

黄孢原毛平革菌吸附铅离子机理的研究

吴 涓¹, 李清彪² (1. 安徽大学生命科学学院, 合肥 230039; 2. 厦门大学化工系)

摘要:通过电子显微镜观察和 X-射线光电子能谱测定等分析手段研究了黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*) 对 Pb^{2+} 生物吸附的机理. 实验结果表明, 该菌种对 Pb^{2+} 的吸附过程是一个以表面络合反应为主要机理的物理化学吸附过程, 同时也存在着离子交换机理, 但它并非主要机理.

关键词:黄孢原毛平革菌; 铅; 生物吸附; 表面络合反应

Study on mechanism of lead biosorption by phanerochaete chrysosporium

WU Juan¹, LI Qingbiao² (1. School of Life Sciences, Anhui University, Hefei 230039; 2. Department of Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract: *Phanerochaete chrysosporium* exhibited lead adsorption capacity from aqueous solution up to 108.45 mg/g. The biosorption mechanism was researched by the electron micrograph and X-rays Photoelectron Spectra. The experimental results showed that the main mechanism of lead biosorption was kind of physical chemical process, and metal ions were adsorbed directly on the cell surfaces. In addition to surface complex reaction, ion exchange also played a role in the biosorption process, but it was not a main mechanism.

Keywords: *Phanerochaete chrysosporium*; lead; biosorption; surface complex reaction

重金属污染对生态环境和人类健康的影响日益严重, 含重金属废水的处理已成为环境治理中越来越突出的问题. 采用生物吸附法去除废水中的重金属离子, 近年来以其新颖独特的优势引起了人们的广泛关注^[1-4]. 各国学者所提出的生物吸附重金属的机理包括表面络合、氧化还原和酶促机理等. 经研究证实非活性少根根霉 (*Rhizopus arrhizus*) 对钼的吸附应归因于细胞壁的成分之一——几丁质中的氮与钼的络合作用^[5]. Hosea^[6] 和 Greene^[7] 发现普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 可将吸附的 Au^{3+} 依次还原为 Au^+ 和 Au . 酶促机理是针对活性细胞提出的, Blackwell^[8] 发现活性啤酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 不但将 Zn^{2+} 吸附在其表面, 而且通过磷酸酶的作用将 60% 的 Zn^{2+} 运送进入液泡. 笔者在前文^[9,10] 分别报导了黄孢原毛平革菌的菌丝球培养条件以及该菌丝球对水溶液中 Pb^{2+} 的良好吸附作用. 本文则对此生物吸附的机理作了较详细的探讨.

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*) 由香港科技大学提供.

浓硝酸, (GR); 氢氧化钠, (CP); 铅粉, (AR); 镉片, (AR); 锌粉, (AR); 硫酸铜, (AR).

PHS-3C 型酸度计; 气浴恒温振荡器; PE3030 型原子吸收分光光度计 (美国 Perkin-Elmer);

JEM 100 CX 型透射电镜 (日本); VG ESCALAB MK 型 X-射线光电子能谱仪 (英国).

收稿日期: 2000-05-26; 修订日期: 2000-09-03

基金项目: 国家教委留学回国人员科研启动基金资助项目

作者简介: 吴 涓 (1969—), 女, 讲师

1.2 方法

菌丝球的培养与铅溶液的配制方法见文献[9]. 菌丝球的化学预处理和吸附方法见文献[10]. 解吸方法:将吸附了 Pb^{2+} 的菌丝球投入盛有 50 mL 一定浓度解吸剂的三角烧瓶中,放入摇床,于恒温下(28)解吸 10 h 后过滤,用原子吸收分光光度法测定滤液中 Pb^{2+} 的浓度.

2 结果与讨论

2.1 电镜分析

将吸附 Pb^{2+} 前后的黄孢原毛平革菌菌丝球制成切片,在透射电镜下观察.图 1 和图 2 分别为吸附 Pb^{2+} 前后的细胞壁形态.从图中可看出,吸附后的细胞壁上出现了电子密集层,而细胞内部和吸附前的细胞壁上则没有此现象,表明细胞壁上确实吸附了某种物质.



图 1 吸附 Pb^{2+} 之前的细胞壁($\times 40000$)

Fig. 1 Cell wall before Pb^{2+} biosorption($\times 40000$)

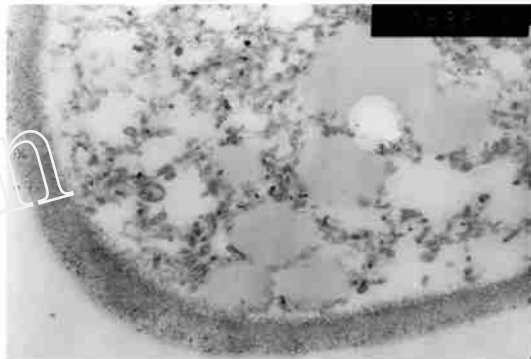


图 2 吸附 Pb^{2+} 之后的细胞壁($\times 40000$)

Fig. 2 Cell wall after Pb^{2+} biosorption($\times 40000$)

2.2 X-射线光电子能谱分析

图 3、图 4 分别为吸附 Pb^{2+} 前后细胞壁的 X-射线光电子能谱图.从图上可清楚地看到, O 的谱线很强, N 的谱线较弱, P、S 几乎没有, 吸附前的能谱图上没有铅;而吸附了 Pb^{2+} 后, 在 130—150 eV 的结合能范围内出现了铅的两个明显的峰(图 4),证明 Pb^{2+} 的吸附发生在细胞壁上而非细胞内部, Pb^{2+} 与细胞壁中的某些成分发生了一系列复杂的反应,使其吸附在细胞壁

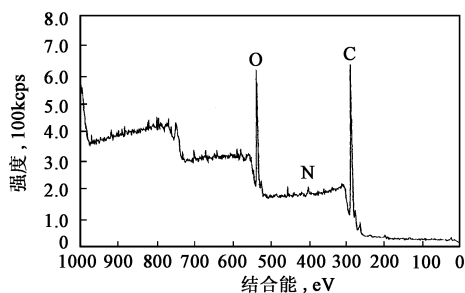


图 3 吸附 Pb^{2+} 之前 *P. chrysosporium* 的 XPS(pH4.5)

Fig. 3 The XPS spectra of *P. chrysosporium* before Pb^{2+} biosorption at pH4.5

(XPS Mg HV = 12.00 kV, E_m . C = 20 mA, Pass. E = 100 V)

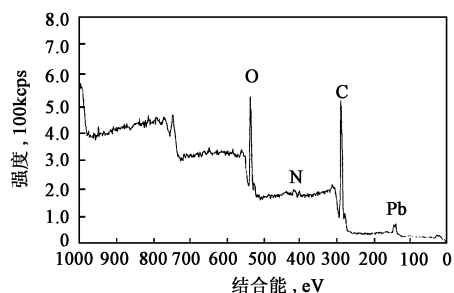


图 4 吸附 Pb^{2+} 之后 *P. chrysosporium* 的 XPS(pH4.5)

Fig. 4 The XPS spectra of *P. chrysosporium* after Pb^{2+} biosorption at pH4.5

(XPS Mg HV = 12.00 kV, E_m . C = 20 mA, Pass. E = 100 V)

上形成电镜下所观察到的电子密集层.同时也说明细胞壁上 O 的含量较大.

2.3 溶液 pH 值对吸附 Pb²⁺ 的影响

溶液酸度直接影响 Pb²⁺ 的吸附效果,其影响程度可分为两个阶段(图 5).pH < 4.5 时吸附量随 pH 的降低而明显下降;在 4.5 < pH < 7 范围内,吸附量随 pH 的增大而减小,pH 4.5 时吸附量最大(吸附率达 95.33%).由于细胞壁上的蛋白质在化学预处理过程中部分分解为氨基酸,氨基酸上的羧基和氨基均有孤对电子可提供给 Pb²⁺.其他一些含 N、O、S 等的官能团也能与 Pb²⁺ 络合(或螯合).在 pH < 4.5 的酸性环境中,官能团中的羧基、酚羟基上的质子很难解离,使 Pb²⁺ 官能团的结合机会减少.pH 的增大有利于官能团上质子的解离,产生较多的负电性官能团,增强了官能团与 Pb²⁺ 之间的结合能力和反应几率,导致吸附量增大.但当 pH 超过一定值时,吸附量反而下降,因为 OH⁻ 会影响金属离子在溶液中的平衡,OH⁻ 本身作为一种配位体有和 Pb²⁺ 结合的倾向,它能和细胞壁上的配位体竞争金属离子.由此可见吸附量的大小与细胞壁上的官能团有很大关系,在以下实验中将进一步证实这一点.

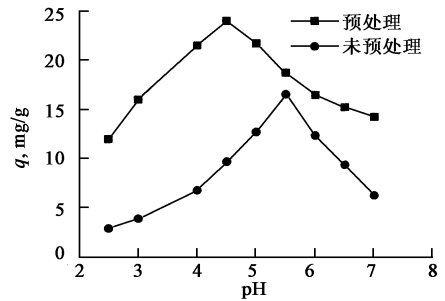


图 5 溶液 pH 对 Pb²⁺ 吸附的影响

Fig. 5 Effect of pH on Pb²⁺ biosorption

2.4 共存离子对吸附 Pb²⁺ 的影响

实验考察了 Cu²⁺、Zn²⁺、Cd²⁺ 三种离子对 Pb²⁺ 吸附能力的影响.图 6 表明,Cd²⁺ 的存在对 Pb²⁺ 的吸附影响最小,而 Zn²⁺ 的影响最大,但共同的趋势是这些离子的存在均使 Pb²⁺ 的吸附量下降.由此可得出以下结论:它们和 Pb²⁺ 一样,也能与细胞表面的羧基、羟基等活性官能团结合,而细胞表面的这些官能团数量是有限的,共存离子的加入引起了对这些官能团的竞争,导致吸附能力降低.共存离子的竞争作用从另一方面说明了黄孢原毛平革菌对 Pb²⁺ 的吸附是一个以表面络合为主的物理化学过程.

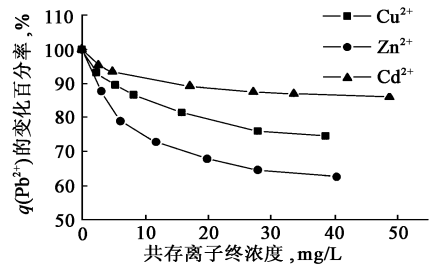


图 6 共存离子对 Pb²⁺ 吸附的影响

Fig. 6 Effect of co-ions on Pb²⁺ biosorption

2.5 Pb²⁺ 吸附的动力学过程

吸附时间对 Pb²⁺ 的影响结果(图 7)表明,菌丝球吸附 Pb²⁺ 的过程可以分成两个阶段.第一个阶段吸附速度很快,在吸附开始 10 min 内吸附量完成了最终吸附量(23.35 mg/g)的 76.83%.第二个阶段吸附速度很慢,从第 10 min - 2 h 之间,吸附量仅增加 4.14 mg/g,占整个吸附量的 17.73%,随后吸附量的增加非常缓慢,至 12 h 时趋于平衡.据文献记载^[11],重金属会引起微生物细胞壁通透性的变化,因此推断进一步的吸收可能受控于通过细胞的扩散过程,或者受到胞内代谢过程的调节.由于黄孢原毛平革菌经化学

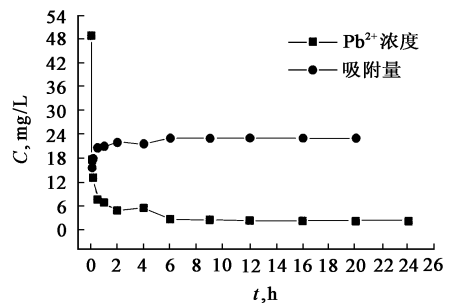


图 7 时间对 Pb²⁺ 吸附的影响

Fig. 7 Effect of time on Pb²⁺ biosorption

预处理后已失去活性,可推断这种非活性细胞对 Pb^{2+} 的吸附是一种快速的表面吸附.

2.6 解吸实验

实验选用无机酸、有机酸和无机盐作为解吸剂.结果表明(表 1),盐酸、硝酸和柠檬酸对 Pb^{2+} 的解吸率达 98% 以上, $NaCl$ 、 $Na_2S_2O_3$ 和 EDTA 等都是有效的解吸剂,解吸率均在 94% 以上.这表明生物吸附是可逆的,因为在酸性溶液中,大量的 H^+ 与 Pb^{2+} 竞争细胞壁上的活性官能团,使 Pb^{2+} 失去和它们结合的机会,导致 Pb^{2+} 又回到溶液中. Cl^- 、 $S_2O_3^{2-}$ 、 NO_2^- 等都可与 Pb^{2+} 形成络合物,从而使 Pb^{2+} 离开细胞壁上的官能团而与之结合.

表 1 不同解吸剂的解吸率

Table 1 The desorption efficiency of various effluents

解吸剂	解吸率, %	解吸剂	解吸率, %
HCl, (0.5 mol/L)	98.26	$Na_2S_2O_3$ (0.5 mol/L)	96.83
HNO_3 , (0.5 mol/L)	98.91	Tartaric acid (0.5 mol/L)	89.08
$NaCl$, (15%)	96.41	Citric acid (0.5 mol/L)	98.03
$NaNO_2$, (0.5 mol/L)	78.88	EDTA (饱和溶液)	94.67

解吸条件: 28℃, 10 h, 50 mL 解吸剂

2.7 Langmuir 等温吸附模型对 Pb^{2+} 吸附过程的拟合

作者从间歇等温吸附的数据出发,用 Langmuir 吸附等温式 $q/q_{max} = bC_e / (1 + bC_e)$ 来拟合实验数据.式中 q_{max} 为理论最大吸附量(mg/g), C_e 为达吸附平衡时 Pb^{2+} 浓度(mg/L), b 为常数.此式可转化为以下形式: $C_e/q = 1/bq_{max} + C_e/q_{max}$.通过一元线性回归分析和最小二乘法可求得常数 b (表 2).由于相关系数接近 1,因此所拟合的方程其线性相关性很好,图 8 也证实了拟合方程与实验数据非常符合,这表明该生物吸附过程可由 Langmuir 吸附等温式来描述.

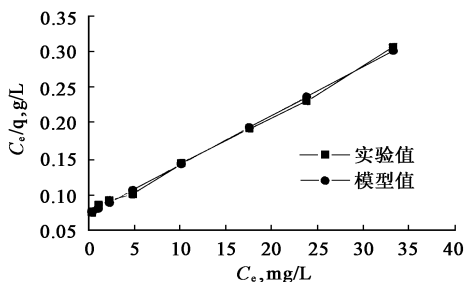


图 8 Langmuir 模型与实验值的比较

Fig. 8 Comparison of Langmuir model and experiment

2.8 生物吸附过程中 pH 的变化

在天然菌丝球吸附铅的过程中,溶液 pH 值由开始的 5.50 降为吸附终了时(16 h)的 3.95.经化学预处理后的菌丝球吸附铅时,在吸附开始 1 h 的时候,溶液 pH 值由初始的 4.50 迅速上升至 6.03,但随后

表 2 朗格缪尔模型的参数

Table 2 The parameters of Langmuir model

参数值	相关系数	Langmuir 方程
$q_{max} = 146 \text{ mg/g}$	0.9971	$C_e/q = 0.07349 + 0.006849 C_e$
$b = 0.09320 \text{ L/mg}$		

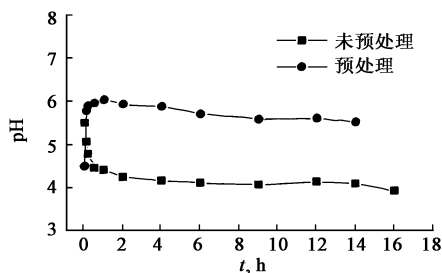


图 9 吸附过程中溶液 pH 的变化

Fig. 9 Chang of pH during biosorption

一直下降,直到达吸附平衡时的 5.50(图 9).而将经化学预处理后的菌丝球投入 pH 4.5 的无 Pb^{2+} 的溶液中发现,其 pH 呈上升趋势直至平衡(图 9 未显示).因此可认为,由于在预处理中使用了大量 $NaOH$, OH^- 进入了菌丝球内部,虽经去离子水浸泡、冲洗,但不可能完全排出 OH^- .在吸附过程中,这些残留的 OH^- 从菌丝球内部向溶液中扩散,导致溶液 pH 值迅速增大.但随着吸附的进行,pH 又下降,表明细胞表面官能团上的 N、O、S 等原子利用其孤对电子与 Pb^{2+} 配位发生络

合(或螯合)反应时,取代了官能团上的氢。

为了便于计算由单纯吸附引起的溶液中 H^+ 的增加量,我们以未经预处理的生物量为例。当 pH 从 5.50 降为 3.95 时,细胞上释放的 H^+ 量为 $54.52 \mu\text{mol/g}$ 生物量,与吸附平衡时细胞上所吸附的 Pb^{2+} 量 $79.39 \mu\text{mol/g}$ 生物量的比例为 1:1.46,释放的 H^+ 占吸附的 Pb^{2+} 量的 68.67%。这一结果表明,通过取代氢而络合的 Pb^{2+} 占大部分,除此之外,还可能有其它官能团在与 Pb^{2+} 络合(或螯合)时没有伴随氢的取代。

2.9 吸附过程中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的释放

在实验过程中发现,吸附前的铅溶液中测不出 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的浓度,但在吸附后的溶液中发现它们的浓度分别达 0.63 mg/L 和 0.21 mg/L 。经计算可知,当 Pb^{2+} 的初始浓度为 50 mg/L ,菌丝球用量为 2 g/L 时,从细胞上释放的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 量分别为 $7.86 \mu\text{mol/g}$ 和 $4.32 \mu\text{mol/g}$,总释放量 ($12.18 \mu\text{mol/g}$) 占 Pb^{2+} 吸附量 ($115.2 \mu\text{mol/g}$) 的 10.57%,有文献称之为离子交换现象^[12]。但 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 与 Pb^{2+} 之间的这种离子交换并非 1:1 的关系,通过离子交换而结合的 Pb^{2+} 在整个吸附量中仅占一小部分,这一现象同样说明了有其它吸附机理存在。

以上实验结果表明,生物吸附主要发生在细胞壁上而非细胞内部,除了表面络合作用以外,还存在着 Pb^{2+} 与 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的离子交换作用,但后者并非主要机理。解吸实验证明,这种表面吸附是可逆的。因此可以说生物吸附过程是一个以表面络合为主的物理化学吸附过程。该方法为废水中重金属的去除提供了一个新途径。

参考文献:

- [1] Siegel S, Keller P, Galun M, et al. Biosorption of lead and chromium by *Penicillium* preparations[J]. Water, Air and Soil Pollution, 1986, 27: 69-75
- [2] Fourest E, Roux J C. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: mechanisms and influence of pH[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1992, 37: 399-403
- [3] Singleton I, Simmons P. Factors affecting silver biosorption by an industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. J Chem Tech Biotechnol, 1996, 65(1): 21-28
- [4] Hafez N, Abdel-Razek A S, Hafez M B. Accumulation of some heavy metals on *Aspergillus flavus*[J]. J Chem Tech Biotechnol 1997, 68(1): 19-22
- [5] Tsezos M, Volesky B. The mechanism of Thorium biosorption by *Rhizopus arrhizus*[J]. Biotechnol and Bioeng, 1982, 24: 955
- [6] Hosea M, Greene B, McPherson R, et al. Accumulation of elemental gold on the alga *Chlorella vulgaris*[J]. Inorganica Chimica Acta, 1986, 123: 161-165
- [7] Greene B, Hosea M, McPherson R, et al. Interaction of gold(III) and gold(I) complexes with algal biomass[J]. Environ Sci Technol, 1986, 20(6): 627-632
- [8] Blackwell KJ, Singleton I, Tobin J M. Uptake of metal cations by *Saccharomyces*[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1995, 43: 579
- [9] 李清彪,吴涓,杨宏泉,等. 白腐真菌菌丝球形成的物化条件及其对铅的吸附[J]. 环境科学,1999, 20(1): 33-38
- [10] 吴涓,李清彪,邓旭,等. 白腐真菌吸附铅的研究[J]. 微生物学报,1999, 39(1): 87-90
- [11] 李永祺,丁美丽. 海洋污染生物学[M]. 北京:海洋出版社,1991. 376-378
- [12] Brady J M, Tobin J M. Binding of hard and soft metal ions to *Rhizopus arrhizus* biomass[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1995, 17: 791-796