr(Ⅵ) 的化学还原和微生物还原作用都有影响, 这与腐殖酸上所含官能团的种类与数量密切相关。其中, HAK 对溶液中 Cr(Ⅵ) 还原的促进作用最大, HAs 次之, 而 HAh 不明显。其原因可能是腐殖酸上能够传递电子的官能团非常复杂, 其 E4/E6 比值表明 HAK 和 HAs 的腐殖化程度高于 HAh, 它们的结构组成可能比 HAh 更为复杂, 在微生物还原 Cr(Ⅵ) 的过程中发挥电子传递作用的官能团较多; 且 HAK 还含有多糖或类多糖结构能够与 Cr(Ⅵ) 发生非可逆氧化还原反应, 使 HAK 的化学还原作用强于 HAs, 从而也促进了微生物的 Cr(Ⅵ) 还原。

### 3 结论

1) 葡萄糖供给碳源条件下, 溶液中发生了微生物还原 Cr(Ⅵ) 的过程。腐殖酸上的还原性官能团能够将部分 Cr(Ⅵ) 直接还原, 但在有充足可利用碳源存在条件下, 腐殖酸主要通过电子传递作用极大地促进了微生物还原 Cr(Ⅵ) 的过程。

2) 腐殖酸对微生物还原 Cr(Ⅵ) 的促进作用随着腐殖酸浓度的增加而增强。在有充足碳源条件下,

浓度为 2.00 g/L 的腐殖酸使溶液中 0.4 mmol/L Cr(Ⅵ) 的还原率达到了 95% 以上, 0.20 g/L 的腐殖酸使其还原率达到了 51%, 而浓度为 0.02 g/L 时, 其对 Cr(Ⅵ) 的微生物还原过程的促进作用微弱。

3) 腐殖酸对微生物还原 Cr(Ⅵ) 的促进作用与其结构组成密切相关。在提取于山西大同风化煤(HAs)、河南巩县褐煤(HAh)和云南昆明滇池底泥(HAK)的 3 种腐殖酸中, HAK 对 Cr(Ⅵ) 的微生物还原过程的促进作用最强, HAs 次之, 而 HAh 最小。这可能是 HAK 和 HAs 的腐殖化程度较高, 其中能够发挥电子传递作用促进微生物还原 Cr(Ⅵ) 反应的官能团含量较多的缘故; 而且 HAK 中的多糖和类多糖结构对 Cr(Ⅵ) 的非可逆化学还原反应可能也促进了 Cr(Ⅵ) 的微生物还原。腐殖酸的结构组成非常复杂, 不同来源腐殖酸对微生物还原 Cr(Ⅵ) 的促进作用可能还受其他因素包括伴生物质的影响, 其作用机理如何, 还需要更深入的研究才能得到揭示。

### 参考文献:

- [1] Cheung KH, Gu JD. Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A review[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2007, 59(1): 8-15
- [2] Tokunaga TK, Wan JM, Hazen TC, Schwartz E, Firestone MK, Sutton SR, Newville M, Olson KR, Lanzirotti A and Rao W. Distribution of Chromium Contamination and Microbial Activity in Soil Aggregates[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2003, 32(2): 541-549
- [3] Krishna KR, Philip L. Bioremediation of Cr(VI) in contaminated soils[J]. *Journal of Hazardous Materials B*, 2005, 121(1/2/3): 109-117
- [4] 李梦杰, 王翠玲, 李荣春, 洪俊彦, 严亮, 刘丽, 庄立. 汞、铅、铬污染土壤的微生物修复[J]. *环境工程学报*, 2013, 7(4): 1 568-1 572
- [5] Higgins TE, Halloran AR, Petura JC. Traditional and innovative treatment methods for Cr(VI) in soil[J]. *Journal of Soil Contamination*, 1997, 6: 767-797
- [6] 高小鹏, 张欠欠, 许平. 微生物还原 Cr(VI) 的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(5): 820-824
- [7] Narayani M, Shetty KV. Chromium-resistant bacteria and their environmental condition for hexavalent chromium removal: A review[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2013, 43(9): 955-1 009
- [8] Ganguli A, Tripathi AK. Bioremediation of toxic chromium from electroplating effluent by chromate-reducing *Pseudomonas aeruginosa* A2Chr in two bioreactors[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, 58: 416-420
- [9] Park CH, Gonzalez D, Ackerley D, Keyhan M, Matin A. Molecular engineering of soluble bacterial proteins with chromate reductase activity[A] // Pellei M, Porta A,

- Hinchee RE. (Eds.). Remediation and Beneficial Reuse of Contaminated Sediments, vol. 3[M]. Columbus, OH.: Batelle Press, 2002
- [10] Lovley DR. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration[J]. *Nature*, 1996, 382: 445–448
- [11] Royer RA, Burgos WD, Fisher AS, Unz RF, Dempsey BA. Enhancement of biological reduction of hematite by electron shuttling and Fe(II) complexation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(2b): 1 939–1 946
- [12] Gu BH, Chen J. Enhanced microbial reduction of Cr(VI) and U(VI) by different natural organic matter fractions[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2003, 67(19): 3 575–3 582
- [13] Daulton TL, Little BJ, Jones-Meehan J, Blom DA, Allard LF. Microbial reduction of chromium from the hexavalent to divalent state[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2007, 71(3): 556–565
- [14] 文启孝. 土壤有机质研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1984
- [15] Lovley DR, Phillips EJP. Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its C3 cytochrome[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, 60: 726–728
- [16] 杜丽娟, 文启孝, 张晓华. 应用费尔恩法测定氯化钠盐土或底土中的有机碳[J]. *土壤*, 1982, 14(4): 149–151
- [17] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999
- [18] Kononova MM. Soil Organic Matter[M]. 2nd ed. Oxford: Pergamon, 1966
- [19] Senesia N, Orazioa VD, Riccab G. Humic acids in the first generation of EUROSOILS[J]. *Geoderma*, 2003, 116: 325–344
- [20] 龔森. 土壤有机质[M]. 北京: 科学出版社, 2010
- [21] Xu WH, Liu YG, Zeng GM, Li X, Tang CF, Yuan XZ. Enhancing effect of iron on chromate reduction by *Cellulomonas flavigena*[J]. *Journal of Hazardous Materials B*, 2005, 126: 17–22
- [22] Park DH, Lim SR, Yun YS, Park JM. Reliable evidences that the removal mechanism of hexavalent chromium by natural biomaterials is adsorption-coupled reduction[J]. *Chemosphere*, 2007, 70: 298–305
- [23] Fukushima M, Nakayasu K, Tanaka SH, Nakamara H. Speciation analysis of chromium after reduction of chromium ( ) by humic acid[J]. *Toxicol Environ Chem*, 1997, 62: 207–215
- [24] Wittbrodt PR, Palmer CD. Reduction of Cr(VI) by soil humic acids[J]. *Eur J Soil Sci*, 1996, 47: 151–162
- [25] Schnitzer M, Khan SU. Humic Substances in the Environment[M]. New York, NY, USA: Marcel Dekker, 1972
- [26] Zhilin DM, Schmitt-Kopplin P, Perminova IV. Reduction of Cr(VI) by peat and coal humic substances[J]. *Environ. Chem. Lett.*, 2004, 2: 141–145

## Effect of Humic Acids on Microbial Reduction of Cr(VI) in Aqueous Condition

LI Zhong-pei<sup>1,2</sup>, XU Li-na<sup>1,2</sup>, CHE Yu-ping<sup>1</sup>

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture(Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** Better understanding the processes of Cr( ) microbial reduction to Cr( ) is of great interest in bioremediation of contaminated environments. In this study, the paddy soil suspension was used as microbial inoculation and humic acids were extracted from materials as weathering coal of Datong in Shanxi Province, lignite of Gongxian in Henan Province and Dianchi Lake sediment (abbreviated respectively as HAs, HAh, HAK). The effects of humic acid on microbial Cr( ) reduction were studied by adding glucose or humic acid (HA) solely/together in anaerobic aqueous condition. The results indicated that the microbial Cr( ) reduction process was promoted by humic acid which acted as electron shuttles in the presence of the available carbon source. The stimulative effect on the microbial Cr( ) reduction enhanced with the concentrations of humic acid added, the concentration as 0.02 g/L almost had little effect while 2.00 g/L reduced above 95% of the Cr( ) in solution. HA extracted from different materials had distinct influences on microbial Cr( ) reduction. HAK and HAh had greater effects than HAh for their higher degree of humification, HAK contained certain polysaccharides or polysaccharide-like which also advanced the processes of microbial Cr( ) reduction. The effect of HAK on microbial Cr( ) was very weak.

**Key words:** Anaerobic condition; Cr( ) reduction; Microbial reduction; Humic acid