

蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 吸附铅的研究

潘建华, 刘瑞霞

(中国科学院生态环境研究中心环境水质学国家重点实验室, 北京 100085)

摘要: 通过吸附实验和微量滴定法探讨了 Pb^{2+} 与蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 的吸附特性. 结果表明, 该菌体对 Pb^{2+} 的吸附量随着 pH 升高而升高, 最适 pH 值为 6; 菌体浓度的增加有利于对 Pb^{2+} 的吸附; 整个吸附过程符合 Langmuir 吸附模型, 在试验的条件下, 对 Pb^{2+} 的饱和吸附容量为 36.7 mg/g 干菌体. 通过电位滴定实验, 使用实时格氏图确定了滴定体系中的等当点 (V_e) 以及估算了表面活性位的总浓度 (H_s).

关键词: 蜡状芽孢杆菌; 生物吸附; 铅

中图分类号: X505 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)02-0166-04

Biosorption of Pb^{2+} by *Bacillus cereus* Biomass

PAN Jian-hua, LIU Rui-xia

(State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Science, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: In this paper, the potentiometric titration and the sorption experiments were applied to investigate the biosorption behavior of Pb^{2+} on *Bacillus cereus* biomass. It was shown that the biosorption capacities increased with increasing pH from 3 to 7, and the higher concentration of the biomass in solution was favorable to the sorption of Pb^{2+} . Langmuir model simulated the adsorption data of Pb^{2+} ion very well, and the saturated sorption capacity for Pb^{2+} ion achieved $36.7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ dry biomass. According to the result of the potentiometric titration, the Gran plots for the hydroxide back-titration of biomass suspension systems were utilized to derive the specific volume of titrant at the equivalence point (V_e), furthermore, the total surface site concentration was calculated.

Key words: *Bacillus cereus*; biosorption; lead

金属离子是普遍存在的一类污染物. 近年来, 随着经济的高速发展以及人民生活水平的不断提高, 金属的使用越来越广泛, 许多工业活动如电镀、化工、燃料以及矿冶等工业过程中将产生大量的含金属废水, 而微生物富集金属因其在环境保护和在贵金属回收方面的潜在应用前景而倍受重视^[1, 2, 3]. 在长期的研究中, 人们发现一些微生物如细菌、真菌和藻类等对金属离子都有很强的吸附能力^[4, 5]. 但是由于细胞本身结构组成的复杂性, 对吸附机理的研究还不够深入.

本文从官厅水库的天然水体中筛选获得一株细菌, 经鉴定为蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus*, 以其作为生物吸附剂开展了对水中 Pb^{2+} 的吸附研究, 同时利用微量电位滴定法对 Pb^{2+} 离子与菌体的相互作用进行较为深入的讨论.

1 实验部分

1.1 实验材料

细菌菌体的制备: 将从官厅水库天然水体中分离纯化得到的 *Bacillus cereus* 菌株接入牛肉蛋白胨培养基中, 在恒温摇床上, 30°C , 160 r/min 下培养

72h, 将培养液在 7000 r/min 下离心 30 min, 弃去上清液, 用蒸馏水洗涤菌体 4~6 遍, 弃去上清液, 菌体冷冻干燥, 再将此干菌体配成 4 g/L 的悬浮液, 备用^[4].

1.2 菌体对 Pb^{2+} 离子的静态吸附实验

本试验包括菌体浓度和溶液 pH 的影响, 以及吸附等温线测定.

取一定体积上述菌体悬液置于 50 mL 塑料离心管中, 加入一定量的 Pb^{2+} 溶液, 1 mol/L NaNO_3 用来调节悬浮液的离子强度, 使最终溶液体积为 20 mL, 菌体浓度为 $0.25 \sim 2 \text{ g/L}$, Pb^{2+} 溶液浓度为 $5 \sim 90 \text{ mg/L}$, 离子强度为 0.01 mol/L . 用稀 NaOH 或 HNO_3 溶液调节体系 pH 值为 $3.0 \sim 7.0$, 在室温、 160 r/min 下振荡 24h, 高速离心分离, 用原子吸收分光光度计测定上清液中重金属离子的残留量^[6].

1.3 微量电位滴定实验

本实验采用的反滴定过程, 包括 2 个连续步骤:

①首先将样品悬浮液酸量滴定至 pH 3 左右; ②然后

收稿日期: 2003-03-27; 修订日期: 2003-05-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20177027, 20037010); 香港研究基金会 (PolyU5001/OOE) 资助项目

作者简介: 潘建华 (1976~), 男, 硕士研究生.

用 OH^- 反滴定至碱性区域.

分别配置菌体浓度为 0.5 和 2g/L 菌悬液 90 mL,离子强度分别控制在 0.1、0.01、0.001 mol/L NaNO_3 . 通纯 N_2 ,并连续经过 10% NaOH 、10% H_2SO_4 和去离子水,最后进入滴定体系以去除 CO_2 ,直至电极电位基本稳定.此后,将 0.05005 mol/L 标准 HNO_3 逐渐加入(即酸量滴定过程).当体系 pH 降至 3 左右时,以 0.04896 mol/L NaOH 反向滴定至 pH 为 11 时.在整个滴定的过程中,体系的平衡判据是在连续搅动和恒温 25℃ 条件下,每次加入滴定剂后,玻璃电极监测电位的漂移值低于 1 mV/min.另外,对于每一个试验,其相应的不含有菌样的样品空白与样品的处理过程相同^[7].

2 结果与讨论

2.1 细菌的鉴定

用常规的细菌鉴定方法进行鉴定,根据菌体形态、革兰氏染色、芽孢形态观察以及糖类发酵试验、碳源同化试验、氮源同化试验、水解淀粉、水解酪素等生理生化试验,菌株被鉴定为蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*).据报道^[8],芽孢杆菌属的菌株都具有固定大量金属的能力.

2.2 不同菌体浓度对重金属的吸附能力

用不同的菌体浓度(0.25g/L ~ 2.0g/L)进行试验.图 1 结果表明,在 Pb^{2+} 起始浓度为 50 mg/L、pH5.0 条件下,随着菌体浓度的提高,菌体对 Pb^{2+} 的吸附率提高,而评价吸附效果的吸附量则有所降

低.这是由于增大菌体的投入量并不能无限制地增大菌体表面与金属离子的接触机会,而表面结合位的强弱不同,使菌体之间会对金属离子发生竞争吸附,从而导致单位质量的菌体的吸附量降低.菌体的结合位点不能充分利用.而单位质量菌体吸附 Pb^{2+} 的量在 0.5g/L ~ 1.5g/L 范围内几乎不变,可能是在一定的菌体与金属浓度比范围内,菌体表面的部分结合位点吸附和解吸作用达到某种平衡状态.

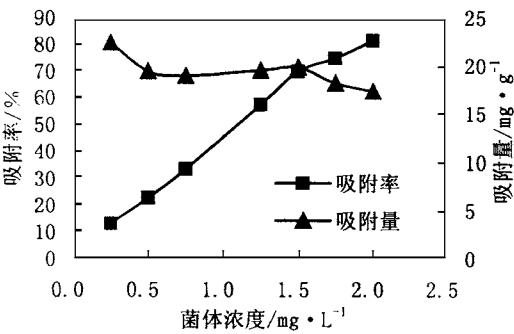


图 1 菌体浓度对菌体吸附 Pb^{2+} 的影响
(Pb^{2+} 浓度 50 mg/L, pH5.0)

Fig.1 Effect of biomass concentration on biosorption Pb^{2+}

2.3 菌体对重金属离子的吸附等温线

图 2 表明,在 pH 值 5 ± 0.05 时,细菌对 Pb^{2+} 的吸附等温线.将实验数据按 Langmuir 和 Freundlich 吸附等温方程进行回归分析,得到吸附参数及回归方程(见表 1).

由分析可知,在本研究的浓度范围内,细菌对金

表 1 Langmuir 与 Freundlich 吸附等温式的吸附参数及回归方程

Table 1 Langmuir and Freundlich adsorption coefficients and regression equations

Langmuir model				Freundlich model			
$Q_{\max}$	b	R^2	$Q_e = Q_{\max} c_e b / (1 + bc_e)$	n	K	R^2	$Q_e = K c_e^{(1/n)}$
36.7	0.129	0.962	$Q_e = 36.7 \times c_e \times 0.129 / (1 + 0.129 c_e)$	1.89	5.24	0.89	$Q_e = 5.24 \times c_e^{(1/1.89)}$

属离子 Pb^{2+} 的吸附更符合 Langmuir 单分子层吸附行为,即随着溶液中重金属离子平衡浓度的增加,菌体对金属离子的吸附量也增加,当平衡浓度大于某一值时,吸附达到平衡并逐渐趋于饱和状态,从而得到在试验条件下该菌体对 Pb^{2+} 的最大饱和吸附容量为 36.7 mg/g 干菌体.这种吸附现象与金属离子在细菌表面的化学反应机制密切相关.

2.4 pH 对金属离子吸附的影响

由图 3 可见,在本研究的 pH 值范围内($\text{pH} = 3.0 \sim 6.0$),单位质量菌体吸附重金属的量随着 pH 值的升高而升高,这可能是当 pH 值低时,溶液存在

大量的 H^+ 或 H_3O^+ ,而它们可能与重金属阳离子竞争生物吸附剂上的结合位,使菌体对重金属的吸附量随 pH 值的降低而减少.当 $\text{pH} > 6$ 时,吸附量几乎不再变化,菌体已达到其最大的吸附量.

2.5 菌体结合位点总浓度的测定

利用微量电位滴定法滴定菌悬液系统,通过格氏函数(G)对加入的滴定剂体积(V)作图,获得各个滴定体系的格氏图.利用线性回归,在滴定体积轴上的截距点即为滴定等当点 V_e (如图 4 所示),并由碱量反滴定的格氏图中 2 个等当点的对应数值估算得到菌体的结合位点总浓度(H_s),见表 2.在碱量反

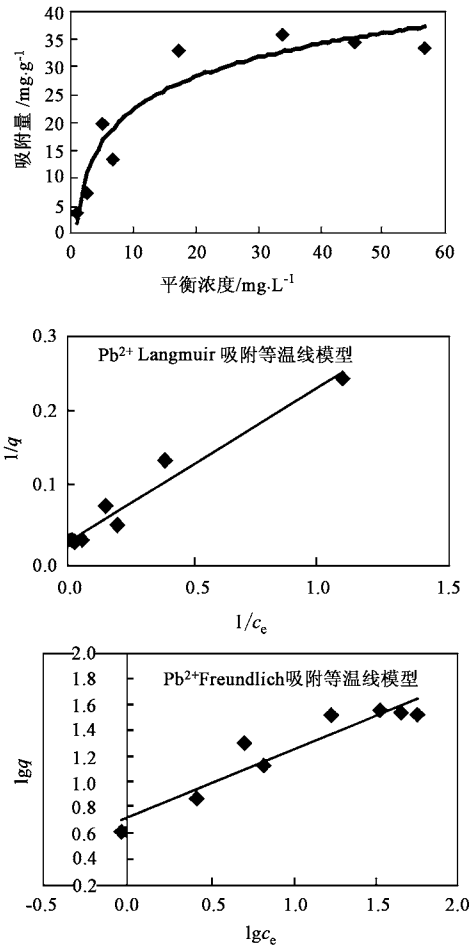


图 2 细菌对金属离子 Pb^{2+} 的吸附等温线
($pH\ 5.00 \pm 0.05$, 菌体浓度 $1\ g/L$)

Fig.2 The adsorption isotherms of the biomass for metal

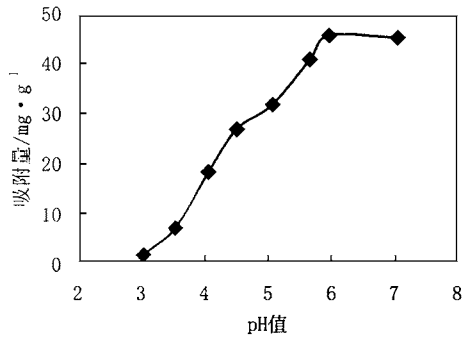


图 3 pH 值对细菌吸附 Pb^{2+} 的影响
(初始 Pb^{2+} 浓度 $50\ mg \cdot L^{-1}$, 菌体浓度 $1\ g \cdot L^{-1}$)

Fig.3 The pH dependence of metal ion adsorption onto the biomass

滴定过程加入的 OH^- 通常参加下述的反应:中和过量加入的 H^+ (对应于图 4 中 V_{e1} 之前的部分) 与菌体表面各种 OH^- 受体发生键合作用(对应图 4 中 V_{e1} 与 V_{e2} 之间的部分) 以及调节体系 pH 值(对应

与图 4 中 V_{e2} 之后的部分) .下述等式用于计算格氏函数和结合位点总浓度(H_S) .

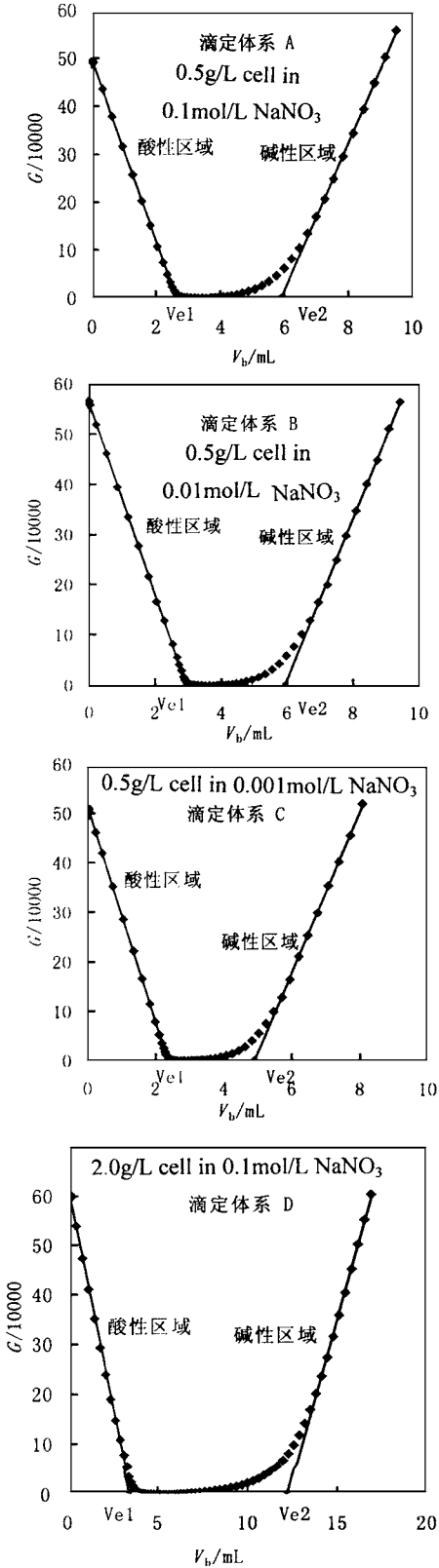


图 4 不同滴定体系的碱量反滴定格氏图

Fig.4 Gran plots for different titration system

酸性一侧：

$$G = (V_0 + V_{at} + V_b) \times 10^{E/59.175}$$

(1)

碱性一侧：

$$G = (V_0 + V_{at} + V_b) \times 10^{-E/59.175}$$

(2)

$$H_S = [(V_{e2} - V_{el})_{sample} \times c_b - (V_{e2} - V_{el})_{blank} \times c_b] / V_0 (\text{mol/L})$$

(3)

式中， V_0 是悬浮液的初始体积， V_b 表示标准 NaOH 的滴加体积， V_{at} 表示加入标准 HNO_3 的总体积， E 为玻璃电极电位， c_b 代表标准碱浓度^[7]， V_{el} 和 V_{e2} 分别表示碱量反滴定中酸性侧和碱性侧相应的等当点。

由表 2 可见，随着离子强度的降低，结合位点总浓度(H_S)也随之降低；而结合位点总浓度的增加并不是随着菌体浓度成比例增加。

表 2 不同菌悬液系统的等当点和结合位点总浓度

Table 2 Equivalence points and total surface site concentration for various system

滴定体系	等当点/ mL		$H_S \times 10^{-3}$ / $\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$
	V_{el}	V_{e2}	
0.1 mol/L NaNO_3 ，空白	2.15	2.18	0
0.1 mol/L NaNO_3 ，0.5g/L 菌体	2.63	5.90	3.52
0.1 mol/L NaNO_3 ，2.0g/L 菌体	3.41	12.18	2.38
0.01 mol/L NaNO_3 ，空白	2.05	2.12	0
0.01 mol/L NaNO_3 ，0.5g/L 菌体	2.94	5.93	3.18
0.001 mol/L NaNO_3 ，空白	1.70	1.81	0
0.001 mol/L NaNO_3 ，0.5g/L 菌体	2.36	4.90	2.66

3 结论

微生物菌体吸附重金属的效率取决于许多因素，其中包括生物吸附剂的表面物化特性，以及溶液的物理和化学条件。本研究结果表明，腊状芽孢杆菌吸附 Pb^{2+} 受溶液 pH 值、 Pb^{2+} 浓度、菌体浓度的影响，在 $\text{pH} = 5$ ，菌体对 Pb^{2+} 的饱和吸附容量为 36.7 mg/g 干菌体，整过吸附过程符合 Langmuir 吸附模型，回归系数为 0.96。而且离子强度会对菌体的结合位点总浓度造成影响，随着离子强度的降低，结合位点总浓度(H_S)也随之降低。

参考文献：

[1] 刘瑞霞,汤鸿霄,劳伟雄.重金属的生物吸附机理及吸附平衡模式研究[J].化学进展,2002,14(2):87~92.

[2] 刘月英,傅锦坤,李仁忠,等.细菌吸附 Pd^{2+} 的研究[J].微生物学报,2000,40(5):535~539.

[3] 刘月英,傅锦坤,陈平,等.巨大芽孢杆菌 D01 吸附金(Au^{3+})的研究[J].微生物学报,2000,40(4):425~429.

[4] 刘瑞霞,潘建华,汤鸿霄. Cu^{2+} 离子在 *Micrococcus luteus* 细菌上的吸附机理[J].环境化学,2002,21(1) 50~54.

[5] Volesky B, Holan Z R. Biosorption of Heavy Metals[J]. Biotechnol. Prog., 1995, 11(3):235~250.

[6] 魏复盛.水和废水监测分析方法[M].北京:中国环境科学出版社,1989.137~150.

[7] Wenxin Liu,Zhongxi Sun,et al. A comparative Study of Surface Acid—Base Characteristics of Natural Illites from Different Origins[J].J.Colloid Interface Sci., 1999,219:48~61.

[8] 黄淑惠.细菌固定金属的作用机制[J].微生物学通报,1992,19(3):171~173.