

# 预处理方式对微紫青霉菌吸附 $\text{Cu}^{2+}$ 的影响及其吸附机理

黄晓婷<sup>1,2,3</sup>, 孙长斌<sup>1,2,3</sup>, 陈小玲<sup>1,2,3</sup>, 秦会娟<sup>1,2,3</sup>, 胡美<sup>1</sup>, 袁媛<sup>1</sup>, 李有志<sup>1,2,3</sup>

1 广西大学生命科学与技术学院, 南宁 530005

2 微生物及植物遗传工程教育部重点实验室, 南宁 530005

3 广西亚热带生物资源保护利用重点实验室, 南宁 530005

**摘要:** 为有效提高青霉菌(*Penicillium*)对含  $\text{Cu}^{2+}$  的水溶液中的  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附能力并了解其吸附机制, 研究了 8 种不同预处理方式对微紫青霉菌(*Penicillium janthinellum*)菌株 GXCR 的  $\text{Cu}^{2+}$  吸附的影响。结果表明, 匀浆化、匀浆+碱化(NaOH) (简称匀浆碱化)、高温(80°C)、匀浆+盐化(NaCl)、匀浆+洗涤剂和匀浆+极化(二甲基亚砷)可显著提高菌体的吸附率, 但是匀浆化+酸化处理会导致菌体的  $\text{Cu}^{2+}$  吸附能力显著下降。与早期其他研究相比, 本研究发现匀浆化碱化(NaOH)相结合的方式能够显著提高菌体的吸附能力。其中匀浆碱化(NaOH, 0.5 mol/L)处理后菌体的  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附率增加了 47.95%; 匀浆碱化菌体吸附符合典型的 Langmuir 方程, 表明该菌对吸附  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附可能是以表面吸附为主。吸附-解吸循环 4 次后, 碱化菌体的  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附率仍可达到 70.82%。红外光谱分析表明碱化处理主要影响菌体表面分子的 -OH、C=O 和 COOH 基团中的 C=O, 其中与  $\text{Cu}^{2+}$  结合的主要基团是 -OH。GXCR 的对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附可能是主要基于  $\text{Cu}^{2+}$  与菌体 -OH 基团结合的化学吸附为主。

**关键词:** 真菌, 预处理,  $\text{Cu}^{2+}$ , 生物吸附, 解析, 吸附机理

## Effects of pre-treatment on $\text{Cu}^{2+}$ absorption of *Penicillium janthinellum* strain GXCR

Xiaoting Huang<sup>1,2,3</sup>, Changbin Sun<sup>1,2,3</sup>, Xiaoling Chen<sup>1,2,3</sup>, Huijuan Qin<sup>1,2,3</sup>, Mei Hu<sup>1</sup>, Yuan Yuan<sup>1</sup>, and Youzhi Li<sup>1,2,3</sup>

1 College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China

2 Key Laboratory of Ministry of Education for Microbial and Plant Genetic Engineering, Nanning 530005, China

3 Guangxi Key Laboratory of Subtropical Bioresource Conservation and Utilization at Guangxi University, Nanning 530005, China

**Abstract:** In order to effectively increase capacity of  $\text{Cu}^{2+}$  absorption by *Penicillium* from  $\text{Cu}^{2+}$ -containing aqueous solution and to study the mechanisms of absorption, effects of eight pre-treatment methods on  $\text{Cu}^{2+}$  absorption of *Penicillium janthinellum* strain GXCR were compared. The results showed that the efficiency of  $\text{Cu}^{2+}$  absorption obviously increased through pre-treatment by homogenization, homogenization-basification (NaOH), oven dry (80°C), homogenization-salinification (NaCl), homogenization-detergent and homogenization-polarization ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{SO}$ ), but significantly decreased after acidification pretreatment with  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . In

**Received:** May 16, 2008; **Accepted:** October 21, 2008

**Supported by:** the Development Program for Guangxi Science and Technology (Nos. 0895003-8 and 0443001-20), Director's Fund of Guangxi Key Laboratory of Subtropical Bioresource Conservation and Utilization (No. 07-04) and Science Fund of Key Laboratory of Ministry of Education for Microbial and Plant Genetic Engineering (No. J0701).

**Corresponding author:** Youzhi Li. Tel/Fax: +86-771-3270130; E-mail: dyzl@gxu.edu.cn

广西科技攻关项目(Nos. 0895003-8 和 0443001-20), 广西亚热带生物资源保护利用重点实验室主任基金(No. 07-04) 和微生物与植物遗传工程教育部重点实验室开放基金(No. J0701)资助。

comparison with the previous reports, the pretreatment in a homogenization-NaOH way could more efficiently enhance the Cu<sup>2+</sup> absorption capacity of this fungus. Homogenization-basification (0.5 mol/L NaOH) increased Cu<sup>2+</sup> biosorption by 47.95%. The Cu<sup>2+</sup> absorption of the mycelia treated by homogenization-basification followed Langmuir isotherm equation, suggesting a surface absorption process. After four cycles of absorption-desorption, mycelia pretreated by homogenization-alkalization still had 70.82% of Cu<sup>2+</sup> biosorption efficiency. Infrared reflectance analysis indicated that alkalization treatment made marked effects on molecular groups of C-H, C=O, and C=O in COOH on the mycelial surfaces, and -OH was a key Cu<sup>2+</sup>-binding group. It is therefore suggested that the Cu<sup>2+</sup> absorption by the GXCR is likely to be a chemical absorption process through Cu<sup>2+</sup> binding with -OH group on the mycelia.

**Keywords:** fungi, pre-treatment, Cu<sup>2+</sup>, absorption, desorption, mechanisms of adsorption

随着重金属矿产的开采、重金属加工业的发展,含重金属的工业废水排放量不断增大。工业废水中的重金属对环境的污染日益严重<sup>[1,2]</sup>。此外,随着水资源匮乏日渐突出,含重金属的工业废水的循环利用愈来愈受关注。因此,工业废水中的重金属的去除对于环境保护和节约水资源具有重要意义。目前,去除工业废水中的重金属的方法有化学、物理、物理-化学和生物方法。物理或化学法去除工业废水中的重金属十分有效,但是成本高、能耗大、易造成二次污染。生物法主要是利用了植物和微生物材料对重金属盐离子的吸附、积累作用,其特点主要是二次污染风险小、成本低廉<sup>[3,4]</sup>。按照所使用的微生物类群,微生物的重金属去除主要分为细菌和真菌两大类,相对于细菌法,真菌法因生物量大、吸附后的金属易于回收等优点十分突出而备受关注<sup>[5,6]</sup>。在去除重金属方面,如何提高真菌菌体的吸附能力是国际上的主要研究内容之一。虽然已有研究表明,化学、物理或物理-化学预处理能有效增强菌体的重金属吸附能力并能克服活菌体受营养等因素的限制<sup>[7-9]</sup>,但是目前还没有系统地对其进行比较。

本实验室曾报道了一株高抗多种重金属盐的微紫青霉菌(*Penicillium janthinellum*)菌株 GXCR,该菌株对水溶液中的 Cu<sup>2+</sup>具有良好的吸附效果<sup>[10]</sup>。本研究系统地比较了不同处理方法对该菌的 Cu<sup>2+</sup>吸附能力的影响,主要目的是寻求进一步提高该菌株 Cu<sup>2+</sup>吸附能力的最佳方法、确定预处理后菌体的吸附影响因素及探讨预处理后菌体的吸附机理。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株、培养基和培养条件

本研究菌株为微紫青霉菌(*P. janthinellum*)菌株 GXCR<sup>[10]</sup>。培养基为马铃薯葡萄糖琼脂固体培养基

(PDA)<sup>[10]</sup>。液体培养基成分为:葡萄糖, 20 g; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 1.5 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.5 g; CaCl<sub>2</sub>, 0.1 g; 微量元素混合液, 1 mL; 蒸馏水, 1 L。菌体的制备:将 10 μL 的孢子液(10<sup>8</sup> 分生孢子/mL)接种于 200 mL 的液体培养基,在 30°C、200 r/min 摇床培养。

### 1.2 菌体预处理

菌体培养 6 d 后用筛绢 (200 目)过滤收集,新鲜菌体作为未处理的对照。其他菌体按照以下方法进行吸附前的预处理:1) 烘干研磨:将菌丝体于 80°C 下烘烤 8 h 后研磨成 80 目大小的菌粉。2) 匀浆处理:将 4 g 新鲜菌体加入 50 mL 水后,17 500 r/min 匀浆 20 s (T25 basic, 德国 IKA 公司),用 200 目的筛绢过滤收集并滤去水分。3) 匀浆+化学处理:按照同样方法将 4 g 新鲜菌体加入 50 mL 的预处理液中匀浆后静置 1 h。预处理液分别为:用去离子水配制的 NaOH、NaHCO<sub>3</sub>、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、NaCl、雕牌洗衣粉 (天然皂粉,纳爱丝集团)和二甲基亚砷(C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>)(上海生物工程有限公司)溶液,预处理后,用蒸馏水将菌体洗至洗脱液 pH 达到 7,用 200 目的筛绢过滤收集并滤干水分后备用。4) 匀浆+NaOH+热处理:将 4 g 新鲜菌体加入 50 mL NaOH (10 mol/L)匀浆后加热 1 h,用蒸馏水将菌体水洗至洗脱液 pH 达到 7、用 200 目的筛绢过滤收集并滤干水分,冰箱保存备用。

预处理后的菌丝体重量损失率计算公式为:(预处理前的干重-预处理后的干重) / 预处理前的干重 × 100%。

### 1.3 Cu<sup>2+</sup>离子吸附

将 100 mL 的一定浓度的 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 溶液置于 250 mL 的三角瓶中,置入一定量的预处理菌体,在 32°C、200 r/min 摇床吸附一定时间后,3500 r/min 离心 5 min,按照标准的原子吸收法用装备有石墨雾

化器的 TAS-990 仪测定上清液中重金属的含量。离心沉淀的菌体烘干称重。对照为在去离子水中平行处理的菌体。每处理独立重复 3 次, 每种测试参数以 3 次重复值的均值表示。

金属离子吸附量 (mg/g)=吸附体液体积(L)×(溶液中的重金属离子的初始浓度-吸附后溶液中的重金属离子浓度)/菌体干重(g)。

金属离子吸附率 (%)=[(溶液中的重金属离子的初始浓度-吸附后溶液中的重金属离子浓度)/溶液中的重金属离子的初始浓度]×100%, 其中重金属离子浓度单位为 mg/L。

$\text{Cu}^{2+}$  吸附的实际增加率=(预处理后的菌体的干重×处理后的吸附量-对照菌体干重×对照菌体的吸附量)/对照菌体吸附量×对照菌体的干重×100%。

#### 1.4 $\text{Cu}^{2+}$ 离子的吸附-解吸附

将 0.2 g 匀浆+碱化处理菌体置入 100 mL 的含一定浓度  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  溶液, 32°C、200 r/min 摇床吸附 20 min, 3500 r/min、离心 5 min 后, 采用原子吸收法测定上清液中的  $\text{Cu}^{2+}$  含量; 离心产生的沉淀菌块用去离子水漂洗 5 次后置入盛有 50 mL 不同解吸溶液(0.5 mol/L HCl、0.5 mol/L  $\text{HNO}_3$  和 0.5 mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), 32°C、200 r/min, 摇床解吸 20 min。解吸后的菌体经过滤、去离子水漂洗 2 次后, 在 20 mL 的 0.5 mol/L NaOH 中 32°C、200 r/min 摇床处理 30 min, 过滤并滤干水分后用于下次吸附。

#### 1.5 离子交换分析

在 100 mL 去离子水和 100 mL 的 50 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$  溶液中分别加入 0.2 g 匀浆+碱化处理菌体, 在 pH 5、32°C、200 r/min 摇床 30 min, 3500 r/min 离心 5 min, 采用原子吸收法测定上清液中的  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  浓度。

#### 1.6 吸附等温曲线的拟合

将 0.2 g 匀浆碱化菌体加入 100 mL 浓度为 50~300 mg/L、pH 5 的  $\text{Cu}^{2+}$  梯度溶液中, 32°C、200 r/min 摇床吸附 30 min 后, 3500 r/min 离心 5 min, 利用原子吸收法测定上清液中的  $\text{Cu}^{2+}$  含量。根据 Langmuir 吸附等温方程计算和转换拟合。Langmuir 方程为:  $q=q_{\max}K_L C/(1+K_L C)$ , 其中  $q$  为吸附量,  $C$  相应的吸附量时重金属的平衡浓度,  $q_{\max}$  为最大吸附量,  $K_L$  为吸附平衡常数。其表达式可转换为  $1/q$  和  $1/C$  的线性关系式:

$$1/q=1/q_{\max}+1/(K_L q_{\max} C)$$

#### 1.7 红外光谱测定

将未处理和 0.5 mol/L NaOH 匀浆处理吸附  $\text{Cu}^{2+}$  前和吸附  $\text{Cu}^{2+}$  后的菌体, 在 80°C 下烘烤 8 h 后, 用光谱纯 KBr 压片制样后在傅立叶红外光谱仪 (美国 Nicolet 公司) 上测定。按照文献方法进行吸收谱归属<sup>[11]</sup>。

#### 1.8 统计分析

试验数据采用 SPSS13.0 (SPSS Inc.) 软件进行方差分析和多重比较, 其中多重比较采用 Duncan 法。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同预处理条件对菌体吸附 $\text{Cu}^{2+}$ 的影响

不同预处理后的菌体吸附  $\text{Cu}^{2+}$  的结果表明(表 1), 相对对照菌体, 破碎、碱化、盐化、去污剂和非质子化的极性化预处理均能显著提高菌体的  $\text{Cu}^{2+}$  吸附能力; 除高温预处理外, 其他各种预处理方式均明显造成菌体细胞内容物的损失, 随着预处理 (例如碱化和酸化) 强度增强, 菌体及其细胞内容物损失量增加同时吸附增减率也会下降; 最大损失量是在匀浆化+NaOH (10 mol/L)+100°C 条件下, 损失率为 64.2%; 最佳的处理条件是在匀浆化+NaOH (0.5 mol/L), 吸附率增加了 47.95%。在如下进行的实验中, 将采取匀浆化菌体+0.5mol/L 的 NaOH 的预处理方式的菌体 (简称匀浆碱化菌体)。

### 2.2 pH 对匀浆碱化菌体吸附 $\text{Cu}^{2+}$ 的影响

在 50 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$ 、2 g/L 的匀浆碱化菌体条件下, 在测试 pH 范围内, 预处理的菌体的  $\text{Cu}^{2+}$  吸附量随 pH 增大而显著增加 (图 1)。同时也发现, pH 大于 5 时, 会产生明显的微颗粒状沉淀物 (数据未显示), 这种沉淀物可能是  $\text{Cu}^{2+}$  与  $\text{OH}^-$  反应的结果。

### 2.3 吸附时间对匀浆碱化菌体吸附 $\text{Cu}^{2+}$ 的影响

在含 2 g/L 菌体、50 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$ 、pH 5 的吸附体系中的吸附结果表明 (图 2), 随着吸附时间的增加,  $\text{Cu}^{2+}$  吸附量逐渐上升。5 min 后吸附趋于稳态, 吸附量不再增加。说明吸附是一种快速的过程, 这一特点非常利于其在工业上的应用, 这可以大大减少污水处理时间, 从而提高生产效率。

表 1 预处理对菌体的  $\text{Cu}^{2+}$  吸附能力的影响Table 1 Effect of pre-treatments on the  $\text{Cu}^{2+}$  biosorption of the mycelia

Pre-treatment type	Methods	$\text{Cu}^{2+}$ biosorption (mg/g of dry mycelia)	Loss of mycelia after pre-treatment (% W/W)	Increase in $\text{Cu}^{2+}$ biosorption efficiency (%)
Control without pre-treatment	Fresh mycelia	8.19±0.68 <sup>lj</sup>	/	/
High temperature	Dry at 80 °C	8.95±0.18 <sup>hi</sup>	/	9.28 <sup>A</sup>
Quassation	Homogenization	10.73±0.91 <sup>gh</sup>	/	31.01 <sup>B</sup>
	Homogenization +NaOH (0.1 mol/L)	12.76±0.50 <sup>de</sup>	9.41±1.13 <sup>A</sup>	41.00 <sup>C</sup>
	Homogenization +NaOH (0.2 mol/L)	14.73±0.59 <sup>cd</sup>	23.3±0.6 <sup>B</sup>	38.04 <sup>D</sup>
Hadro-basification	Homogenization +NaOH (0.5 mol/L)	17.31±0.08 <sup>bc</sup>	30.0±1.2 <sup>C</sup>	47.95 <sup>E</sup>
	Homogenization +NaOH (1 mol/L)	17.74±0.72 <sup>bb</sup>	35.8±0.6 <sup>D</sup>	39.48 <sup>D</sup>
	Homogenization+NaOH (10 mol/L) +100°C	31.28±1.26 <sup>aa</sup>	64.2±0.6 <sup>E</sup>	37.37 <sup>D</sup>
	Homogenization+NaHCO <sub>3</sub> (0.2 mol/L)	10.74±0.31 <sup>gh</sup>	7.5±0.4 <sup>F</sup>	19.15 <sup>E</sup>
Ambly-basification	Homogenization +NaHCO <sub>3</sub> (0.5 mol/L)	12.53±0.22 <sup>ef</sup>	10±0.6 <sup>A</sup>	37.69 <sup>D</sup>
	Homogenization +NaHCO <sub>3</sub> (1 mol/L)	12.74±0.52 <sup>ef</sup>	16.7±0.1 <sup>G</sup>	29.70 <sup>F</sup>
Acidification	Homogenization +H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (0.5 mol/L)	6.05±0.47 <sup>jk</sup>	16.7±0.6 <sup>G</sup>	-38.5 <sup>G</sup>
	Homogenization +H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1 mol/L)	5.77±1.16 <sup>kl</sup>	23.3±0.6 <sup>B</sup>	-52.21 <sup>H</sup>
Salinification	Homogenization +NaCl (0.2 mol/L)	10.13±0.76 <sup>gh</sup>	16.7±0.15 <sup>G</sup>	6.63 <sup>I</sup>
Laundry detergent	Homogenization +biotex (40 g/L)	12.00±0.05 <sup>fg</sup>	14.2±0.6 <sup>H</sup>	25.64 <sup>J</sup>
Polarization	Homogenization +C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> SO (30%, W/V)	10.85±0.31 <sup>gh</sup>	9.2±0.6 <sup>A</sup>	20.22 <sup>E</sup>

Each datum is shown as mean from three independent experiments ± standard deviation. Multiple comparison was analyzed by Duncan's method and shown with letters. Testing levels were shown by capital letters ( $\alpha=0.01$ ) and lowercase letters ( $\alpha=0.05$ ). Different letters implied the existence of difference between treatments.

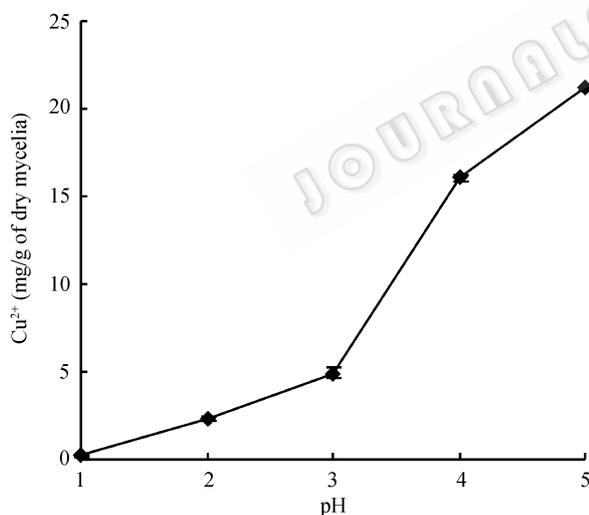
图 1 初始 pH 对匀浆碱化菌体吸附  $\text{Cu}^{2+}$  的影响

Fig. 1 Effect of initial pH in the solution on the  $\text{Cu}^{2+}$  biosorption of the pre-treated mycelia.

#### 2.4 匀浆碱化菌体用量与 $\text{Cu}^{2+}$ 吸附

在 50 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$ 、pH 5、吸附 30 min 的条件下,  $\text{Cu}^{2+}$  吸附率随匀浆碱化菌体添加量的增加逐渐增加, 当菌体用量为 2 g/L 后, 吸附率趋于稳态, 单位菌体的  $\text{Cu}^{2+}$  吸附开始下降 (图 3)。

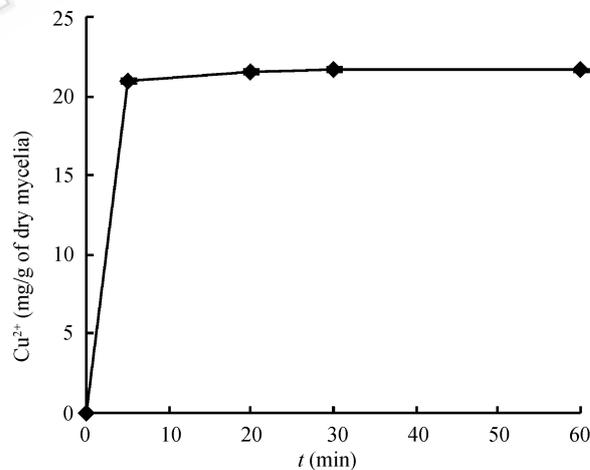
图 2 不同吸附时间下的匀浆碱化菌体的  $\text{Cu}^{2+}$  吸附

Fig. 2  $\text{Cu}^{2+}$  biosorption efficiency of the pre-treated mycelia under different time.

#### 2.5 匀浆碱化菌体的吸附等温线

为分析碱化菌体的可能机制, 曾经用 Langmuir 吸附等温方程来描述了其吸附过程得到了吸附等温曲线 (图 4), 根据等温曲线拟合得到吸附等温方程式为  $y=0.4076x+0.0161$ ,  $R^2=0.9563$ , 其拟合结果如图 5。由分析所知, 在所研究的浓度范围内, 匀浆碱化

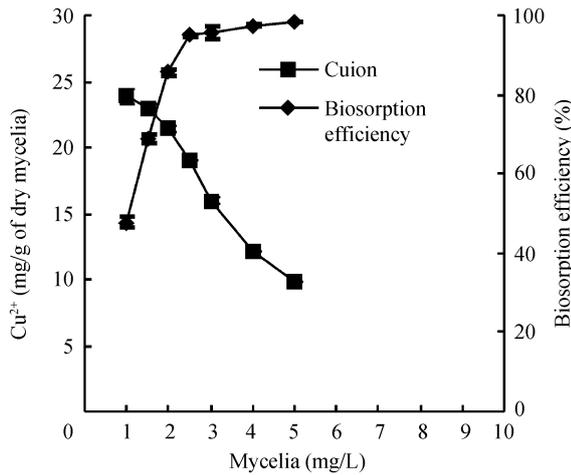


图3 菌体用量对预处理菌体 Cu<sup>2+</sup>的吸附影响  
Fig. 3 Effect of amount of the pre-treated mycelia on the Cu<sup>2+</sup> biosorption capacity.

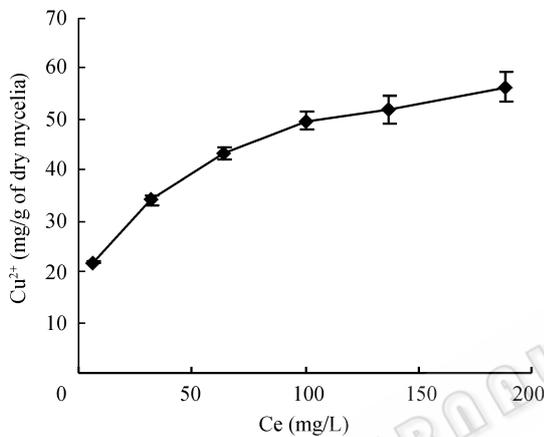


图4 不同 Cu<sup>2+</sup>平衡浓度时的菌体的吸附  
Fig. 4 Cu<sup>2+</sup> biosorption by the pre-treated mycelia under conditions of different balance concentrations of Cu<sup>2+</sup>.

菌体对 Cu<sup>2+</sup>的吸附符合 Langmuir 方程。

### 2.6 Cu<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>的竞争性

菌体在吸附重金属时, 是否存在金属离子间的竞争性吸附, 对于处理复杂的金属污染废水的实际应用具有指导意义。鉴于所用的菌株具有高抗锌 (>1200 mmol/L) 的能力<sup>[10]</sup>, 为此, 测试了匀浆碱化菌体吸附 Cu<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>时离子之间的吸附竞争性。随着 Zn<sup>2+</sup>浓度增大, 菌体的 Cu<sup>2+</sup>的吸附量逐渐下降, 说明 Cu<sup>2+</sup>与 Zn<sup>2+</sup>之间存在竞争性吸附 (图 6)。

### 2.7 Cu<sup>2+</sup>吸附-解吸

吸附后的菌体的再生和重复使用不仅能够节约实际应用中的成本, 而且有利于重金属的回收利用。为此, 进行了 Cu<sup>2+</sup>吸附-解吸研究。结果表明, HCl、HNO<sub>3</sub> 和 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>对吸附 Cu<sup>2+</sup>的菌体均有良好的

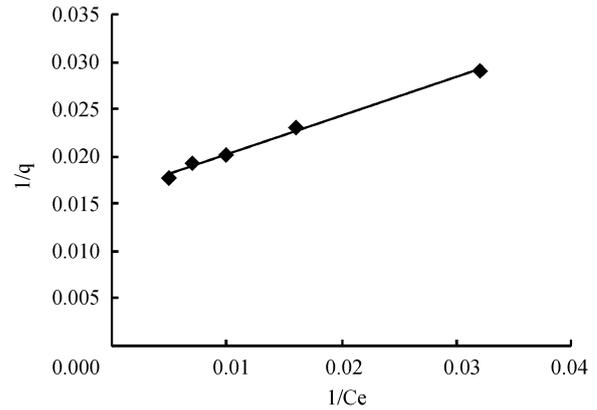


图5 Langmuir 等温吸附线  
Fig. 5 Cu<sup>2+</sup> biosorption isotherm calculated by Langmuir formula.

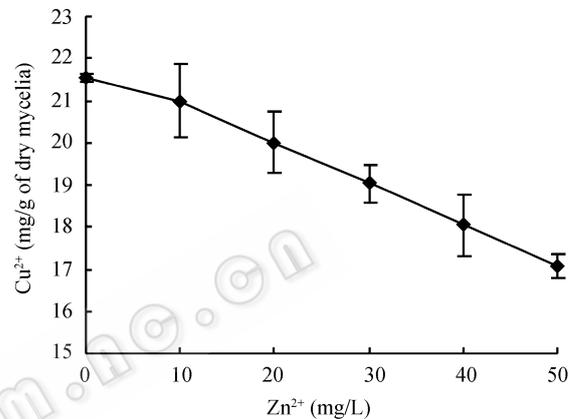


图6 在含 Zn<sup>2+</sup>的 Cu<sup>2+</sup>溶液中的预处理菌体的 Cu<sup>2+</sup>吸附  
Fig. 6 Cu<sup>2+</sup> biosorption of the pre-treated mycelia in the solution containing both Zn<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup>.

解吸效果, 其中以 0.5 mol/L 的 HCl 解吸效果最好, Cu 解吸率达到 94.5%。按照匀浆化+NaOH 预处理菌体吸附-解吸(HCl)-再吸附的循环处理方法进行吸附-解吸-吸附处理, 菌体重复使用 4 次后, 菌体的 Cu<sup>2+</sup>的吸附率为 70.82% (表 2), 与第 1 次菌体使用时相比, Cu<sup>2+</sup>的吸附率只减少了 17.4%。

表2 吸附-解吸条件下的菌体的 Cu<sup>2+</sup>的吸附率  
Table 2 Cu<sup>2+</sup> biosorption efficiency of the pre-treated mycelia under conditions of biosorption and desorption

Cycles of biosorption-desorption*	1	2	3	4
Biosorption efficiency (%)	85.69	78.43	73.43	70.82

\* Desorption was conducted with HCl (0.5 mol/L).

### 2.8 匀浆碱化菌体吸附 Cu<sup>2+</sup>过程中的离子交换

当未添加 CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 时, 在添加匀浆化+碱化菌体的吸附体系溶液中的 Ca<sup>2+</sup>和 Mg<sup>2+</sup>浓度分别为 2.74 mg/L 和 0.96 mg/L。添加 CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 后, Ca<sup>2+</sup>和 Mg<sup>2+</sup>浓度分别达到 5.02 mg/L 和 1.29 mg/L。说明

在菌体吸附  $\text{Cu}^{2+}$  过程中,  $\text{Cu}^{2+}$  与菌体中内在的  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  之间存在离子交换系。

## 2.9 红外光谱分析

根据吸收峰的伸缩振动, 吸附  $\text{Cu}^{2+}$  前, 对照菌体表面分子的主要基团包括有  $-\text{OH}$  和  $-\text{NH}_2$  ( $3363 \text{ cm}^{-1}$ ),  $-\text{CH}_3$  ( $2927 \text{ cm}^{-1}$ ), 酰胺 I 带 ( $1647 \text{ cm}^{-1}$ ), 酰胺 II 带 ( $1548 \text{ cm}^{-1}$ ),  $\text{COO}^-$  ( $1378 \text{ cm}^{-1}$ ),  $\text{C-OH}$  ( $1080 \text{ cm}^{-1}$ ) (图 7 A-a)。吸附  $\text{Cu}^{2+}$  后, 主要的变化基团是  $-\text{OH}$ , 该基团最大吸收峰位从  $3363 \text{ cm}^{-1}$  位移至  $3388 \text{ cm}^{-1}$ , 位移了  $25 \text{ cm}^{-1}$  (图 7 A-b), 说明羟基参与吸附重金属。

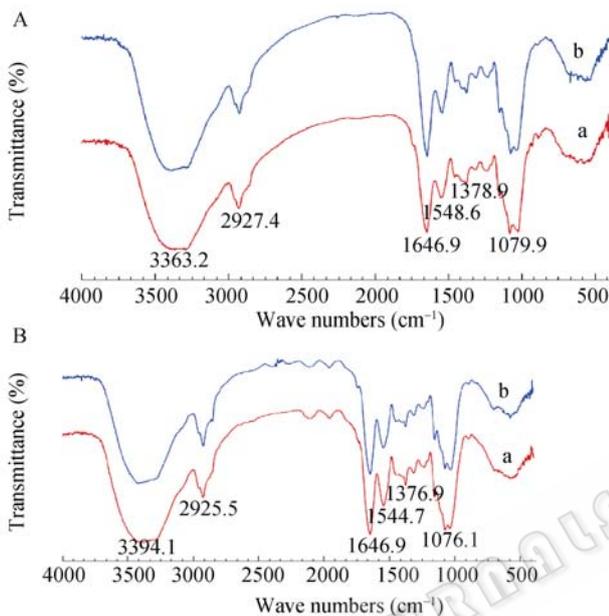


图 7 菌体的红外光谱

Fig. 7 FTIR spectra of the mycelia. (A) Control mycelia before (a) and after (b) biosorption. (B) Pre-treated mycelia before (a) and after (b) biosorption.

相对于对照菌体, 吸附  $\text{Cu}^{2+}$  前, 匀浆碱化菌体表面分子的  $-\text{OH}$  基团吸收峰位从  $3363 \text{ cm}^{-1}$  移至  $3394 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{COO}^-$  基团中的  $\text{C}=\text{O}$  双键伸缩振动峰增强 (图 7 B-a), 说明预处理影响了这些基团。吸附  $\text{Cu}^{2+}$  后, 主要的变化基团是  $-\text{OH}$ , 其最大吸收峰位从  $3394 \text{ cm}^{-1}$  位移至  $3420 \text{ cm}^{-1}$ , 移动了  $26 \text{ cm}^{-1}$ , 说明匀浆碱化菌体吸附  $\text{Cu}^{2+}$  的主要基团也是  $-\text{OH}$ 。

## 3 讨论

本研究系统地比较了多种预处理方式对真菌菌体  $\text{Cu}^{2+}$  吸附影响。Cabuk 等曾经研究了 9 种不同的预处理方式 (高温、湿热灭菌、以及加热+化学处理) 对 *P. verrucosum*, *Aspergillus versicolor* 和 *Metarrhizium*

*anisopliae* var. *anisopliae* 菌体的  $\text{Pb}^{2+}$  吸附的影响, 结果发现碱化处理对菌体重金属吸附的影响似乎与菌体种类有关, 例如, 经加热+ $\text{NaOH}$  预处理后, *P. verrucosum* 菌体的  $\text{Pb}^{2+}$  吸附量增加, *A. versicolor* 和 *M. anisopliae* var. *anisopliae* 菌体的  $\text{Pb}^{2+}$  吸附量显著减少。但是, 加热+ $\text{NaOH}$  预处理后最大的  $\text{Pb}^{2+}$  吸附增率不超过 3.5%<sup>[12]</sup>。加热+洗衣粉、 $\text{NaOH}$  和二甲基亚砷预处理后 *A. flavus* 的  $\text{Cu}^{2+}$  吸附增率分别为 1.89%、1.39% 和 0.87%<sup>[13]</sup>。加热+ $\text{NaOH}$  预处理后 *Aspergillus* sp.  $\text{Cu}^{2+}$  吸附率提高 27.74%<sup>[14]</sup>。相对而言, 本研究中, 匀浆或匀浆+强碱  $\text{NaOH}$  预处理后真菌 GXCR 的  $\text{Cu}^{2+}$  吸附增率达到 31%~48% 之间 (表 1)。

金属的生物吸附剂能否再生并循环使用具有两方面意义: 节约处理成本和回收利用重金属。微生物菌体在吸附重金属中的循环使用已有研究报道, 循环吸附效率和解吸效率的高低与所用的吸附剂和解吸剂有关, 例如对细菌生物吸附剂, 以  $\text{H}_2\text{SO}_4$  和  $\text{Na}_5\text{P}_5\text{O}_{10}$  作解吸剂解析效果最佳,  $\text{Cu}^{2+}$  解吸率可达 90%, 吸附-解析循环 5 次后, 吸附率几乎不受影响<sup>[15]</sup>。本研究表明无机酸  $\text{HCl}$ 、 $\text{HNO}_3$  和  $\text{H}_2\text{SO}_4$  均可作为真菌 GXCR 的  $\text{Cu}^{2+}$  吸附的良好解析剂。

一般而言, 生物分子对金属离子的吸附是一种与阴离子结合的过程。生物体表面与重金属结合有关的重要基团有羧基、磷酸基、羟基、氨基等<sup>[16,17]</sup>。本研究结果表明, 碱预处理主要是导致 GXCR 菌株的菌体表面的  $-\text{OH}$ 、 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{N-H}$ 、 $\text{COOH}$  中的  $\text{C}=\text{O}$  基团发生了变化 (图 8)。其原因主要是  $\text{NaOH}$  中的  $\text{OH}^-$  阻碍了  $-\text{COO}^-$  基团形成  $\text{C-H}$  和  $\text{O-H}$  的形成, 使得  $-\text{COO}^-$  基团中  $\text{C}=\text{O}$  键的振动更剧烈<sup>[18]</sup>。因此可以推测与  $\text{Cu}^{2+}$  结合的主要基团是  $-\text{OH}$ 。

真菌吸附重金属大多发生在细胞壁上, 真菌细胞壁组成成分有葡聚糖, 蛋白质和甲壳质, 其中多糖的含量可高达 90%<sup>[16,17]</sup>, 所以菌体的红外光谱主要是由葡聚糖、几丁质和蛋白质的基团吸收带组成。匀浆化+碱化预处理能够更显著提高菌体对  $\text{Cu}^{2+}$  吸附能力的原因是与匀浆化和碱化双重作用有关。匀浆化预处理: 1) 增加了吸附表面积; 2) 使得菌体细胞内容物, 特别是一些具有金属离子吸附能力的胞内大分子如蛋白等阴离子丰富的物质外露。匀浆+碱化预处理, 除了匀浆化效果外, 主要原因是: 1) 修

饰了真菌细胞壁上某些成分的化学结构,例如可使细胞壁上甲壳素生成壳聚糖,从而导致吸附量的增加<sup>[19]</sup>。2) 溶解菌体细胞壁上一些不利于吸附的物质,暴露出细胞上更多的活性基团和结合位置<sup>[20]</sup>。3) 增加菌体表面的负电荷<sup>[21]</sup>。酸处理导致菌体吸附能力下降主要与菌体表面质子化程度增高有关<sup>[7, 9]</sup>。吸附体系中的 pH 值的作用与碱和酸化作用有相似之处,只是过低 pH,会导致溶液中的 H<sup>+</sup>浓度升高同时也形成了大量的 H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>离子, H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>离子与金属离子竞争生物分子表面的官能团结合部位<sup>[9]</sup>,因此,菌体 Cu<sup>2+</sup>的吸附随着随之减少。

早期其他研究表明<sup>[14, 22]</sup>, 吸附过程分成 2 个阶段: 第一阶段是快速可逆的过程,在这一阶段溶液中 Cu<sup>2+</sup>与菌体表面所带的负电荷发生静电吸引,或是与菌体壁上部分基团进行络合反应,或是与菌体表面的 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>离子发生交换。第二阶段是慢速阶段,在该阶段由于重金属引起微生物细胞壁通透性的变化使得停留在菌体表面的 Cu<sup>2+</sup>通过细胞膜向细胞内扩散。在本实验中的菌体吸附也同样存在的 2 个吸附阶段 (图 2)。

在吸附 Cu<sup>2+</sup>过程中,溶液中 Ca<sup>2+</sup>和 Mg<sup>2+</sup>增多,可能是真菌菌体细胞壁上部分酸性官能团结合在一起的 Ca<sup>2+</sup>和 Mg<sup>2+</sup>交换的结果<sup>[23]</sup>。匀浆碱化菌体吸附的 Cu<sup>2+</sup>后能够解吸,以及 Cu<sup>2+</sup>吸附的吸附符合典型的 Langmuir 方程,说明可能存在表面吸附行为<sup>[24]</sup>。

根据上述结果, GXCR 对 Cu<sup>2+</sup>的吸附是 Cu<sup>2+</sup>与菌体-OH 基团结合的化学吸附为主。碱化处理能够显著提高菌体的对 Cu<sup>2+</sup>吸附能力。如何降低预处理过程中的菌体损失而达到最大吸附效果仍需要进一步研究。

## REFERENCES

[1] Chang XX, Wen CH, Wang HJ. Effect of heavy metal pollution on human health and sustainable development. *Yunnan Environ Sci*, 2000, **19** (1): 59-611.  
常学秀, 文传浩, 王焕校. 重金属污染与人体健康. 云南环境科学, 2000, **19**(1): 59-61.

[2] Mei GQ. Harmfulness, treatment of heavy metal waste water. *Stud Trace Elem Health*, 2004, **21** (4): 54-56.  
梅光泉. 重金属废水的危害及治理, 微量元素与健康研究, 2004, **21**(4): 54-56.

[3] Valdman E, Leite SG. Biosorption of Cd, Zn and Cu by *Sargassum* sp. waste biomass. *Bioproc Engin*, 2000, **22**(2): 171-173.

[4] Volesky B, Holant ZR. Biosorption of heavy metals. *Biotechnol Prog*, 1995, **11**: 235-250.

[5] Gao W, He SH, Li HX, et al. Application of fungi in disposal of heavy metal wastewater. *Water Purif Technol*, 2005, **24** (5): 30-33.  
高伟, 何少华, 李红霞, 等. 真菌吸附法处理重金属废水. 净水技术, 2005, **24**(5): 30-33.

[6] Bhainsa KC, Souza SF. Biosorption of uranium (VI) by *Aspergillus fumigatu*. *Biotechnol Tech*, 1999, **13**(10): 695-699.

[7] Yan GY, Viraraghavan T. Effect of pretreatment on the bioadsorption of heavy metals on *Mucor rouxii*. *Water SA*, 2000, **26** (1): 119-123.

[8] Ülhan S, Cabuk A, Filik C. Effect of pretreatment on biosorption of heavy metals by fungal biomass. *Trakya niv Fen Bil Derg*, 2004, **5**(1): 11-17.

[9] Tunali S, Akar T. Zn (II) biosorption properties of *Botrytis cinerea* biomass. *Hazardos Materials*, 2006, **131** (1-3): 137-145.

[10] Wei MK, Tang HY, Liang L, et al. Characteristics of high resistance to heavy metal salts and uptake of Cu<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> ions of *Penicillium janthinellum*. *Mycosystema*, 2006, **25** (4): 616-623.  
韦明肯, 唐华英, 梁铃, 等. 青霉菌 *Penicillium janthinellum* 菌株 GXCR 的高抗重金属盐及其对 Cu<sup>2+</sup>和 Zn<sup>2+</sup>离子吸收的特性. 菌物学报, 2006, **25** (4): 616-623.

[11] Lu YQ, Deng ZH. Practical infrared spectral analysis. Beijing: Electronic Industry Publisher, 1989.  
卢涌泉, 邓振华. 实用红外光谱解析. 北京: 电子工业出版社, 1989.

[12] Cabuk A, İlhan S, Filik C, et al. Pb<sup>2+</sup> biosorption by pretreated fungal biomass. *Turk J Biol*, 2005, **29**: 23-28.

[13] Akar T, Tunali S. Biosorption characteristics of *Aspergillus flavus* biomass for removal of Pb (II) and Cu (II) ions from an aqueous solution. *Biores Technol*, 2006, **97**(15): 1780-1787.

[14] Jia R, Pei MJ, Shi Y, et al. Studies on adsorption of Cu<sup>2+</sup> by the fungus *Aspergillus* sp.. *Chin Environ Sci*, 2003, **23** (3): 263-266.  
荚荣, 裴明军, 史银, 等. 真菌(*Aspergillus* sp.)吸附 Cu<sup>2+</sup>的研究. 中国环境科学, 2003, **23** (3): 263-266.

[15] Leung WC, Wong MF, Chua H, et al. Removal and recovery of heavy metals by bacteria isolated from activated sludge treating industrial effluents and municipal wastewater. *Water Sci Technol*, 2000, **41**(12): 233-240.

[16] Kapoor A, Viraraghavan T. Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*. *Biores Tech*, 1997, **61**(3): 221-227.

[17] Ashkenazy R, Gottlieb L, Yannai S. Characterization of

acetone-washed yeast biomass functional groups involved in lead biosorption. *Biotech Bioengin*, 1997, **55**(1): 1–10.

[18] Qiu TS, Wang JF, Liu T. Study on principle of Pb<sup>2+</sup> adsorption by non-active *Streptomyces ruber* in wastewater. *Water Res Prot*, 2006, **2**(6): 57–60.  
邱廷省, 王俊峰, 刘涛. 非活性红色链霉菌吸附废水中 Pb<sup>2+</sup>机理分析. *水资源保护*, 2006, **2**(6): 57–60.

[19] Leung WC, Wong MF, Chua H, *et al.* Removal and recovery of heavy metals by bacteria isolated from activated sludge treating industrial effluents and municipal wastewater. *Water Sci Technol*, 2000, **41**(12): 233–240.

[20] Zhang L, Kong DL, Tu J, *et al.* Mechanism study of lead biosorption by *Rhizopus nigricans*. *Ion Exch Adsorpt*, 1996, **12** (4): 317–323.

张利, 孔德领, 屠娟, 等. 发酵废渣黑根霉菌对铅离子吸附机理的研究. *离子交换与吸附*, 1996, **12**(4): 317–323.

[21] Brierley CL. Bioremediation of metal-contaminated surface and ground waters. *Geomicrob J*, 1990, **8**: 210–223.

[22] Yetis U, Dolek A, Dilek FB, *et al.* The removal of Pb by *Phaneroaete chrysosporium*. *Wat Res*, 2000, **34**(16): 4090–4100.

[23] Akthar MN, Sastry KS, Mohan PM. Mechanism of ion biosorption by fungal biomass. *Bio Metals*, 1996, **9**: 21–28.

[24] Mattuschka B, Straube G. Biosorption of metals by a waste biomass. *J Chem Technol Biotechnol*, 1993, **58**(1): 57–63.



### 2009 年《生物工程学报》栏目设置

栏目中文名称	栏目英文名称	具体涵盖内容
综述	Reviews	内容要求新颖丰富, 观点明确, 论述恰当, 必须包含作者自己的工作内容和见解
小综述	Mini-review	能尽快反映生物学领域的最新进展的小型综述
科学进展/名家论坛	Perspective	邀请生物领域专家对最新生物技术科研成果进行评述
动物及兽医生物技术	Animal and Veterinary Biotechnology	转基因动物; 动物生物反应器; 动物疾病控制、免疫生物技术
海洋生物技术	Marine Biotechnology	海洋生物资源; 海洋生物基因组学、蛋白质组学和代谢组学; 海水养殖生物技术; 藻类生物技术; 海洋天然产物; 海洋生物产品、生物材料和生物能源
环境生物技术	Environmental Biotechnology	微生物多样性; 分子生物学方法及应用; 环境过程的生物监测; 污染控制新工艺; 生物修复
工业生物技术	Industrial Biotechnology	工业酶和微生物; 代谢工程与应用; 生物催化剂与生物转化; 工业生物原料、生物燃料、生物能源和生物基化学品; 生物过程工程; 生物工程控制及优化
农业生物技术	Agricultural Biotechnology	农业功能基因组; 植物生物反应器; 转基因作物; 转基因产品的生物安全及转化; 农业重组微生物
食品生物技术	Food Biotechnology	食品微生物及功能性食品; 转基因食品; 食品安全及公众健康
系统生物技术	Systems Biotechnology	系统生物学理论在工业、医药、环境、农业生物技术领域的应用
医学与免疫生物技术	Medical and Immunological Biotechnology	基因治疗和干细胞治疗 RNAi 技术及应用; 生物标记与诊断; 单克隆抗体; 工程蛋白和疫苗
组织工程与细胞培养	Tissue Engineering and Cell Cultivation	细胞发育与生物材料; 干细胞工程; 细胞培养工程
生物技术方法	Methods in Biotechnology	生物技术各个领域中的方法学