

重金属抗性菌 *Bacillus cereus* HQ-1 对银离子的生物吸附-微沉淀成晶作用

曾景海, 齐鸿雁*, 杨建州, 呼庆, 张洪勋, 庄国强

(中国科学院生态环境研究中心环境生物技术研究室, 北京 100085)

摘要:发现 1 株对银离子有强吸附能力的蜡状芽孢杆菌 HQ-1, 研究了其对银离子的吸附特性及吸附机理. 结果表明, 菌体对银的吸附量可达 91.75 mg/g, 吸附过程符合 Pseudo-second Order 吸附动力学模型, 相关系数高达 0.999 9; 吸附热力学很好地符合 Freundlich 吸附等温模型, 相关系数为 0.99; 考察菌体浓度和温度对吸附的影响发现, 菌体浓度增加有利于对银离子的吸附, 温度对吸附影响较小; FTIR、SEM 及 EDAX 实验结果表明吸附存在 2 种吸附机理, 一为菌体表面一些含氮氧的基团对 Ag^+ 的络合作用, 二为菌体分泌的胞外多糖等物质对 Ag^+ 的微沉淀成晶作用.

关键词:蜡状芽孢杆菌 HQ-1; 银; 生物吸附; 吸附机理; 微沉淀成晶作用

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)01-0225-06

Biosorption of Ag^+ by Heavy Metals Hyperresistant *Bacillus cereus* Strain HQ-1

ZENG Jing-hai, QI Hong-yan, YANG Jian-zhou, HU Qing, ZHANG Hong-xun, ZHUANG Guo-qiang

(Department of Environmental Biotechnology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: A newly isolated *Bacillus cereus* strain HQ-1 was found to possess high capability to absorb silver ions. The study showed that the biosorption process could be described well by pseudo-second-order kinetic model and Freundlich isotherm model. Higher cell concentration was favorable to the biosorption. Temperature's effect on the biosorption was not obvious. The oxygenous and nitrogenous functional groups on the cell wall played a very important role in the process of biosorption. Microdeposits were formed by interaction between silver ions and biopolymers from the cell wall (such as polysaccharides, proteins and some hydrolysis).

Key words: *Bacillus cereus* strain HQ-1; silver; biosorption; biosorption mechanism; microdeposits

工业发展产生了越来越多的重金属废水, 其中一些废水中含有大量贵金属离子. 对这些贵金属离子进行处理回收无论从环保角度还是经济角度都有重要的意义. 人们在研究中发现一些微生物对重金属离子有较强的吸附能力^[1], 近年来, 利用微生物吸附金属的特性来回收贵金属已经被认为是一个非常具有潜力的技术, 它相比传统技术具有成本低、能耗少、二次污染小等优点^[2~6].

银是一种公认的贵金属, 前人在利用微生物吸附回收银方面做了不少研究工作. 比如 Pethkar 等^[7]将 1 株化学自养菌 *Thiobacillus thioparus* 和 1 株真菌 *Cladosporium cladosporioides* 用于银离子回收, 回收率可以达到 70%. Zhongyu 等^[8]则用 *Lactobacillus* sp. 菌株进行银离子的吸附, 他们发现该菌株能将银离子还原为银单质, 吸附 3 d 以后还原率可以达到 54.3%. 本研究从铅锌尾矿中分离获得 1 株对铅、镉等重金属具有高抗性能的蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus* HQ-1), 经分析发现, 该菌株对银离子有很强的吸附富集作用, 并且该现象在国内外尚未见报道.

本研究以该菌株作为银离子的生物吸附剂, 对吸附平衡、吸附动力学特性、吸附等温线以及一些吸附的影响因素(吸附剂浓度和温度)进行了探讨, 最后对吸附机理进行了讨论, 这在有效利用微生物资源以及废水中 Ag^+ 回收方面都具有重要的意义.

1 材料与方法

1.1 生物吸附菌体制备

将从铅锌尾矿中分离纯化得到的 *Bacillus cereus* HQ-1 接入 LB 培养基中, 于摇床中在 150 r/min, 30℃ 条件下培养 24 h, 然后在 8 000 r/min 条件下离心 5 min, 去除上清液后加入去离子水与菌体混合振荡清洗, 再次离心, 重复 3 遍, 即可得到作为生物吸附剂的湿菌体以备用.

1.2 生物吸附特性研究

收稿日期: 2007-02-08; 修订日期: 2007-04-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(20477051)

作者简介: 曾景海(1981~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境生物技术, E-mail: zengjh04@mails.gucas.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: qihy@rcees.ac.cn

1.2.1 动力学实验

将菌体投加到 AgNO_3 溶液中,使得菌体浓度(以干菌体计)为 2 g/L , Ag^+ 浓度为 203.5 mg/L ,混合液 pH 调节为 $4.0^{[1]}$,吸附温度保持在 30°C , 150 r/min 条件下振荡.在不同的时间间隔测定混合溶液中 Ag^+ 浓度,直到达到吸附平衡.用 Pseudo-first Order 模型和 Pseudo-second Order 模型对实验数据进行评价.

1.2.2 吸附等温线

在 30°C 条件下,将菌体吸附剂投加到不同浓度 Ag^+ 溶液中,在 150 r/min 条件下振荡,待吸附平衡后测定溶液中残留 Ag^+ 浓度.用 Langmuir 和 Freundlich 方程对数据进行分析,得出吸附参数及回归方程.其中吸附剂的吸附容量用下式计算.

$$q = V(c_0 - c_e)/M \tag{1}$$

式中, q 为吸附容量(mg/g), V 为溶液体积(L), c_0 为 Ag^+ 初始浓度(mg/L), c_e 为 Ag^+ 平衡浓度(mg/L), M 为投加吸附剂质量(g).

1.3 吸附剂浓度及温度对吸附的影响

在 Ag^+ 浓度为 200 mg/L , pH 为 4.0 的条件下考察吸附剂浓度对吸附的影响,吸附剂浓度范围为 $0.5\sim5\text{ g/L}$.在 Ag^+ 浓度为 200 mg/L ,吸附剂浓度为 2 g/L , pH 为 4.0 的条件下考察温度对吸附的影响,温度的变化范围为 $4\sim50^\circ\text{C}$.

1.4 红外光谱分析

将空白菌体和吸附银离子 24 h 后的菌体分别烘干,与预先烘干的 KBr 粉末混匀,在玛瑙研钵中充分研磨,压片制样后测定红外光谱图.通过对比红外光谱图,可以考察菌体细胞表面在吸附过程中起关键作用的功能基团.

1.5 SEM 及 EDAX 分析

用 SEM(scanning electron microscopy)方法考察吸附前后菌体的微观特征的变化,利用 EDAX(energy dispersive X-ray analysis)进行元素分析,验证吸附效果.

1.6 分析方法

采用 HACH 公司的 DR2400 水质分析系统进行 Ag^+ 浓度测定.具体方法为将取出的混合液在 $8\,000\text{ r/min}$ 下离心 3 min ,测定上清液中的 Ag^+ 浓度即为溶液中吸附后残留的 Ag^+ 浓度.

2 结果与讨论

2.1 菌体对 Ag^+ 的吸附特性

2.1.1 吸附平衡和动力学研究

菌体吸附容量 q 和溶液中剩余 Ag^+ 浓度 c_e 随

时间的变化关系如图 1 所示.由图 1 可以看出,在吸附大概 $10\text{ h}(600\text{ min})$ 以后, q 和 c_e 基本达到稳定不变,可以认为吸附已经达到平衡,此时菌体的吸附容量高达 91.75 mg/g .从图 1 中还可以看出,绝大部分的吸附容量($>90\%$)在前 90 min 完成.在接下来的研究中,吸附时间定为 24 h ,这样可以保证充分时间使吸附过程达到平衡.

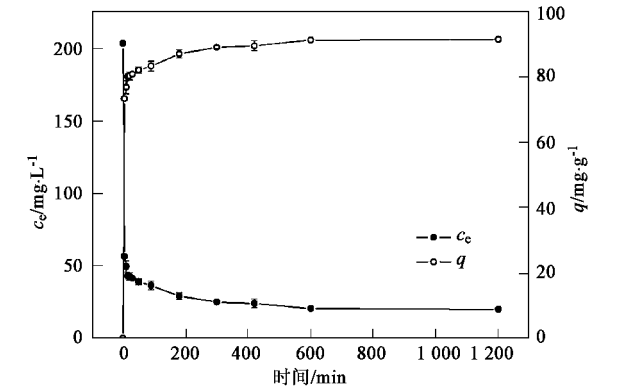


图 1 q 和 c_e 随时间变化关系

Fig.1 Variation of q and c_e with time

吸附动力学模型是表征吸附过程一个重要手段,其在吸附剂的的实际应用中可以用来预测不同吸附时间下可以达到的吸附效率,其中使用最多的 2 个吸附动力学模型是 Pseudo-first Order 模型和 Pseudo-second Order 模型.

Pseudo-first Order 模型方程如下^[9]:

$$\ln\left(1 - \frac{q}{q_e}\right) = -k_1 t \tag{2}$$

式中, q_e 表示吸附达到平衡后的吸附容量(mg/g),在这里根据前面所得结果取为 91.75 mg/g .将实验数据得到的 $\ln\left(1 - \frac{q}{q_e}\right)$ 和时间 t 做线性拟合,得到结果如图 2,可以得出 $k_1 = 0.0067\text{ min}^{-1}$, 相关系数

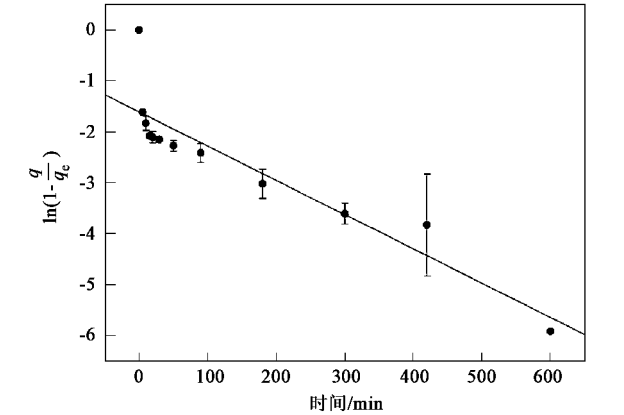


图 2 Pseudo-first Order 模型线性拟合

Fig.2 A plot according to the pseudo-first order adsorption kinetics

$R^2 = 0.842$.

Pseudo-second Order 模型是由 Ho 等提出来的^[10,11], 其方程如下:

$$\frac{t}{q} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \tag{3}$$

将实验数据所得到的 $\frac{t}{q}$ 和时间 t 做线性拟合, 如图 3, 可以得到 $q_e = 91.74 \text{ mg/g}$, $k_2 = 0.0021 \text{ g} \cdot (\text{mg} \cdot \text{min})^{-1}$, 相关系数 $R^2 = 0.9999$.

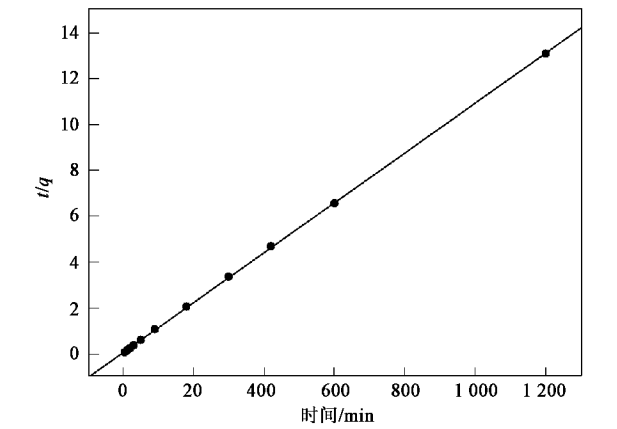


图3 Pseudo-second Order 模型线性拟合

Fig.3 A plot of t/q vs. time according to the pseudo-second order adsorption kinetics

由以上 2 个模型的分析可以看出, Pseudo-second Order 模型推理得到的理论吸附容量(91.74 mg/g)与实验得到的吸附容量(91.75 mg/g)非常接近, 并且该模型的相关系数高达 0.9999, 远高于 Pseudo-first Order 的相关系数. 因此可以得出, 该吸附过程可以由 Pseudo-second Order 模型更好地描述和预测.

2.1.2 吸附等温线

Langmuir 和 Freundlich 吸附等温线方程:

$$q_e = \frac{q_{\max} c_e}{(K + c_e)} \tag{4}$$

$$q_e = Kc_e^{1/n} \tag{5}$$

将实验所得数据按 Langmuir 和 Freundlich 吸附等温线方程进行回归分析, 如图 4、5 所示, 分析所得方程的参数和相关系数见表 1.

表 1 吸附等温方程参数及其相关系数

Langmuir 模型			Freundlich 模型		
$q_{\max}/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$K/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	R^2	K	n	R^2
44.1	3.8	0.95	7.39	2.03	0.99

由以上结果可以看出, Langmuir 和 Freundlich 吸

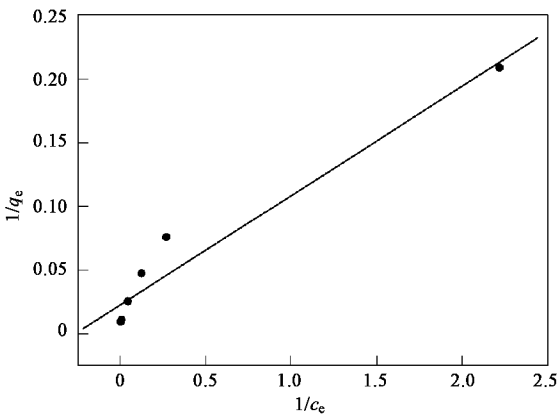


图 4 Langmuir 吸附等温线模型

Fig.4 Langmuir adsorption isotherm of Ag^+ on the *Bacillus cereus* HQ-1 cells

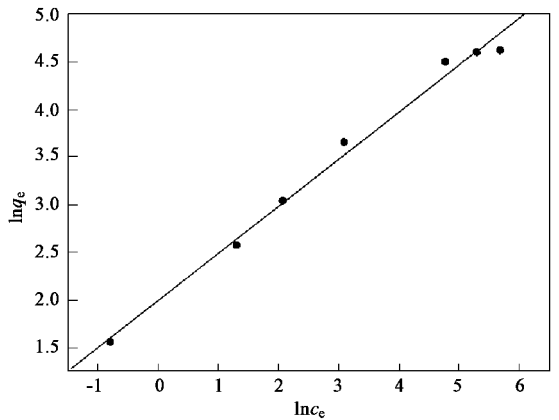


图 5 Freundlich 吸附等温线模型

Fig.5 Freundlich adsorption isotherm of Ag^+ on the *Bacillus cereus* HQ-1 cells

附等温方程的相关系数都达到了 0.95 以上, 都能在一定程度上描述 *Bacillus cereus* HQ-1 对 Ag^+ 的吸附. 相比较而言 Freundlich 方程拟合效果更好. Freundlich 为经验公式, 通常用于描述吸附热随覆盖率(即吸附量)的增加, 呈对数下降的吸附平衡. 该公式表明, 随着 c_e 的增大, 吸附量 q_e 随之增加, 但 c_e 增加到一定程度后吸附量不再变化^[12].

2.2 吸附剂浓度及温度对吸附的影响

吸附剂浓度对吸附的影响结果如图 6 所示, 随着吸附剂浓度的提高, Ag^+ 去除率随着提高, 但是吸附剂的吸附量却逐渐下降, 这说明增加吸附剂的投加量虽然从整体上来讲可以去除更多的 Ag^+ , 但是单位质量吸附剂的使用效率却是降低了. 这也说明, 增大吸附剂的投加量并不能无限制地增大吸附剂表面与金属离子的接触机会, 并且吸附剂之间形成了对金属离子的竞争吸附, 从而导致单位质量吸附剂

的吸附量降低^[13,14].在实际使用中,可以根据金属离子的浓度和需要达到的去除率来确定所需投加吸附剂的量.

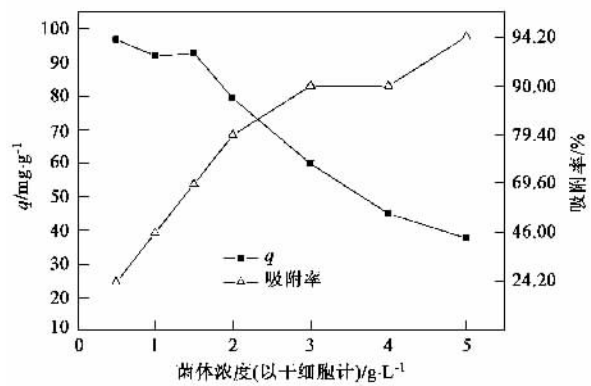


图6 菌体吸附剂浓度对吸附的影响

Fig.6 Effect of *Bacillus cereus* HQ-1 cells concentration on biosorption

在4~50℃的温度范围内考察温度对吸附的影响,结果如图7所示,在4、20、30、40和50℃下,吸附剂对 Ag^+ 的平衡吸附量分别为74.8、81.6、90.5、95.8和99.6 mg/g.可以看出随着温度的升高吸附量有所升高,但是幅度并不大.这个结果说明温度对吸附的影响较小,即 *Bacillus cereus* HQ-1 菌体对 Ag^+ 吸附所需的活化能较低,在常温下即可取得比较好的吸附效果.同时也说明吸附可能存在多种体制,比如一些化学吸附作用,使得吸附量随温度升高而升高^[15].

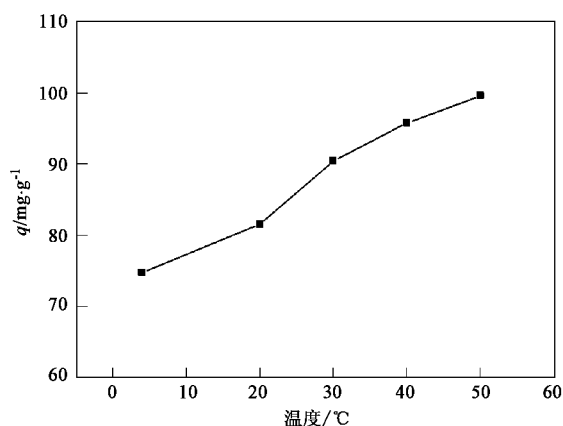


图7 温度对吸附的影响

Fig.7 Effect of temperature on biosorption

2.3 吸附机理探讨

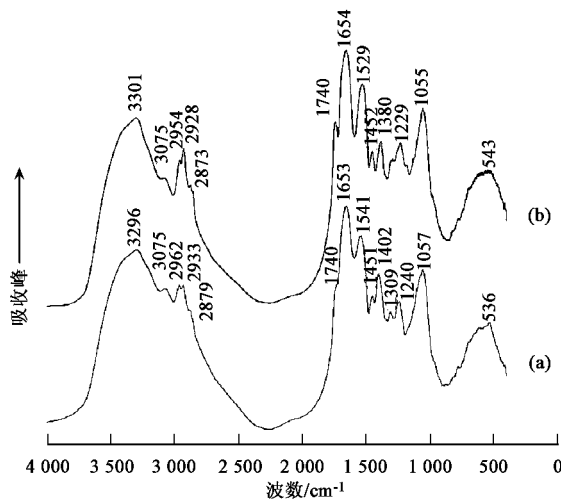
2.3.1 *Bacillus cereus* HQ-1 细胞表面功能基团吸附原理

空白菌体和吸附 Ag^+ 24 h 后菌体的红外光谱图如图8所示.在菌体吸附 Ag^+ 24 h 后,缔合一OH 和

—NH 的特征吸收峰在 Ag^+ 作用下从3 296 cm^{-1} 偏移到3 301 cm^{-1} ^[16-18]; 1 057 cm^{-1} 和1 309 cm^{-1} 代表了一 $\text{C}(\text{H})_2\text{—O—H}$ 基团 $\nu\text{C—O} + \delta\text{O—H}$ 耦合振动,吸附银后1 057 cm^{-1} 处特征峰偏移到1 055 cm^{-1} , 而1 309 cm^{-1} 处特征峰则几乎消失; 1 402 cm^{-1} 和1 240 cm^{-1} 处特征峰为一COOH 基团中的 $\nu\text{C—O}$ 振动及 $\delta\text{O—H}$ 振动,银吸附后2个特征峰分别偏移到了1 380 cm^{-1} 和1 229 cm^{-1} , 该现象由于金属离子和羧基的络合作用而引起,在相关文献中有过类似报道^[3,19,20].

1 653 cm^{-1} 处特征峰为主要由酰胺 C—O 伸缩振动引起,称为第 I 谱带.1 541 cm^{-1} 吸收峰则为第 II 谱带,代表了 NH 和 C=N 的共轭振动,吸附银离子后,该特征峰漂移到1 529 cm^{-1} 并变得更加尖锐,该变化由吸附过程中 Ag^+ 与氨基的相互作用而引起^[21-23].

由以上分析可以看出,在吸附过程中菌体细胞表面含氧含氮基团起了重要的作用.它们以络合或者螯合的方式将 Ag^+ 吸附在细胞表面.



(a)空白菌体; (b)吸附银离子 24 h 后

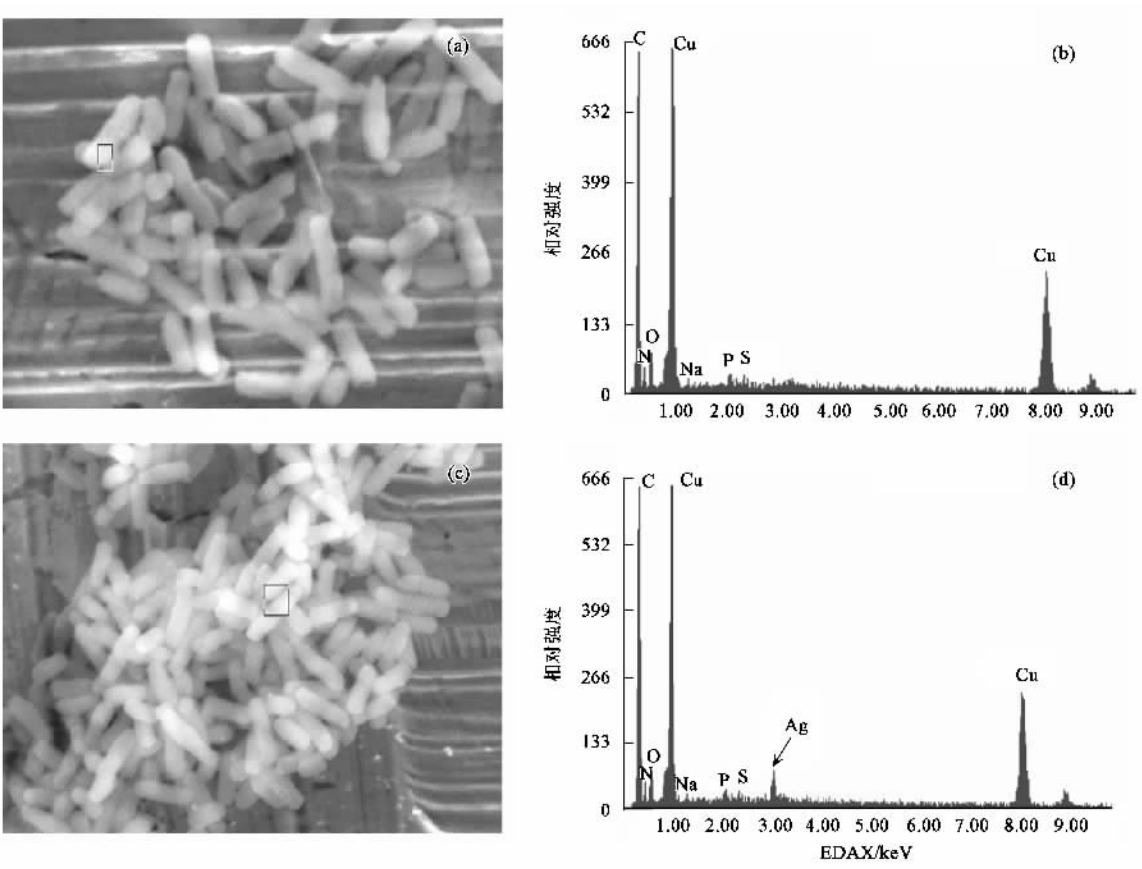
图8 菌体红外谱图

Fig.8 FTIR spectra of blank *Bacillus cereus* HQ-1 biomass

将空白菌体和吸附 Ag^+ 24 h 后的菌体进行 SEM 观察,同时用 EDAX 对细胞表面进行元素组成分析,见图9.从中可以看出,吸附前后菌体的形态并没有发生明显改变,没有发生菌体破裂等现象,吸附 Ag^+ 后菌体细胞表面的 EDAX 谱图中出现非常明显的 Ag 元素峰.该结果证明了 Ag^+ 在菌体细胞表面的存在,验证了菌体表面对 Ag^+ 的吸附作用.

2.3.2 微沉淀成晶原理

在观测吸附 Ag^+ 后菌体的同时发现了晶体状物质的存在,见图10.用 EDAX 对晶体的组成元素进行



(a) 空白菌体的 SEM 照片(图中方框表示 EDAX 分析区域);(b) 空白菌体的 EDAX 谱图;(c) 吸附 Ag^+ 24 h 后菌体的 SEM 照片(图中方框表示 EDAX 分析区域);(d) 吸附 Ag^+ 24 h 后菌体的 EDAX 谱图

图 9 菌体的 SEM 照片及 EDAX 谱图

Fig.9 Typical SEM micrograph and EDAX spectra of the biomass



(b)为(a)的局部放大图

图 10 吸附后菌体周围的晶体状物质

Fig.10 Micrograph of crystal from the silver ions loaded biomass

分析,如图 11 所示,可知该晶体主要由 Ag、C、O 3 种元素组成(由于样品置于铜胶带上检测,Cu 元素为铜片本底值).可以推断银离子和菌体产生的一些胞外物质(包括胞外多聚糖、蛋白及其它一些水解产物)发生相互作用生成晶体状微沉淀从而实现金属

离子的矿化,这也印证了 Holan 等^[24, 25]的研究结果.可见微沉淀是 *Bacillus cereus* HQ-1 对银离子吸附富集的重要原理之一. *Bacillus cereus* HQ-1 是否是在 Ag^+ 的胁迫下分泌特定胞外物质而使 Ag^+ 发生微沉淀还需进一步研究、探讨和验证.

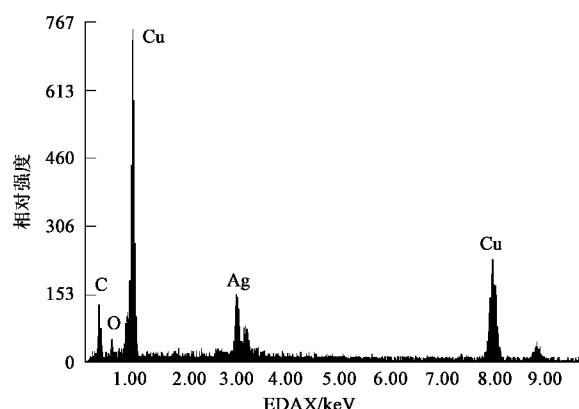


图 11 晶体状物质的 EDAX 谱图

Fig.11 EDAX spectra of the crystal

3 结论

(1)以蜡状芽孢杆菌作为生物吸附剂用于 Ag^+ 的吸附还未见报道,本研究表明 *Bacillus cereus* HQ-1 菌株对 Ag^+ 有较强的吸附-微沉淀成晶能力,有良好的应用前景.

(2)Pseudo-second Order 吸附动力学模型及 Freundlich 吸附等温模型都能很好地描述 *Bacillus cereus* HQ-1 菌株对 Ag^+ 的吸附过程.

(3)温度对吸附的影响较小,即吸附所需活化能较低,具有常温下取得较好吸附效果的优点.

(4)提高菌体吸附剂浓度可以增加 Ag^+ 的去除率,但同时单位吸附剂对 Ag^+ 的吸附量却减少,实际应用中可以根据 Ag^+ 浓度和所需达到的去除率来确定投加量.

(5)*Bacillus cereus* HQ-1 菌株对 Ag^+ 的吸附存在 2 种机理,第 1 种机理为细胞表面功能基团对 Ag^+ 的络合吸附作用;第 2 种为菌体分泌的胞外物质和 Ag^+ 相互作用而生成晶体状沉淀的微沉淀机理.这 2 种作用机理对进一步研究菌体对 Ag^+ 的吸附富集作用有重大意义.

参考文献:

[1] Tsezos M, Remoudaki E, Angelatou V. Systematic Study on Equilibrium and Kinetics of Biosorptive Accumulation. The Case of Ag and Ni[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 1995, **11**: 129-153.

[2] 王亚雄,郭瑾珑,刘瑞霞.微生物吸附剂对重金属的吸附特性[J].环境科学,2001,**22**(6): 72-75.

[3] 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.

[4] 尹华,叶锦韶,彭辉,等.酵母菌-活性污泥法吸附处理含铬电镀废水的性能[J].环境科学,2004,**25**(3): 61-64.

[5] 陈灿,王建龙.酿酒酵母吸附 $\text{Zn}(\text{II})$ 过程中阳离子(K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Ca^{2+})的变化分析[J].环境科学,2006,**27**(11): 2261-2267.

[6] 王琰,张利,俞耀庭.非活性菌丝体对水中铅离子的吸附[J].环境科学,1998,**19**(3): 62-65.

[7] Pethkar A V, Paknikar K M. Thiosulfate biodegradation-silver biosorption process for the treatment of photofilm processing wastewater[J]. Process Biochemistry, 2003, **38**: 855-860.

[8] Lin Z Y, Zhou C H, Wu J M, et al. A further insight into the mechanism of Ag^+ biosorption by *Lactobacillus* sp. Strain A09[J]. Spectrochimica Part A, 2005, **61**: 1195-1200.

[9] Kargi F, Cikla S. Biosorption of zinc (II) ions onto powdered waste sludge (PWS): Kinetics and isotherms[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2005, **38**: 705-710.

[10] Ho Y S, McKay G. Kinetic models for the sorption of dye from aqueous solution by wood[J]. Trans Ins Chem Eng, 1998, **76B**: 183-191.

[11] Ho Y S, McKay G. Batch lead (II) removal from aqueous solution by peat: Equilibrium and kinetics[J]. Trans Ins Chem Eng, 1999, **77B**: 165-173.

[12] 李强,陈明,崔富昌,等.生物吸附剂 ZL5-2 对 $\text{Cr}(\text{VI})$ 的吸附机理[J].环境科学,2006,**27**(2): 343-346.

[13] 潘建华,刘瑞霞.蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 吸附铅的研究[J].环境科学,2004,**25**(2): 166-169.

[14] 董德明,李鱼,花修艺,等.湿地水环境中采集的生物膜吸附铅和镉的特性[J].环境科学,2003,**24**(1): 131-134.

[15] 刘兴民,刘瑞霞,汤鸿霄,等.不同染料化合物在河流底泥上的吸附规律[J].环境科学,2002,**23**(1): 45-49.

[16] Gabriela H P, Luciana M S M, Mauricio L T, et al. Biosorption of cadmium by green coconut shell powder[J]. Minerals Engineering, 2006, **19**: 380-387.

[17] 颜昌富,曾阿妍,金相灿,等.沉水植物轮叶黑藻和穗花狐尾藻对 Cu^{2+} 的等温吸附特征[J].环境科学,2006,**27**(6): 1068-1072.

[18] 赵玲,尹平河,Qiming Yu,等.海洋赤潮生物原甲藻对重金属的富集机理[J].环境科学,2001,**22**(4): 42-45.

[19] 周东琴,魏德洲.草分枝杆菌及其吸附 Pb^{2+} 后的可浮性研究[J].环境科学,2006,**27**(2): 338-342.

[20] 周东琴,魏德洲.沟戈登氏菌对重金属的生物吸附-浮选和解吸性能[J].环境科学,2006,**27**(5): 960-964.

[21] Sibel T, Tamer A, Safa O A, et al. Equilibrium and kinetics of the biosorption of lead (II) from aqueous solutions by *Cephalosporium aphidicola*[J]. Separation and Purification Technology, 2006, **47**: 105-112.

[22] Kapoor A, Viraraghavan T. Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*[J]. Bioresource Technology, 1997, **61**: 221-227.

[23] Qi L F, Xu Z R. Lead sorption from aqueous solutions on chitosan nanoparticles[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects, 2004, **251**: 183-190.

[24] Holan Z R, Volesky B, Prasetyo I. Biosorption of cadmium by biomass of marine algae[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1993, **41**: 819-825.

[25] Tsezos M, Bolesky B. The mechanism of uranium biosorption by *Rhizopus arrhizus* [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1982, **24**: 385-401.