

孙道华, 李清彪, 凌雪萍, 等. 2006. 气单胞菌 SH10 吸附银离子机制的研究 [J]. 环境科学学报, 26(7): 1107 - 1110

Sun D H, Li Q B, Ling X P, *et al*. 2006. Studies on mechanisms of silver biosorption by *Aeromonas* SH10 [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 26(7): 1107 - 1110

## 气单胞菌 SH10 吸附银离子机制的研究

孙道华, 李清彪\*, 凌雪萍, 王琳, 傅谋兴

厦门大学化学工程与生物工程系, 厦门 361005

收稿日期: 2005-11-08 修回日期: 2006-04-27 录用日期: 2006-04-29

**摘要:** 以气单胞菌 SH10 为生物吸附材料, 从静电吸附作用、离子交换作用、络合作用、沉淀作用几方面研究了 SH10 吸附  $Ag^+$  过程可能存在的的作用机制。结果表明, 气单胞菌 SH10 吸附银离子依赖于静电吸附作用; 吸附  $Ag^+$  前后溶液中  $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Mg^{2+}$  浓度的变化较小, 说明吸附过程中离子交换不明显; SH10 表面的羧基、氨基和脂类基团经化学屏蔽后, 对  $Ag^+$  的吸附量明显下降, 结合红外光谱分析结果, 确定酰胺基 CO-NH 为 SH10 与银离子发生络合作用的主要官能团; 电镜扫描结果表明, SH10 在吸附过程中可以和  $Ag^+$  形成沉淀沉积在细胞表面。

**关键词:** 生物吸附; 银离子; 气单胞菌

文章编号: 0253-2468(2006)07-1107-04

中图分类号: X172

文献标识码: A

## Studies on mechanisms of silver biosorption by *Aeromonas* SH10

SUN Daohua, LI Qingbiao\*, LING Xueping, WANG Lin, FU Mouxing

Department of Chemical and Biochemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005

Received 8 November 2005;

received in revised form 27 April 2006;

accepted 29 April 2006

**Abstract:** The study on mechanisms of metal biosorption is helpful to improve the biosorption ability of organism. Mechanisms of silver biosorption by *Aeromonas* SH10 were discussed from several aspects such as electrostatic adsorption, ion exchange, complexation and deposition. Results showed that silver biosorption by SH10 didn't mainly depend on ion exchange due to only slight increase of the contents of  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$  in solution after biosorption, while electrostatic adsorption was found to be responsible for biosorption. Adsorptive capacity of silver ion decreased distinctly after functional groups such as carboxyl, amino and lipid groups on SH10 cell wall were chemically modified, respectively. Combined with FTIR spectra, amino groups were confirmed to be the main active groups that could combine with silver ion. SEM illustrated precipitation could take place on the cell wall of SH10.

**Keywords:** biosorption; silver ion; *Aeromonas*

生物吸附的概念最早是由 Ruchhofi 在 1949 年提出的, 与传统的贵金属回收方法 (化学沉淀法、电解法、离子交换法、膜分离法和活性炭吸附法) 相比, 生物吸附法具有在低浓度下 (可以选择性去除某种金属离子、处理效率高、pH 值和温度范围宽 (pH 3~9, 温度 4~90)、易于分离回收重金属、吸附剂易再生等优点 (Figueria *et al*, 1997; 张秀丽等, 2002)。

生物吸附贵金属主要发生在生物体的细胞壁上, 是个不依赖于代谢的过程。生物对贵金属的吸附作用取决于吸附剂本身的性质、金属种类及其在水溶液中的离子状态, 同时也受外界环境因素的影

响 (王建龙, 2002)。由于生物吸附剂结构的复杂性, 生物吸附金属的机制十分复杂, 当生物吸附剂和吸附离子一定时, 生物吸附机制主要有静电吸附、离子交换、络合和沉淀等作用。一种生物吸附剂可以通过上述机制中的一种或多种吸附某一金属离子。研究生物吸附过程的机制, 将有助于提高生物吸附剂的吸附能力, 从而提高金属离子的回收率。

银作为一种重要的贵金属, 被广泛应用于医药、电子、摄影、化学工业等领域。在应用银的过程中会产生大量的含银废水和废渣, 若能合理地回收利用, 不仅能减少对环境的污染, 而且其经济效益亦十分可观。本研究组在前期工作中优选出对银具

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 20376067)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 20376067)

作者简介: 孙道华 (1975—), 女, 讲师, Tel: 0592 - 2183088 E-mail: sdaohua@xmu.edu.cn; \* 通讯作者 (责任作者)

**Biography:** SUN Daohua (1975—), female, lecturer, Tel: 0592 - 2183088 E-mail: sdaohua@xmu.edu.cn; \* Corresponding author

有较强吸附能力的气单胞菌 SH10(王琳, 2004), 本文着重对其生物吸附  $\text{Ag}^+$  的作用机制展开研究.

## 1 实验 (Experiments)

### 1.1 材料

化学试剂:  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (AR)、 $\text{CH}_3\text{OH}$  (AR)、 $\text{HCOOH}$  (AR)、 $\text{HCHO}$  (AR)、丙酮 (AR)、 $\text{KBr}$  (AR).

SH10菌粉: 将分离自福建上杭金矿区冶炼厂总排污口污水的菌株 *Aeromonas* SH10扩大培养, 培养物经离心 ( $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 20min后收集菌体, 超纯水洗涤 3次, 菌泥于 60 烘干, 冷却研磨制得.

### 1.2 吸附实验

$[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$  溶液的配制: 50mL ( $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的  $\text{AgNO}_3$  溶液中, 逐滴加入 1.3% 的  $\text{NaCl}$  溶液 2mL, 沉淀充分形成后, 再逐滴加入  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  溶液至沉淀恰好消失, 定容至 100 mL, 配成银离子浓度为  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$  溶液.

吸附实验: 用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{HNO}_3$  或  $\text{NaOH}$  溶液将  $\text{AgNO}_3$  溶液或  $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$  溶液调至所需 pH, 移取一定体积加入 50 mL 锥形瓶中, 配成初始银浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液, 称取定量菌粉加入, 在  $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  菌粉浓度、30 条件下避光振荡 ( $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 2h, 菌悬液经  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜过滤, 滤液适当稀释后采用原子吸收分光光度计法 (TAS-986) 测定残留的银离子浓度, 计算菌体对银离子的吸附量  $q$ .

### 1.3 离子交换作用的考察

在 10 mL 超纯水中加入 0.02 g 菌粉, 在  $\text{pH} = 6, 30$  条件下振荡 ( $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 2 h, 离心 ( $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 20min后取上清液, 原子吸收分光光度计测定溶液中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  浓度. 同上条件下将吸附液换为 10mL ( $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的  $\text{Ag}^+$  溶液, 吸附 2 h 后再次测定溶液中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  浓度.

### 1.4 屏蔽基团处理

屏蔽生物吸附剂细胞表面的酯类物质 (丙酮提脂): 75 mL 丙酮中, 加入 1 g SH10菌粉, 60 加热回流 6 h, 超纯水洗涤 3次, 离心 ( $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 20 min后收集菌体、60 烘干、研磨.

屏蔽生物吸附剂细胞表面的羧基 (酯化羧基): 50 mL 甲醇中, 加入 1 g SH10菌粉和 0.5 mL 浓  $\text{HNO}_3$ , 30 振荡 ( $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 6h, 超纯水洗涤 3次, 离心 ( $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 20min后收集菌体、60 烘干、研磨.

屏蔽生物吸附剂细胞表面的氨基 (氨基甲基

化): 40 mL 甲酸中, 加入 1g SH10菌粉和 20 mL 甲醛, 30 振荡 ( $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 6h, 超纯水洗涤 3次, 离心 ( $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 20min后收集菌体、60 烘干、研磨.

### 1.5 傅立叶变换红外光谱仪 (FTIR) 表征

取少量吸附了银离子的生物细胞粉末与  $\text{KBr}$  均匀混合, 研磨、压片. 采用傅立叶变换红外光谱仪 (740SX) 分析.

## 2 结果 (Results)

### 2.1 静电吸附作用

微生物细胞壁的基本组成物质多为两性物质, 如果静电吸附为某生物吸附重金属的主要机制, 那么对于阴、阳离子最佳吸附 pH 应该截然不同 (张秀丽等, 2002). 在 pH 值较低的情况下, 吸附剂表面正电荷足够多时, 静电吸附作用导致其对阴离子吸附量的提高; 而在 pH 较高的情况下, 对阳离子的吸附效果较好.

实验分别考察了菌粉对银的阳离子 ( $\text{Ag}^+$ ) 和阴离子基团 ( $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$ ) 的吸附作用 (见图 1).

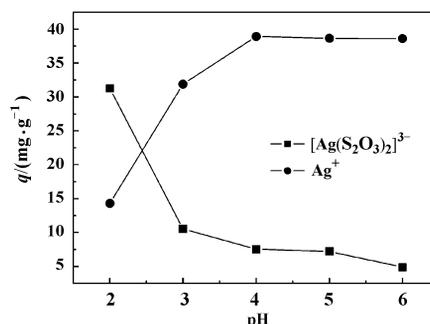


图 1 pH 对 SH10 菌体吸附  $\text{Ag}^+$  和  $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$  的影响

Fig 1 Effect of pH on  $\text{Ag}^+$  and  $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$  biosorption by SH10

图 1 表明, SH10 菌体吸附  $\text{Ag}^+$  的最佳 pH 范围为 4~6, 吸附  $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$  的最佳 pH 为 2, 且两者吸附量随溶液 pH 值变化的趋势截然相反. 从 SH10 菌体吸附  $\text{Ag}^+$  和  $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$  对溶液 pH 值的强依赖性, 推测静电吸附作用可能是 SH10 菌体吸附银离子较为主要的作用机制之一.

### 2.2 离子交换作用

微生物细胞壁含有大量的结构多糖, 这些多糖常常表现出和离子交换树脂类似的特性, 能与溶液中的金属离子发生离子交换作用. 为了探讨 SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  是否存在离子交换机制, 实验考察了 SH10

吸附  $\text{Ag}^+$  前后溶液中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  浓度的变化 (表 1)。

表 1 生物吸附前后溶液中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  浓度的变化

Table 1 Change of the concentration of  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  before and after bioadsorption

吸附状态	离子浓度 / ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )			
	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Ag}^+$
吸附前	5.30	5.43	8.54	100.00
吸附后	5.67	5.67	10.13	27.17

结果表明, SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  后, 溶液中的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  含量均有少量的增加, 吸附后 1L 吸附液中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  共增加了 2.2 mg 说明 SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  的过程中存在着一定程度的离子交换作用, 但不是主要机制. 应用能量散布分析仪 (LEO - 1530 EDS) 分析菌体细胞表面元素, 吸附前后细胞表面的 K、Na、Mg 含量变化也很小。

### 2.3 络合作用

生物细胞壁含有巯基、羟基、羧基、咪唑基、胺基、胍基、亚胺基等活性基团, 这些基团中的 N、O、P、S 等均可以提供孤对电子与金属离子形成络合物或螯合物, 使溶液中金属离子被吸附. 实验分别用屏蔽功能基团法和 FTIR 技术研究 SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  过程是否存在络合作用机制。

2.3.1 功能基团的屏蔽 对 SH10 菌粉分别做丙酮提脂、酯化羧基和氨基甲基化处理后, 同比条件下进行吸附实验的结果如表 2 所示。

表 2 功能基团屏蔽处理对 SH10 菌粉吸附  $\text{Ag}^+$  的影响

Table 2 Effect of modification of active groups on bioadsorption by SH10

屏蔽基团	吸附量 $q/$	与未经屏蔽处理的
	( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	吸附量差异 $q/$ ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )
未屏蔽	35.86	/
丙酮提脂	32.15	3.71
酯化羧基	29.89	5.97
氨基甲基化	8.85	27.01

屏蔽基团处理后, SH10 菌粉对  $\text{Ag}^+$  的吸附量明显下降, 其中屏蔽氨基后的吸附量下降最大, 然后依次是屏蔽羧基和提脂处理. 说明  $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$  和脂类物质均为生物吸附  $\text{Ag}^+$  的活性基团, 其中氨基对 SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  的作用最大, 这与软离子, 如  $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  等, 易与  $\text{CN}^-$ 、 $\text{RS}^-$ 、 $\text{SH}^-$ 、 $\text{NH}_2$  等配位基以共价键结合的报道一致 (Pethkar *et al.*, 2001)。

2.3.2 FTIR 分析 分析 SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  前的 FTIR 图谱 (图 2 a), 位于  $1657\text{ cm}^{-1}$  左右的特征吸收峰属于生物体共有的生物酰胺 1 带, 即酰胺结构  $\text{CO}-\text{NH}$  中羰基官能团的伸缩振动特征峰; 位于  $1540\text{ cm}^{-1}$  左右的特征吸收峰属于生物酰胺 2 带, 即酰胺结构中 N-H 变角振动与 C-N 伸缩振动耦合产生的吸收峰。

SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  后 (图 2 b), 位于  $1657\text{ cm}^{-1}$  和  $1540\text{ cm}^{-1}$  左右的特征吸收峰分别迁移至  $1654\text{ cm}^{-1}$  和  $1534\text{ cm}^{-1}$  处. 这是由于细胞酰胺结构中的 O、N 在吸附过程中通过配位络合等方式与  $\text{Ag}^+$  相作用, 从而降低了酰胺  $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{N}-\text{H}$  和 C-N 等有机键的电子云密度, 改变了它们的振动频率。

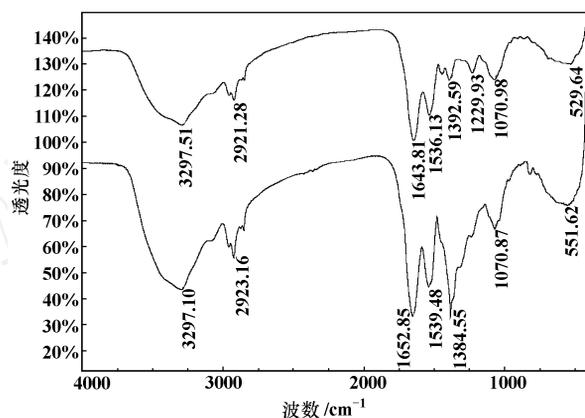


图 2 SH10 吸附前后的 FTIR 谱图

Fig 2 FTIR spectra of bioadsorption by SH10

SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  前后的红外谱图的变化说明, SH10 细胞有机官能团中的酰胺基  $\text{CO}-\text{NH}$  为 SH10 与银离子发生络合作用的主要官能团, 这与其他学者对生物吸附活性位点的研究结论一致 (Pethkar *et al.*, 2001)。

### 2.4 沉淀作用

对于生物吸附来说, 对金属离子的沉淀作用可以按沉淀产生的部位分为细胞外、细胞壁和细胞内的沉淀 (Tsezos *et al.*, 1995). 观察 SH10 菌体和  $\text{Ag}^+$  溶液的混合液, 当初始  $\text{Ag}^+$  浓度逐渐增大到  $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时混合液仍无明显的浑浊出现, 表明胞外沉淀作用可能不是 SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  的主要机制. 同时进行 TEM 分析 (如图 3), 发现上述生物吸附剂表面存在电子不透明颗粒, 表明  $\text{Ag}^+$  在吸附剂的细胞表面形成沉淀. 因实验中所用的吸附材料为死细胞, 因此这种沉淀作用是不依赖于代谢的细胞壁上的沉淀作用。

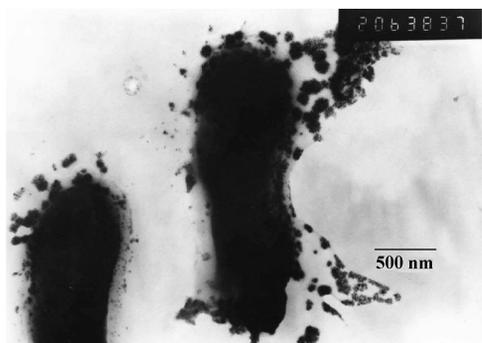


图 3 SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  的 SEM 表征

Fig 3 SEM characterization of SH10 adsorbing  $\text{Ag}^+$

### 3 结 论 (Conclusions)

1) 静电吸附作用可能是气单胞菌 SH10 吸附银离子的主要作用机制之一。

2) 离子交换作用不是 SH10 吸附银离子的主要机制。

3) SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  过程中存在络合反应机制, 细胞表面的酰胺基为 SH10 与银离子发生络合作用的主要官能团。

4) SH10 吸附  $\text{Ag}^+$  过程中存在着发生在细胞壁上的沉淀作用。

通讯作者简介:李清彪(1963—),男,教授,博士生导师,主要从事生物化工方面的教学与科研工作,已发表论文 100 余篇,主持国家自然科学基金 3 项。E-mail: kelqb@xnu.edu.cn, Tel: (0592) 2183088

#### References:

Figueira M M, Volesky B, Ciminelli V S T. 1997. Assessment of Interference in Biosorption of a Heavy Metal[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 54(4): 344—350

Fu J K, Zhang W D, Liu Y Y, *et al*. 1999. Characterization of absorption and reduction of noble metal ions by bacteria [J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 20(9): 1452—1454 (in Chinese)

Klaus T, Joerger R, Olsson E, *et al*. 2001. Bacteria as workers in the living factory: metal-accumulating bacteria and their potential for materials science[J]. *Trends in Biotechnology*, 19(1): 15—20

Pethkar A V, Kulkarni S K, Paknikar K M. 2001. Comparative studies on metal biosorption by two strains of *Cladosporium cladosporioides* [J]. *Bioresour Technol*, 80: 211—215

Singleton I, Simmons P. 1996. Factors affecting silver biosorption by an industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *J Chem Tech Biotechnol*, 65(1): 21—28

Tsezos M, Renoudaki E A. 1995. Systematic study on equilibrium and kinetics of biosorptive accumulation, the case of Ag and Ni [J]. *International Biodegradation and Biodegradation*, 35(1-3): 129—153

Tsezos M, Volesky B. 1982. The mechanism of Thorium biosorption by *Rhizopus arrhizus* [J]. *Biotechnol and Bioeng*, 24(4): 955—969

Wang J L. 2002. *Biological Immobilization Technology and Water Pollution Control* [M]. Beijing: Science Press, 233—247 (in Chinese)

Wang L. 2004. Study on biosorption and bioreduction of silver ions by *Aeromonas SH10* and *Laminaria japonica* [D]. Xiamen University, 16—21 (in Chinese)

Wu J, Li Q B. 2001. Study on mechanism of lead biosorption by *phanerochaete chrysosporiu* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 21(3): 291—295 (in Chinese)

Zhang X L, Liu Y Y. 2002. Biosorption of precious and heavy metals [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 8(6): 668—671 (in Chinese)

#### 中文参考文献:

傅锦坤, 张伟德, 刘月英, 等. 1999. 细菌吸附还原贵金属离子特性及表征 [J]. *高等学校化学学报*, 20(9): 1452—1454

王建龙. 2002. *生物固定化技术与水污染控制* [M]. 北京: 科学出版社, 233—247

王琳. 2004. 细菌 SH10 和海带吸附还原银离子的研究 [D]. 厦门大学, 16—21

吴涓, 李清彪. 2001. 黄孢原毛平革菌吸附铅离子机制的研究 [J]. *环境科学学报*, 21(3): 291—295

张秀丽, 刘月英. 2002. 贵、重金属的生物吸附 [J]. *应用与环境生物学报*, 8(6): 668—671