

Sphingopyxis sp. YF1 吸附镉的特性及其机制

张楠^{#1,2}, 杨洁秋^{#1,2}, 蔡思恒^{1,2}, 陈欣欣^{1,2}, 彭堂见^{1,2}, 杨飞^{*1,2}

1 南华大学公共卫生学院 典型环境污染与健康危害湖南省重点实验室, 湖南 衡阳 421001

2 南华大学衡阳医学院 辐射-线粒体与人类重大疾病国家重点实验室(培育), 湖南 衡阳 421001

张楠, 杨洁秋, 蔡思恒, 陈欣欣, 彭堂见, 杨飞. *Sphingopyxis* sp. YF1 吸附镉的特性及其机制[J]. 微生物学通报, 2023, 50(8): 3330-3344.

ZHANG Nan, YANG Jieqiu, CAI Siheng, CHEN Xinxin, PENG Tangjian, YANG Fei. Characteristics and mechanisms of cadmium adsorption by *Sphingopyxis* sp. YF1[J]. Microbiology China, 2023, 50(8): 3330-3344.

摘要: 【背景】水中的重金属污染是一个严峻的环境问题, 严重危害人体健康, 利用微生物吸附剂修复重金属污染的水体是一种高效环保的方法。*Sphingopyxis* 能够去除重金属, 但是其去除水体中镉的研究很少, 且其吸附镉的机理尚不清楚。【目的】以从水体中分离的 *Sphingopyxis* sp. YF1 为对象, 探究该菌对镉的吸附特性和机制。【方法】分析在不同 pH、接触时间及重金属初始浓度条件下 YF1 活菌和死菌对 Cd²⁺ 的吸附效果, 对其进行动力学模型和等温模型拟合, 通过扫描电镜和能谱 (scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy, SEM-EDS) 观察镉在活菌和死菌细胞表面的富集, 并通过傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 和 X 射线光电子能谱 (X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) 分析确定 YF1 菌中参与吸附 Cd²⁺ 的官能团, 阐明 YF1 对镉的吸附机理。【结果】当 pH 值为 3.0–5.0 时, 随着 pH 值的升高, 活菌与死菌的镉吸附量都随着增加, pH 值为 5.0–7.0 时, 活菌与死菌的镉吸附量均无较大变化, 吸附主要发生在前 10 min, 之后吸附速率逐渐降低, 活菌和死菌吸附 Cd²⁺ 的过程更符合准二级动力学模型, 表明菌体对镉主要是以化学吸附的方式进行; 活菌和死菌等温模型拟合都更符合 Langmuir 模型, 说明 YF1 对 Cd²⁺ 的吸附为均相吸附; 活菌和死菌对 Cd²⁺ 的吸附量分别达到 36.20 mg/g 和 62.98 mg/g; 吸附后的活菌和死菌的细胞表面均有 Cd(II) 沉积在菌体表面, 活菌和死菌的 -OH、C-(O,N) 和 -NO₂ 等基团参与了镉的吸附。【结论】*Sphingopyxis* sp. YF1 菌具有较强的 Cd²⁺ 去除能力, 该菌株在去除水体 Cd²⁺ 方面具有良好的应用前景。

关键词: *Sphingopyxis* sp. YF1; 镉; 生物吸附; 吸附特性; 吸附机制

资助项目: 湖湘青年人才支持计划(2021RC3107); 湖南省自然科学基金(2022JJ40372); 湖南省大学生创新创业训练计划项目(S202110555002); 国家自然科学基金(31900108)

[#]对本文贡献相同

This work was supported by the Hunan Young Talent Support Program (2021RC3107), the Hunan Provincial Natural Science Foundation (2022JJ40372), the Hunan Provincial Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students (S202110555002), and the National Natural Science Foundation of China (31900108).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. E-mail: yangfeilong@126.com

Received: 2022-11-24; Accepted: 2023-03-06; Published online: 2023-05-12

Characteristics and mechanisms of cadmium adsorption by *Sphingopyxis* sp. YF1

ZHANG Nan^{#1,2}, YANG Jieqiu^{#1,2}, CAI Siheng^{1,2}, CHEN Xinxin^{1,2}, PENG Tangjian^{1,2}, YANG Fei^{*1,2}

1 Hunan Province Key Laboratory of Typical Environmental Pollution and Health Hazards, School of Public Health, University of South China, Hengyang 421001, Hunan, China

2 State Key Laboratory of Radiation-mitochondrial and Human Major Diseases (Cultivation), Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421001, Hunan, China

Abstract: [Background] Heavy metal pollution in water is a serious environmental problem posing a severe threat to human health. Using microbial adsorbents to remediate heavy metal-contaminated water is an efficient and eco-friendly method. *Sphingopyxis* is capable of removing heavy metal pollution, while little is known about the mechanism of the removal of cadmium from water by *Sphingopyxis*. [Objective] To reveal the cadmium adsorption efficacy and mechanisms of *Sphingopyxis* sp. YF1 isolated from water. [Methods] The adsorption of Cd²⁺ by live and dead cells of strain YF1 under different pH, contact time, and initial concentrations of Cd²⁺ were analyzed. Kinetic and isothermal models were fitted to investigate the cadmium adsorption characteristics of this strain. Scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDS) were employed to observe the accumulation of cadmium on the surface of live and dead cells. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) were employed to identify the functional groups involved in the adsorption of Cd²⁺ by YF1 cells, so as to elucidate the adsorption mechanism. [Results] With the rise in pH, cadmium adsorption of both live and dead cells increased within the range of pH 3.0–5.0 and did not change greatly within the range of pH 5.0–7.0. The adsorption mainly occurred in the first 10 min, and then the adsorption rate gradually decreased. The process of Cd²⁺ adsorption by live and dead cells was more in line with the pseudo-second-order kinetic model, which suggested YF1 mainly adopted chemisorption. The adsorption of Cd²⁺ by both live and dead cells was better fitted by the Langmuir model, indicating the adsorption of Cd²⁺ by YF1 was homogeneous. The maximal adsorption capacity of Cd²⁺ by live and dead cells reached 36.20 mg/g and 62.98 mg/g, respectively. Cd(II) was deposited on the surface of both live and dead cells after adsorption, and –OH, C–(O,N), and –NO₂ groups were involved in the adsorption. [Conclusion] *Sphingopyxis* sp. YF1 has high Cd²⁺ removal ability and is promising in the removal of Cd²⁺ from water.

Keywords: *Sphingopyxis* sp. YF1; cadmium; biosorption; adsorption characteristics; adsorption mechanism

随着现代化和工业化的发展,水体重金属污染问题越来越受到人们的关注^[1],镉污染是环境中广泛存在、危害最大的重金属污染问题

之一,镉污染可由多种原因引起,主要是来自人类工农业活动,如燃烧排放的大气沉积、化肥农药的使用、采矿冶炼等^[2-4],镉污染不仅对

动植物生存有重大影响^[5-6]，而且对人体的神经、免疫、泌尿等系统具有毒性，给人体健康造成严重威胁^[7-8]。例如，职业暴露或环境暴露会导致镉进入人体积累，可引起骨质疏松症和“痛痛病”等疾病，甚至导致各种类型的癌症^[3-4]。因此，镉污染是目前全球关注且亟待解决的环境问题之一。

目前镉污染处理的方法很多，根据重金属去除原理可分为不同的类型，包括物理法、化学法和生物法，前两者主要包括离子交换法、膜分离法、电化学法、化学沉淀法、氧化还原法和吸附法等。各种污染处理方法都有其对应的优缺点，大部分的物理化学方法都具有成本较高、易二次污染等问题^[9]，相较而言，生物吸附法具有环境友好、经济高效等优点，有良好的潜在应用前景^[10]。目前研究表明，许多微生物具有良好的吸附镉的能力，如 Huang 等^[11]分离鉴定的 *Bacillus subtilis* 对 20 mg/L 镉的去除效率可以达到 82%，Li 等^[12]发现 *Pseudomonas stutzeri* 对低浓度镉(0.05 mg/L)的吸附效率达 86.8%。

Sphingopyxis 是一种革兰氏阴性杆菌，该属的物种能够降解多种有机污染物^[13-15]，在去除环境污染物等方面具有良好的应用前景，如 Chen 等^[16]发现 *Sphingopyxis* sp. Cy-10 在含盐废水的脱氮处理中具有巨大的潜力，*Sphingopyxis* sp. USTB-05 能够降解水环境中的藻毒素^[14,17]，Verma 等^[18]揭示了 *Sphingopyxis* spp. 能够降解各种芳香族化合物及其他环境污染物的潜力。*Sphingopyxis* 也可以用于重金属的去除，如 Liang 等^[19-20]发现 *Sphingopyxis* 和 *Arthrobacter* sp. QXT-31 混合培养时可以氧化 Mn(II)。但目前 *Sphingopyxis* 用于重金属吸附的研究很少，且其吸附机理尚不明确。

本研究以从水体中分离出的细菌 *Sphingopyxis* sp. YF1 为对象，探究 YF1 菌对镉的吸附特性，

通过扫描电镜和能谱(scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy, SEM-EDS)、傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)和 X 射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)阐明 YF1 菌对镉的吸附机理，以期为微生物治理水体重金属污染的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

本研究中 *Sphingopyxis* sp. YF1 菌从水体中分离纯化得到，该菌能够高效降解水华藻产生的藻毒素^[21]。

1.1.2 培养基和主要试剂、仪器

NB 培养基，国药集团化学试剂有限公司。氯化镉、氢氧化钠、盐酸、硝酸、戊二醛和无水乙醇，上海麦克林生化科技有限公司。原子吸收分光光度计，北京普析通用仪器有限责任公司；扫描电子显微镜，Tescan 公司；傅里叶变换红外光谱仪和 X 射线光电子能谱仪，Thermo Scientific 公司。

1.2 菌体准备

将 YF1 菌接入 NB 培养基，30 °C、180 r/min 培养，取处于生长对数后期($OD_{600}=1.0$)的 YF1 菌液于 8 000×g 离心 2 min，用超纯水洗涤 2 次，将总菌体分为两组，一组直接将洗涤的 YF1 菌重新悬浮得到活菌悬浮液；另一组将菌体于 121 °C 灭菌 15 min 后重新悬浮得到死菌悬浮液。分别取 2 mL 悬浮液置于 80 °C 的干燥箱内烘干 4 h，确定菌体的干重，剩余悬浮液均保存于 4 °C 内。

1.3 吸附试验

取灭菌干燥后的 50 mL 锥形瓶，依次加入无菌水、配制好的镉标准溶液、菌液，使试验

最终体系为 20 mL, 试验组均准备 2 个平行样, 于 30 °C、180 r/min 培养箱孵育。设置无菌对照组, 除不加菌之外, 其他条件与试验组一致。于吸附的不同时间取样 2 mL, 13 000×g 离心 2 min 取上清液 1 mL, 用原子吸收分光光度计测定镉浓度, 计算吸附率和生物吸附量。

$$\text{吸附率 } R (\%) = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100;$$

$$\text{吸附量 } q = \frac{V(C_0 - C_t)}{m}$$

式中: C_0 为吸附前的镉离子的原始浓度(mg/L); C_t 为吸附达到平衡后的镉离子浓度(mg/L); m 为投入细菌的质量(g); V 为体系体积(L); q 为单位质量细菌的吸附量(mg/g)^[22]。

1.3.1 pH 对 YF1 吸附镉的影响

保持反应体系镉离子终浓度为 40 mg/L, 使用 pH 计调节体系 pH 值分别为 3.0、4.0、5.0、6.0 和 7.0, 总体积 20 mL, 达到吸附平衡后取样测定上清中镉离子浓度。其他试验与上述吸附试验条件相同。

1.3.2 接触时间对 YF1 吸附镉的影响

保持反应体系中镉离子浓度为 40 mg/L, pH 值 6.0, 共设置 20 个平行样, 分别在孵育 0、10、20、30、45、60、120、240、360 和 720 min 后选取其中两个平行样, 取 2 mL 反应液于 13 000×g 离心 2 min, 吸取 1 mL 上清液用原子吸收分光光度计测其浓度, 每个样品仅取样一次, 对吸附过程进行动力学模型拟合。

准一级动力学模型: $q_t = q_e(1 - \exp^{-k_1 t})$;

准二级动力学模型: $q_t = k_2 t q_e^2 / (1 + k_2 t q_e)$

式中: q_e 为平衡时的理论吸附量(mg/g); q_t 为 t 时刻的吸附量(mg/g); k_1 为准一级吸附速率常数(min^{-1}); k_2 为准二级吸附速率常数 $[\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{min})]$ ^[23]。

1.3.3 不同镉离子浓度对 YF1 吸附镉的影响

保持反应体系 pH 6.0, 加入适量镉标准液

使体系中镉离子浓度分别为 20、35、50、75、85 和 100 mg/L, 总体积 20 mL, 达到吸附平衡后取样测定上清中镉离子浓度。其他试验与上述吸附试验条件相同。对其进行等温模型拟合。

Langmuir 模型: $q_e = q_{\max} k_L C_e / (1 + k_L C_e)$;

Freundlich 模型: $q_e = k_F C_e^{(1/n)}$

式中: C_e 为吸附平衡时溶液中 Cd^{2+} 浓度(mg/L); q_e 为吸附平衡时吸附量(mg/g); q_{\max} 为单分子层饱和吸附量(mg/g); k_L 为吸附相关的 Langmuir 常数; k_F 为吸附或分配系数; n 为 Freundlich 常数^[23]。

1.4 扫描电镜和能谱(SEM-EDS)分析

将吸附镉前后的 YF1 活菌/死菌加入 2.5% 戊二醛固定液固定后, 分别用 30%、50%、70%、90% 和 100% 乙醇进行梯度脱水, 将脱水后的样品冷冻干燥, 使用扫描电子显微镜(SEM)与能谱(EDS)分析仪观察吸附镉前后生物吸附剂的表面特征^[12]。

1.5 傅里叶变换红外光谱(FTIR)分析

将吸附前后的活菌/死菌收集后冷冻干燥至恒重, 取干燥菌粉于玛瑙研钵中与溴化钾以 1:100 的比例在红外灯下研磨混匀, 取适量粉末进行压片, 压片成形后置于傅里叶变换红外光谱仪的检测台上, 扫描范围为 400–4 000 cm^{-1} 。

1.6 X 射线光电子能谱(XPS)分析

将吸附前后的活菌/死菌收集后冷冻干燥至恒重, 样品制作完成后用 X 射线光电子能谱仪检测。检测步骤: 进样, 抽真空, 建点, 选元素。试验条件: 分析室的真空度大约为 5×10^{-9} mbar; X 射线源: 单色化 AlK α 源(Mono AlK α); 能量: 1 486.6 eV; 电压: 15 kV; 束流: 15 mA; 分析器扫描模式: CAE。检测元素结合能的改变, 观察镉与 YF1 菌株结合前后样品中镉电子能谱的变化。

2 结果与分析

2.1 pH 对 YF1 菌吸附镉的影响

不同 pH 条件下 YF1 活菌和死菌的吸附量结果如图 1 所示, 在 pH 3.0 时活菌和死菌的吸附量最低, 分别为 18.06 mg/g 和 23.72 mg/g, 在 pH 3.0–5.0 时, 随着 pH 值的升高活菌与死菌的吸附量都增加, pH 5.0 时活菌和死菌的吸附量分别达到 35.84 mg/g 和 40.28 mg/g, 在 pH 5.0–7.0 内, 随着 pH 值的增加活菌和死菌的吸附量均无较大变化, 这可能与菌体表面的结合位点达到饱和有关。

2.2 接触时间对 YF1 菌吸附镉的影响

不同时间 YF1 活菌和死菌吸附镉的准一级和准二级动力学结果显示(图 2), 在 10 min 内, 吸附速度均很快, 然后吸附速度减慢; 采用准一级和准二级动力学模型对 YF1 菌吸附镉的过程进行拟合(图 2, 表 1)。准一级动力学中活菌吸附镉的 R^2 为 0.953, 死菌吸附镉的 R^2 为 0.951; 准二级动力学中, 活菌吸附镉的 R^2 为 0.989, 死菌吸附镉的 R^2 为 0.981; 无论是活菌还是死菌, 准二级模型中的 R^2 值均大于准一级模型中的 R^2 值, 准二级动力学预测的活菌和死菌的平衡吸附量分别为 17.03 mg/g 和 22.89 mg/g, 与准一级动力学预测的 15.96 mg/g 和 21.83 mg/g 相比更接近实际的平衡吸附量, 约为 18 mg/g 和 24 mg/g。因此活菌和死菌对镉的吸附更符合准二级动力学模型。

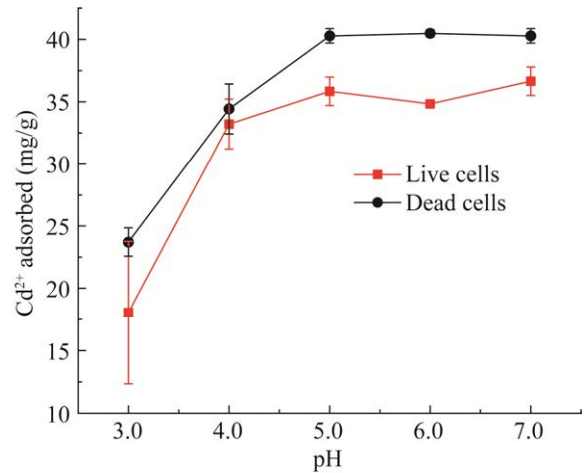


图 1 不同 pH 条件下 YF1 活菌和死菌对镉的吸附量

Figure 1 Adsorption of cadmium by YF1 live and dead cells at different pH.

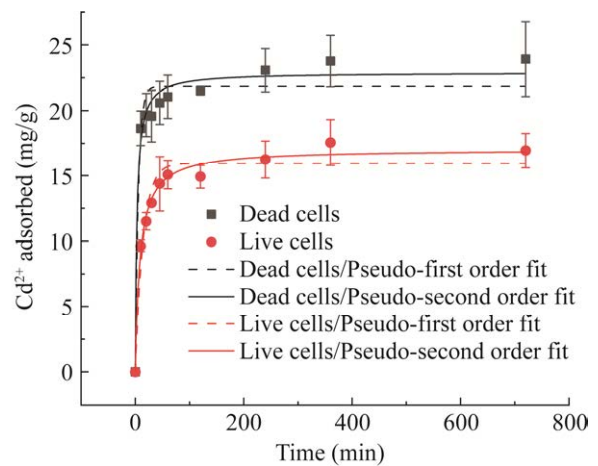


图 2 不同时间 YF1 活菌和死菌吸附镉的准一级和准二级动力学

Figure 2 Pseudo-first and pseudo-second order kinetics of cadmium adsorption by YF1 live and dead cells at different time points.

表 1 YF1 活菌和死菌吸附动力学方程拟合参数

Table 1 Parameters fitted to the kinetic equations for adsorption by YF1 live and dead cells

样品 Sample	准一级动力学拟合 Pseudo-first order fit			准二级动力学拟合 Pseudo-second order fit		
	q_e (mg/g)	k_1 (min^{-1})	R^2	q_e (mg/g)	k_2 ($\text{g}/(\text{mg}\cdot\text{min})$)	R^2
活菌 Live cells	15.96	0.069	0.953	17.03	0.007	0.989
死菌 Dead cells	21.83	0.171	0.951	22.89	0.014	0.981

2.3 镉离子浓度对 YF1 菌吸附镉的影响

如图3和表2所示,采用Langmuir和Freundlich等温模型拟合不同镉离子浓度对 YF1 菌吸附镉的影响。活菌吸附镉的Langmuir模型和Freundlich模型的 R^2 分别为0.960与0.881, Langmuir模型 R^2 值高于Freundlich模型;死菌吸附镉的Langmuir模型和Freundlich模型的 R^2 分别为0.985与0.929, Langmuir模型 R^2 值高于Freundlich模型,可见 YF1 活菌和死菌试验数据拟合都比较符合Langmuir模型。根据Langmuir计算出 YF1 活菌和死菌对镉的最大吸附量分别为36.20 mg/g和62.98 mg/g, 与其他菌株相比, YF1 菌表现出较高的 Cd^{2+} 吸附容量(表3), 表明该菌株是一种较为高效的镉吸附剂。

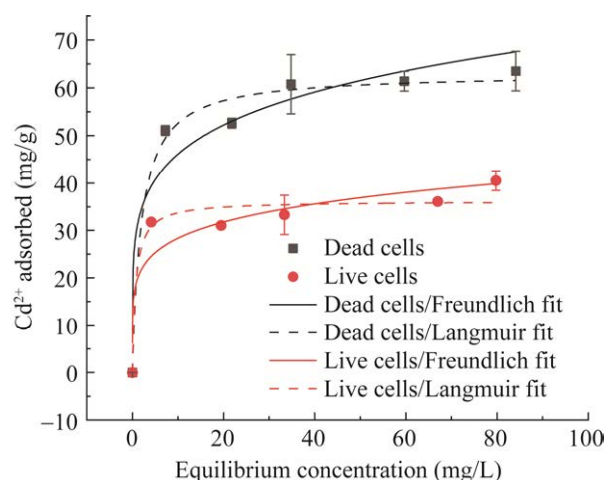


图3 不同镉离子初始浓度下 YF1 活菌和死菌吸附镉的 Langmuir 模型和 Freundlich 模型
Figure 3 Langmuir and Freundlich fits for cadmium adsorption by YF1 live and dead cells at different initial concentrations of cadmium ions.

表2 YF1 活菌和死菌 Langmuir 模型和 Freundlich 模型拟合的参数

Table 2 Parameters fitted to Langmuir and Freundlich models for YF1 live and dead cells

样品 Sample	Langmuir 拟合 Langmuir fit			Freundlich 拟合 Freundlich fit		
	q_{max} (mg/g)	k_L (L/mg)	R^2	k_F (L/g)	n	R^2
活菌 Live cells	36.20	1.35	0.960	19.44	6.10	0.881
死菌 Dead cells	62.98	0.51	0.985	30.51	5.58	0.929

表3 不同菌株对 Cd^{2+} 的吸附容量

Table 3 Cd^{2+} adsorption capacity of different strains

类别 Category	菌株 Strain	吸附容量 Adsorption capacity (mg/g)	参考文献 References
细菌 Bacterium	<i>Paenibacillus</i> sp. LYX-1	30.68	[24]
细菌 Bacterium	<i>Bacillus cereus</i> RC-1	31.95	[25]
毛霉 Mucor	<i>Mucoromycote</i> sp. XLC	79.65	[26]
细菌 Bacterium	<i>Sphingopyxis</i> sp. YF1	62.98	This study
细菌 Bacterium	<i>Escherichia coli</i>	37.77	[11]
酵母菌 Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	22.44	[11]
细菌 Bacterium	<i>Enterobacter</i> sp. J1	46.20	[27]
藻类 Alga	<i>Parachlorella</i> sp.	86.08	[28]

2.4 扫描电镜和能谱(SEM-EDS)分析

YF1 活菌和死菌吸附镉前后的扫描电镜图像如图 4 所示,未吸附镉时活菌表面较光滑(图 4A),经过重金属处理后活菌的形态发生了变化,表面变得粗糙、凹凸不平(图 4B);未吸附镉时死菌表面较粗糙(图 4C),死菌在吸附了重金属离子后,形态未见明显变化(图 4D);通过 EDS 可以发现,在活菌吸附 Cd^{2+} 前,细胞表面不存在镉(图 4A),吸附 Cd^{2+} 后出现了镉离子的峰,表明镉离子确实被吸附在菌体表面(图 4B);死菌吸附 Cd^{2+} 后也出现了镉离子的峰,同样也证明了死菌菌体也在其表面吸附了 Cd^{2+} (图 4C、4D)。

2.5 傅里叶红外光谱分析

为了确定 YF1 活菌和死菌参与吸附 Cd^{2+} 的官能团,采用 FTIR 进行了表征。活菌和死菌吸附前后红外光谱及功能基团对应的峰分别见图 5。活菌吸附镉前后的红外图谱中见图 5A,吸附前 $3\,290.98\text{ cm}^{-1}$ 的峰可能是由 $-\text{OH}$ 伸缩振动峰^[29](表 4),吸附后位移至 $3\,294.52\text{ cm}^{-1}$ 处;吸附前 $2\,950.68\text{ cm}^{-1}$ 的峰可能是由 $-\text{CH}_2$ 产生的^[30],吸附后位移至 $2\,945.92\text{ cm}^{-1}$;吸附前 $1\,655.62\text{ cm}^{-1}$ 的峰代表蛋白质和多肽的酰胺 I 基团^[31],吸附后位移至 $1\,652.09\text{ cm}^{-1}$;吸附前 $1\,533.10\text{ cm}^{-1}$ 的峰主要是由 $\text{C}-\text{NH}$ 键引起的^[32],吸附后位移至 $1\,531.73\text{ cm}^{-1}$;吸附前 $1\,387.54\text{ cm}^{-1}$ 的

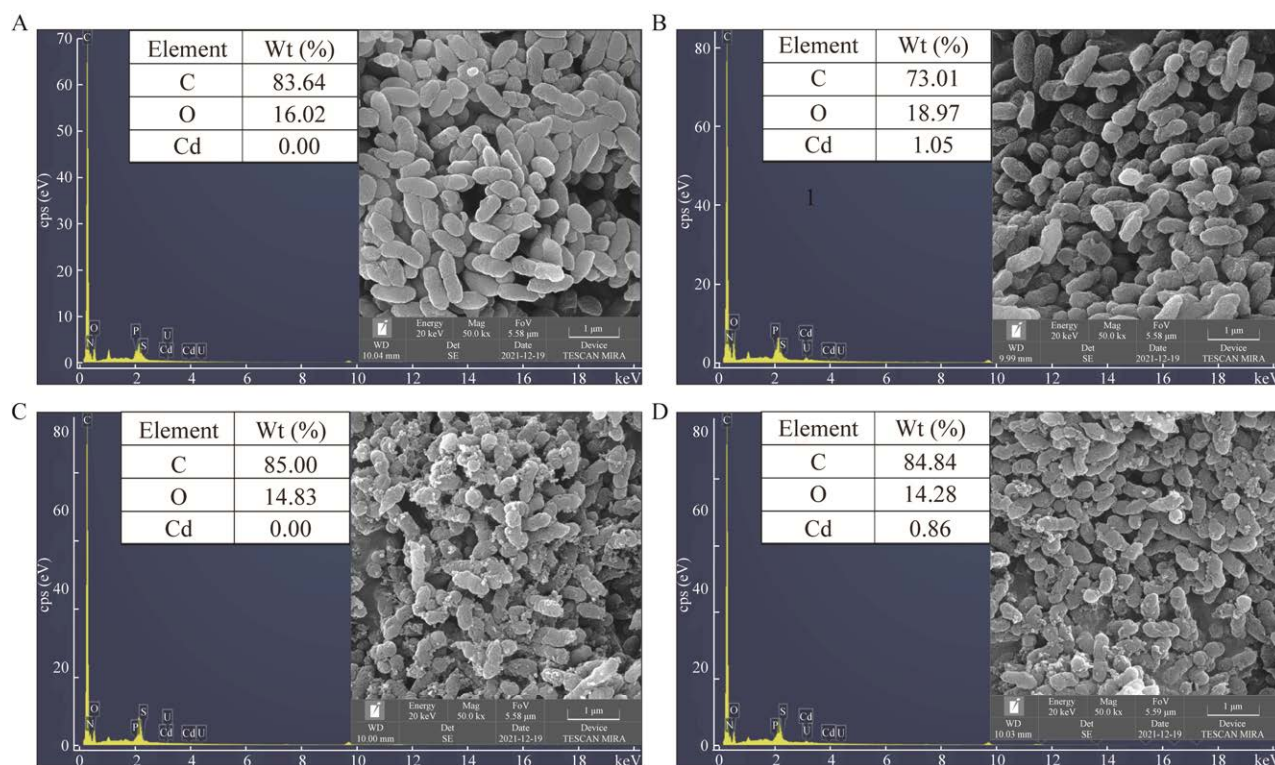


图 4 YF1 活菌和死菌吸附前后的 SEM-EDS 图 A: 活菌吸附前. B: 活菌吸附后. C: 死菌吸附前. D: 死菌吸附后

Figure 4 SEM-EDS images before and after cadmium adsorption by YF1 live and dead cells. A: Before adsorption by live cells. B: After adsorption by live cells. C: Before adsorption by dead cells. D: After adsorption by dead cells.

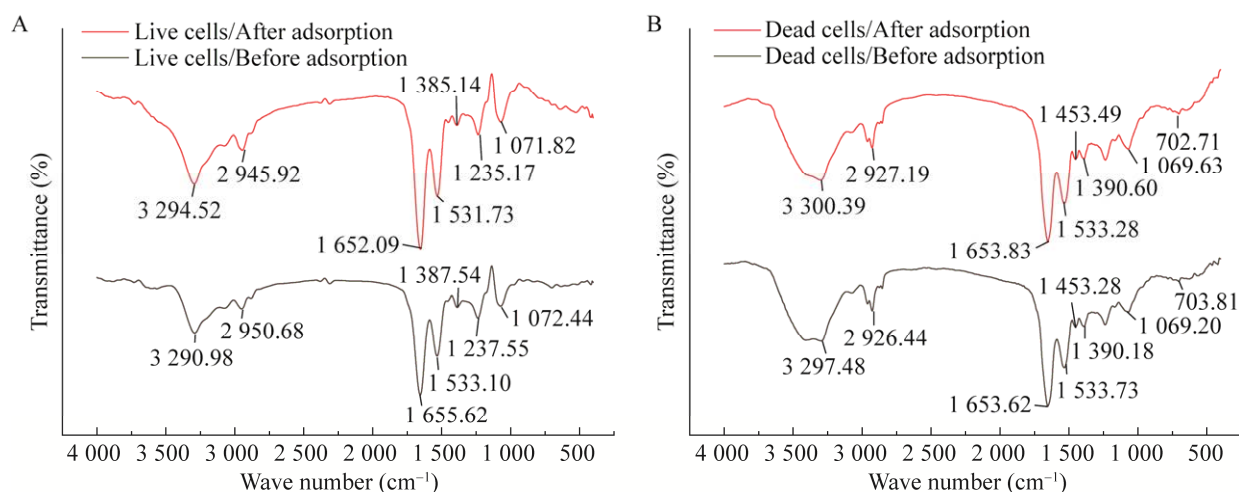


图 5 YF1 活菌(A)和死菌(B)吸附前后红外光谱图

Figure 5 Infrared spectra before and after adsorption by YF1 live (A) and dead cells (B).

表 4 YF1 活菌吸附 Cd^{2+} 前波峰对应的官能团Table 4 Functional groups corresponding to the wave peaks before and after the adsorption of Cd^{2+} by the YF1 live cells

波数 Wave number (cm^{-1})	化学键 Chemical bonds	主要物质 Main substances	参考文献 References
3 290.98	-OH	糖类 Sugars	[29]
2 950.68	-CH ₂	烷基链 Alkyl chains	[30]
1 655.62	N-C=O	酰胺 I 带 Amide I band	[31]
1 533.10	C-NH	酰胺 II 带 Amide II band	[32]
1 387.54	-COOH	羧酸、羧酸盐 Carboxylic acids, carboxylates	[33]
1 237.55	P=O str (asym) of PO_2^-	核酸 Nucleic acid	[34]
1 072.44	P=O str (sym) of PO_2^-	核酸 Nucleic acid	[35]

峰主要是-COOH^[33], 吸附后位移至 $1\,385.14\text{ cm}^{-1}$; 吸附前 $1\,237.55\text{ cm}^{-1}$ 的峰代表着核酸中 PO_2^- 的不对称振动^[34], 吸附后位移至 $1\,235.17\text{ cm}^{-1}$ 处; 吸附前 $1\,072.44\text{ cm}^{-1}$ 的峰代表着核酸中 PO_2^- 的对称振动^[35], 吸附后位移至 $1\,071.82\text{ cm}^{-1}$ 。从图 5B 死菌吸附镉前后的变化可以看出, 死菌吸附镉前后的基团峰移动变化不大, 变化稍大的是-OH 的峰(从 $3\,297.48\text{ cm}^{-1}$ 到 $3\,300.39\text{ cm}^{-1}$)。

2.6 XPS 分析

检测了吸附前后 YF1 活菌表面 C、N、O 等元素的峰谱(图 6A-6F), 活菌吸附前 C 1 s 峰

谱图拟合后得到 3 个峰(图 6A), 对应峰的结合能分别为 285.23、286.73 和 288.07 eV, 所代表的成分分别为 C-(O,N)、C=O/O-C-O、-COOH^[33], 吸附后对应峰的结合能分别为 285.54、286.47 和 289.07 eV(图 6B), 活菌吸附前 N 1 s 峰谱图拟合后得到 1 个峰(图 6C), 对应峰的结合能为 401.35 eV, 所代表的成分为 $-\text{NH}_3^+$, 吸附后 N 1 s 峰谱图拟合后得到 2 个峰(图 6D), 结合能分别为 401.79、407.25 eV, 所代表的成分分别为 $-\text{NH}_3^+$ 、 $-\text{NO}_2$ ^[30], 活菌吸附前 O 1 s 峰谱图拟合后得到 2 个峰(图 6E), 对应

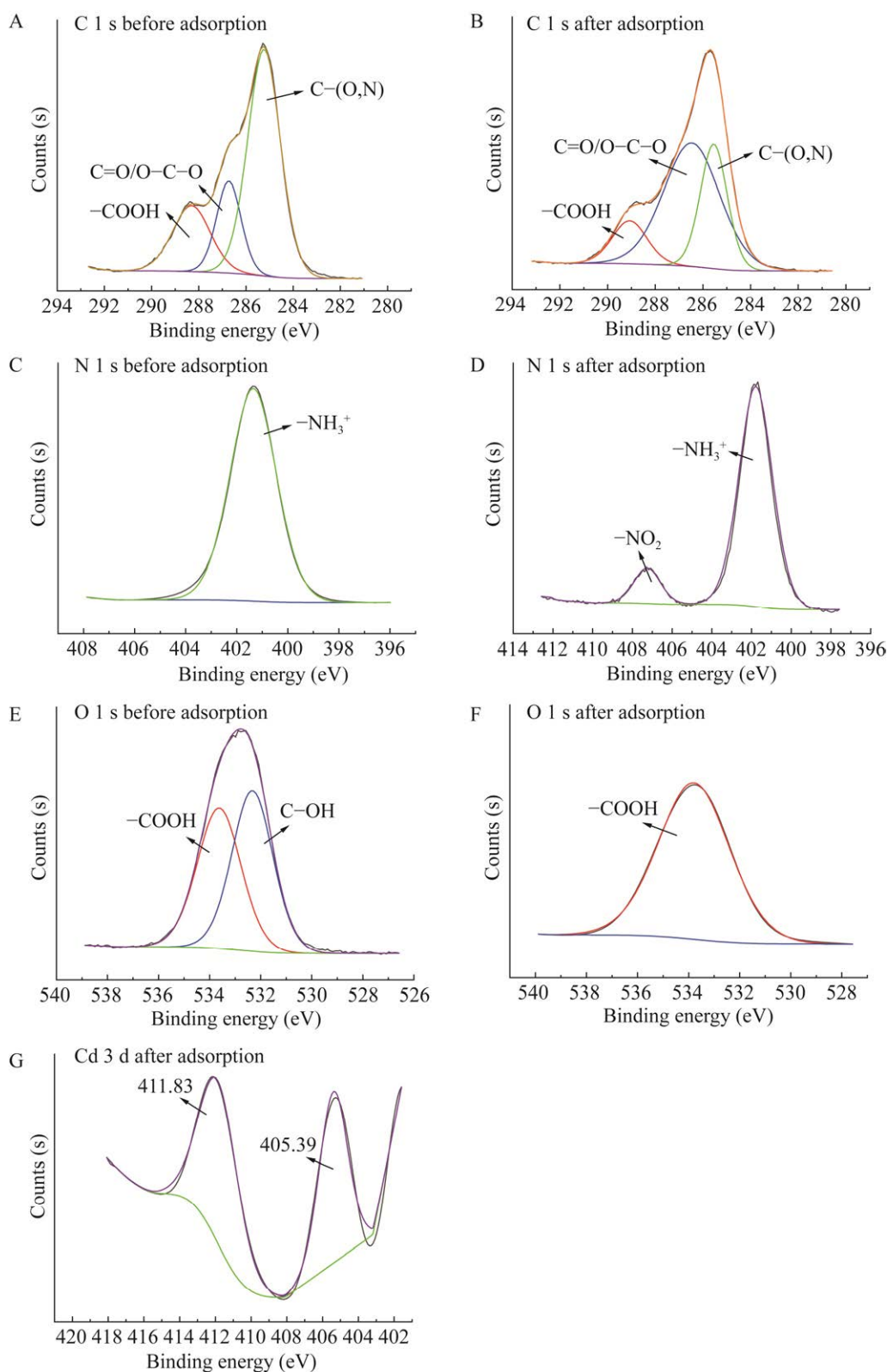


图 6 YF1 活菌吸附前后主要元素 XPS 峰谱图

Figure 6 XPS peak spectra of major elements before and after adsorption by YF1 live cells.

峰位分别为 532.32 eV 和 533.63 eV, 所代表的成分分别为 C-OH 和 -COOH^[33,36], 吸附后 O 1 s 峰谱图拟合后得到 1 个峰(图 6F)对应峰位为 533.79 eV, 所代表的成分为 -COOH^[33,36], 吸附后的菌体表面还检测到了 Cd 元素的峰谱(图 6G), 拟合后 Cd 3 d 的峰位为 405.39 eV 和 411.83 eV, 分别对应 Cd 3 d_{5/2} 和 Cd 3 d_{3/2}, 吸附后 Cd²⁺的价态没有发生改变^[24,37-39]。

吸附前后 YF1 死菌表面也检测到了 C、N、O 等元素的峰谱(图 7A-7F), 死菌吸附前后的 C 1 s 峰谱图拟合均有 3 个峰(图 7A、7B), 所代表的成分分别为 C-(C,H)、C-(O,N)、-COOH^[33], 吸附后较吸附前结合能分别移动了 0.37、0.99 和 0.19 eV。吸附前后 N 1 s 峰谱图拟合后均有 2 个峰(图 7C、7D), 吸附前 N 1 s 峰谱图峰位所代表的成分分别为 N-C=O 和 -NH₃⁺, 吸附后 N 1 s 峰谱图峰位所代表的成分分别为 N-C=O^[40]和 -NO₂^[30]。吸附前后 O 1 s 峰谱图拟合后均有 2 个峰(图 7E、7F), 所代表的成分分别为 C-OH 和 C-O^[30](图 7B)。拟合后 Cd 3 d 的峰位为 405.27 eV、411.89 eV, 镉在 YF1 菌表面的吸附价态是 Cd(II)^[24,39]。

3 讨论与结论

本研究首先探讨了 *Sphingopyxis* sp. YF1 吸附 Cd²⁺的特性。pH 是影响重金属吸附效果的重要因素。研究表明, 镉离子在酸性至中性的溶液中以二价阳离子形式存在, 因此镉的价态不是 pH 影响重金属镉吸附效果的原因^[41]。当 pH 值较低时, YF1 菌对 Cd²⁺的吸附量较低, 这可能是由于此时溶液 pH 接近微生物的等电点, 因此微生物细胞表面带负电较少, 或者溶液中 H⁺与 Cd²⁺竞争生物吸附位点^[40,42]。随着 pH 值增加, 菌体表面负电荷增加, 增强了对 Cd²⁺的静电吸附作用。吸附初始阶段吸附快的主要

原因是 YF1 菌体表面有足够的可吸附位点, 并且此时溶液与细胞表面的离子浓度梯度较高, 有利于重金属离子向细胞表面迁移。随着时间的增加, 菌体表面的吸附位点逐渐达到饱和状态, 从而吸附速率降低。在试验时间内, YF1 对 Cd²⁺的吸附动力学符合准二级动力学模型, 准二级动力学模型与化学吸附假设有关^[43-44], 因此 YF1 菌吸附 Cd²⁺的限速步骤主要是化学吸附过程, Cd²⁺可以与 YF1 菌表面的官能团相互作用而被吸附在表面, 也可以通过与细菌间的静电引力被吸附在细菌表面^[45]。活菌和死菌吸附 Cd²⁺的数据更符合 Langmuir 模型, Langmuir 用于描述单层均质表面的吸附, 因此可认为 YF1 对 Cd²⁺的吸附为均相吸附^[46]。与其他菌对 Cd²⁺的最大吸附能力相比(表 3), YF1 活菌和死菌均表现出较强的吸附能力, 尤其是死菌的最大吸附量达到 62.98 mg/g。本研究的结果表明菌株 YF1 具有较强的去除水中镉污染的潜力。

通过 SEM-EDS 的分析不仅可以用来验证重金属 Cd²⁺是否被 YF1 菌体吸附在细胞表面, 还可以用来观察重金属 Cd²⁺对菌体表面形态改变的影响。结果表明, 吸附后活菌和死菌表面均有镉的吸附, 活菌吸附镉后的表面形态改变反映了镉胁迫对 YF1 菌体形态上的影响, 可能菌体受到外界镉浓度的刺激, 使细菌分泌胞外聚合物来保护自身免受伤害^[47]。

Sphingopyxis 为革兰氏阴性菌, 其细胞壁含有糖类(如肽聚糖、脂多糖)、蛋白质(如外膜蛋白)等成分, 细菌还会分泌胞外聚合物, 其成分包括多糖、蛋白质、核酸、腐殖酸, 糖醛酸等物质^[41,48]。红外光谱峰位置的移动表明基团参与了 Cd²⁺的吸附, 活菌有 -OH、-CH₂、N-C=O、C-NH、-COOH 核酸的 PO₂⁻参与了吸附, 由此可看出活菌主要依靠糖类、蛋白质、羧酸和核酸吸附镉。死菌吸附镉后红外光谱主要是

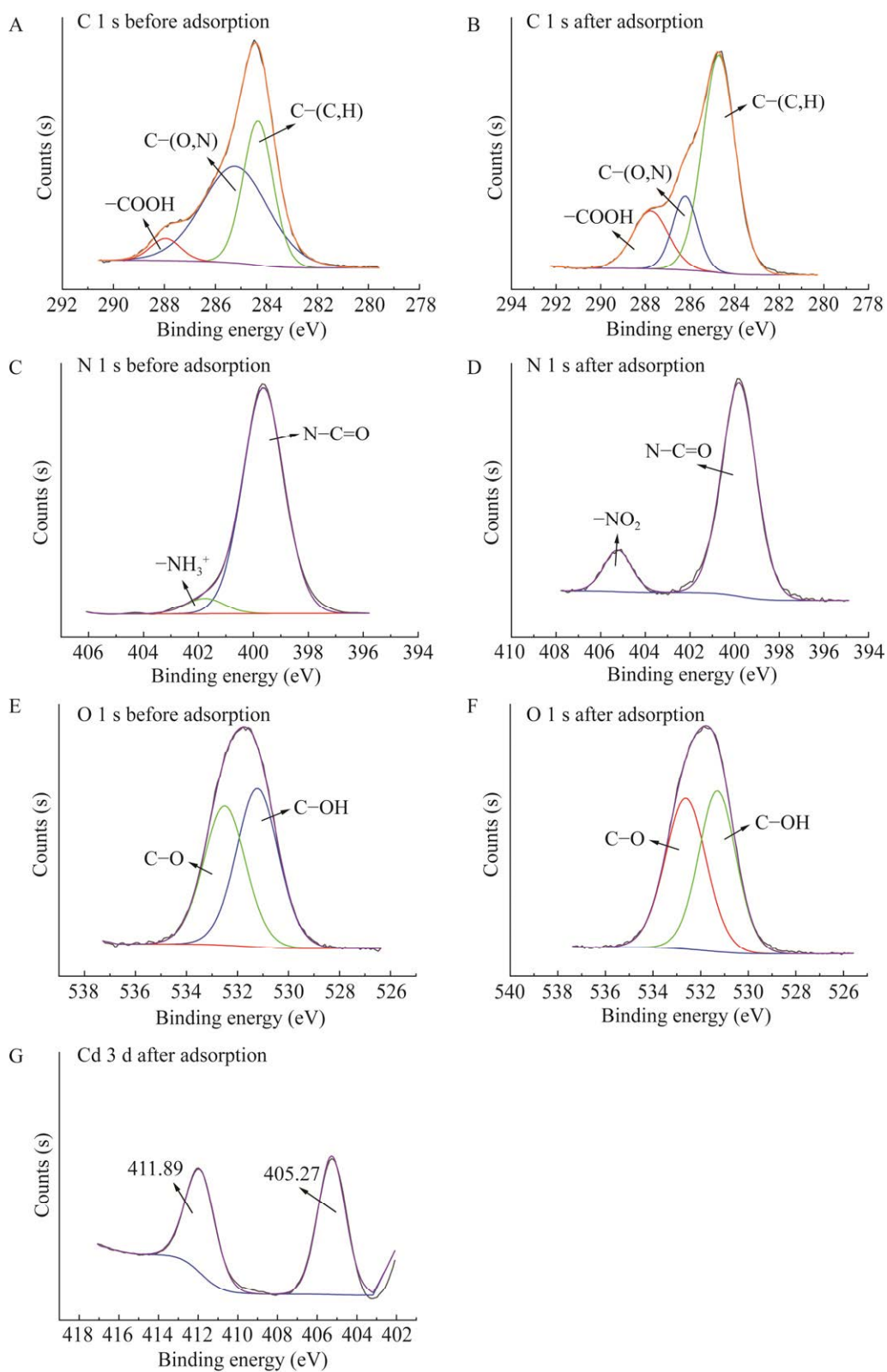


图 7 YF1 死菌吸附前后主要元素 XPS 峰谱图

Figure 7 XPS peak spectra of major elements before and after cadmium adsorption by YF1 dead cells.

3 297.48 cm^{-1} 处峰的变化, 可能是菌体-OH 键造成的^[29], 表明死菌主要依靠细胞表面的糖类蛋白质和羧酸吸附 Cd^{2+} 。

由 XPS 结果可知, YF1 吸附镉前后的 C 1 s 对应峰面积变化均较大, 说明基团在吸附过程中参与了吸附。活菌吸附镉前后对比, 活菌吸附镉后新出现了 $-\text{NO}_2$, $-\text{NO}_2$ 可能通过络合作用吸附 Cd^{2+} ^[30]; 活菌吸附镉后少了 C-OH 基团, $-\text{COOH}$ 基团的峰面积明显增大, 推测吸附过程中细胞壁上的 C-OH 还原性基团可以与 Cd(II) 络合形成沉淀, 或者在细胞内氧化酶的作用下生成了 $-\text{COOH}$ 基团。结果表明活菌表面有 C-(O,N)、C=O/O-C-O、 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{NO}_2$ 等基团参与吸附过程。死菌吸附镉中还原基团 C-OH 的存在可以与 Cd^{2+} 形成沉淀或者提供质子促进 $\text{CO}-\text{Cd}^{2+}$ 络合物形成^[49], 结果表明死菌表面有 C-(C,H)、C-(O,N)、 $-\text{COOH}$ 、N-C=O、 $-\text{NO}_2$ 、C-OH 和 C-O 等基团参与吸附过程。活菌和死菌吸附镉过程均涉及络合反应, Cd^{2+} 的价态吸附前后未发生改变。活菌和死菌参与吸附镉的机制有所差异, 两者均有 C-(O,N)、 $-\text{NO}_2$ 和 $-\text{COOH}$ 基团参与, 但活菌还有 C=O/O-C-O 参与吸附, 死菌有 C-(C,H)、N-C=O、C-OH 和 C-O 基团参与吸附过程, 这可能与死菌在高压过程中细胞表面破裂、结构发生改变, 胞内内容物溢出有关。*Sphingopyxis* sp. YF1 与其他细菌吸附镉的机制有相似之处, 如酰胺I带、磷酸基团和氨基等都参与了吸附^[41], 但也有明显不同之处, 如活菌吸附镉过程中, C-OH 可能会被氧化生成 $-\text{COOH}$, 说明 YF1 吸附镉的过程还涉及氧化还原反应。此外, 活菌和死菌吸附镉的过程中均出现了 $-\text{NO}_2$, 据我们所知, 目前仅有 1 篇文献报道了在 Zn^{2+} 的生物吸附过程中出现了 $-\text{NO}_2$, 该基团可能是氨基氧化产生的, 但是其产生的机制还有待进一步研究^[30]。

前期研究显示, *Sphingopyxis* sp. YF1 能够降解水体中的藻毒素^[21]; 本研究的结果表明, YF1 具有较强的镉吸附效果, 而且在实际环境中, 各种污染物不是孤立存在的, 如重金属和有机物污染物往往共存, 且对其复合污染的去除了受到了广泛的关注。尤其利用固定化微生物技术将 YF1 固定在选证的载体上治理实际水体中重金属污染以及去除重金属与藻毒素等复合污染物具有重要的意义。

REFERENCES

- [1] KUMAR V, PARIHAR RD, SHARMA A, BAKSHI P, SINGH SIDHU GP, BALI AS, KARAOUZAS I, BHARDWAJ R, THUKRAL AK, GYASI-AGYEI Y, RODRIGO-COMINOJ. Global evaluation of heavy metal content in surface water bodies: A meta-analysis using heavy metal pollution indices and multivariate statistical analyses[J]. Chemosphere, 2019, 236: 124364.
- [2] BIGALKE M, ULRICH A, REHMUS A, KELLER A. Accumulation of cadmium and uranium in arable soils in Switzerland[J]. Environmental Pollution, 2017, 221: 85-93.
- [3] KUBIER A, WILKIN RT, PICHLER T. Cadmium in soils and groundwater: a review[J]. Applied Geochemistry, 2019, 108: 104388.
- [4] LUO H, GU R, OUYANG H, WANG L, SHI S, JI Y, BAO B, LIAO G, XU B. Cadmium exposure induces osteoporosis through cellular senescence, associated with activation of NF- κ B pathway and mitochondrial dysfunction[J]. Environmental Pollution, 2021, 290: 118043.
- [5] TELFORD JN, THONEY ML, HOGUE DE, STOUFFER JR, BACHE CA, GUTENMANN WH, LISK DJ, BABISH JG, STOEWESAND GS. Toxicologic studies in growing sheep fed silage corn cultured on municipal sludge-amended acid subsoil[J]. Journal of Toxicology and Environmental Health, 1982, 10(1): 73-85.
- [6] YANG GL, ZHENG MM, TAN AJ, LIU YT, FENG D, LV SM. Research on the mechanisms of plant enrichment and detoxification of cadmium[J]. Biology, 2021, 10(6): 544.
- [7] BARN P, GOMBOJAV E, OCHIR C, BOLDBAATAR

- B, BEEJIN B, NAIDAN G, GALSUREN J, LEGTSEG B, BYAMBAA T, HUTCHEON JA, JANES C, JANSSEN PA, LANPHEAR BP, MCCANDLESS LC, TAKARO TK, VENNERS SA, WEBSTER GM, PALMER CD, PARSONS PJ, ALLEN RW. Coal smoke, gestational cadmium exposure, and fetal growth[J]. *Environmental Research*, 2019, 179(Part B): 108830.
- [8] WANG M, CHEN ZF, SONG W, HONG DZ, HUANG L, LI YH. A review on cadmium exposure in the population and intervention strategies against cadmium toxicity[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2021, 106(1): 65-74.
- [9] 牛耀岚, 吴曼菲, 胡湛波. 吸附法处理水体重金属污染的研究进展[J]. *华北水利水电大学学报(自然科学版)*, 2019, 40(2): 46-51.
- NIU YL, WU MF, HU ZB. Research progress on the treatment of heavy metal pollution in water by adsorption[J]. *Journal of North China University of Water Resources and Electric Power (Natural Science Edition)*, 2019, 40(2): 46-51 (in Chinese).
- [10] BENI AA, ESMAEILI A. Biosorption, an efficient method for removing heavy metals from industrial effluents: a review[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2020, 17: 100503.
- [11] HUANG HJ, JIA QY, JING WX, DAHMS HU, WANG L. Screening strains for microbial biosorption technology of cadmium[J]. *Chemosphere*, 2020, 251: 126428.
- [12] LI J, LIU YR, ZHANG LM, HE JZ. Sorption mechanism and distribution of cadmium by different microbial species[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 237: 552-559.
- [13] SHARMA M, KHURANA H, SINGH DN, NEGI RK. The genus *Sphingopyxis*: systematics, ecology, and bioremediation potential-a review[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 280: 111744.
- [14] WU P, LI GY, HE YF, LUO D, LI L, GUO J, DING P, YANG F. High-efficient and sustainable biodegradation of microcystin-LR using *Sphingopyxis* sp. YF1 immobilized Fe₃O₄@chitosan[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2020, 185: 110633.
- [15] XU QQ, MA HF, FAN JH, YAN H, ZHANG HY, YIN CH, LIU XL, LIU Y, WANG HS. Cloning and expression of genes for biodegrading nodularin by *Sphingopyxis* sp. USTB-05[J]. *Toxins (Basel)*, 2019, 11(10): 549.
- [16] CHEN PP, ZHANG FP, ZHANG LJ, LIU H, ZHANG Q, XING ZL, ZHAO TT. Characterization of a novel salt-tolerant strain *Sphingopyxis* sp. CY-10 capable of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 358: 127353.
- [17] FENG N, YANG F, YAN H, YIN CH, LIU XL, ZHANG HY, XU QQ, LV L, WANG HS. Pathway for biodegrading nodularin (NOD) by *Sphingopyxis* sp. USTB-05[J]. *Toxins (Basel)*, 2016, 8(5): 116.
- [18] VERMA H, DHINGRA GG, SHARMA M, GUPTA V, NEGI RK, SINGH Y, LAL R. Comparative genomics of *Sphingopyxis* spp. unravelled functional attributes[J]. *Genomics*, 2020, 112(2): 1956-1969.
- [19] LIANG JS, BAI YH, HU CZ, QU JH. Cooperative Mn(II) oxidation between two bacterial strains in an aquatic environment[J]. *Water Research*, 2016, 89: 252-260.
- [20] LIANG JS, BAI YH, QU JH. Microbial interspecies interactions affect arsenic fate in the presence of Mn^{II}[J]. *Microbial Ecology*, 2017, 74(4): 788-794.
- [21] YANG F, HUANG FY, FENG H, WEI J, MASSEY IY, LIANG GY, ZHANG F, YIN LH, KACEW S, ZHANG X, PU YP. A complete route for biodegradation of potentially carcinogenic cyanotoxin microcystin-LR in a novel indigenous bacterium[J]. *Water Research*, 2020, 174: 115638.
- [22] ZHOU WZ, LIU DS, ZHANG HO, KONG WQ, ZHANG YZ. Bioremoval and recovery of Cd(II) by *Pseudoalteromonas* sp. SCSE709-6: Comparative study on growing and grown cells[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 165: 145-151.
- [23] PENG TJ, LIAO WQ, GU GH, QIU GZ, WU XL, YANG F, ZENG WM. Insights into the role of extracellular DNA in heavy metal adsorption[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 808: 152067.
- [24] LUO YX, LIAO M, ZHANG YH, XU N, XIE XM, FAN QY. Cadmium resistance, microbial biosorptive performance and mechanisms of a novel biocontrol bacterium *Paenibacillus* sp. LYX-1[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(45): 68692-68706.
- [25] HUANG F, DANG Z, GUO CL, LU GN, GU RR, LIU HJ, ZHANG H. Biosorption of Cd(II) by live and dead cells of *Bacillus cereus* RC-1 isolated from cadmium-contaminated soil[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 107: 11-18.
- [26] ZHU W, XU XJ, XIA L, HUANG QY, CHEN WL. Comparative analysis of mechanisms of Cd²⁺ and Ni²⁺ biosorption by living and nonliving *Mucoromycote* sp.

- XLC[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2016, 33(3/4): 274-282.
- [27] LU WB, SHI JJ, WANG CH, CHANG JS. Biosorption of lead, copper and cadmium by an indigenous isolate *Enterobacter* sp. J1 possessing high heavy-metal resistance[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2006, 134(1/3): 80-86.
- [28] DIRBAZ M, ROOSTA A. Adsorption, kinetic and thermodynamic studies for the biosorption of cadmium onto microalgae *Parachlorella* sp.[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2018, 6(2): 2302-2309.
- [29] KIM SY, JIN MR, CHUNG CH, YUN YS, JAHNG KY, YU KY. Biosorption of cationic basic dye and cadmium by the novel biosorbent *Bacillus catenulatus* JB-022 strain[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2015, 119(4): 433-439.
- [30] DING PF, SONG WF, YANG ZH, JIAN JY. Influence of Zn(II) stress-induction on component variation and sorption performance of extracellular polymeric substances (EPS) from *Bacillus vallismortis*[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2018, 41(6): 781-791.
- [31] 李卓阳, 曹苗苗, 周登博, 王尉, 戚春林, 谢江辉. 高耐镉细菌 *Burkholderia* sp. DF3-1 对镉的吸附特性及机理[J]. *热带作物学报*, 2022, 43(3): 589-596.
- LI ZY, CAO MM, ZHOU DB, WANG W, QI CL, XIE JH. Adsorption characteristics and mechanism of high cadmium-tolerant bacteria *Burkholderia* sp. DF3-1 to cadmium[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2022, 43(3): 589-596 (in Chinese).
- [32] WON SW, MAO J, KWAK IS, SATHISHKUMAR M, YUN YS. Platinum recovery from ICP wastewater by a combined method of biosorption and incineration[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(4): 1135-1140.
- [33] SUN XF, WANG SG, ZHANG XM, CHEN JP, LI XM, GAO BY, MA Y. Spectroscopic study of Zn²⁺ and Co²⁺ binding to extracellular polymeric substances (EPS) from aerobic granules[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2009, 335(1): 11-17.
- [34] HAN YH, HAN LJ, YAO YM, LI YF, LIU X. Key factors in FTIR spectroscopic analysis of DNA: the sampling technique, pretreatment temperature and sample concentration[J]. *Analytical Methods*, 2018, 10(21): 2436-2443.
- [35] MAQUELIN K, KIRSCHNER C, CHOO-SMITH L-P, VAN DEN BRAAK N, ENDTZ HP, NAUMANN D, PUPPELS G. Identification of medically relevant microorganisms by vibrational spectroscopy[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2002, 51(3): 255-271.
- [36] AHMED W, MEHMOOD S, NUNEZ-DELGADO A, ALI S, QASWAR M, KHAN ZH, YING H, CHEN DY. Utilization of *Citrullus lanatus* L. seeds to synthesize a novel MnFe₂O₄-biochar adsorbent for the removal of U(VI) from wastewater: Insights and comparison between modified and raw biochar[J]. *Science of Total Environment*, 2021, 771: 144955.
- [37] PENG L, ZENG QR, TIE B, LEI M, YANG J, LUO S, SONG ZG. Manganese dioxide nanosheet suspension: a novel adsorbent for Cadmium(II) contamination in waterbody[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2015, 456: 108-115.
- [38] 吴迪, 江敏, 吴昊, 吴思雅, 许杰尧, 于忠利, 陈薇. 虾壳生物炭对水中重金属 Pb(II)和 Cd(II)的竞争吸附特性及机理研究[J]. *环境污染与防治*, 2022, 44(7): 873-878.
- WU D, JIANG M, WU H, WU SY, XU JY, YU ZL, CHEN W. Competitive adsorption characteristics and mechanisms of Pb(II) and Cd(II) in water by shrimp shell biochar[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2022, 44(7): 873-878 (in Chinese).
- [39] YUAN FH, SONG C, SUN XF, TAN LR, WANG YK, WANG SG. Adsorption of Cd(II) from aqueous solution by biogenic selenium nanoparticles[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(18): 15201-15209.
- [40] DENG JQ, LIU YG, LIU SB, ZENG GM, TAN XF, HUANG BY, TANG XJ, WANG SF, HUA Q, YAN ZL. Competitive adsorption of Pb(II), Cd(II) and Cu(II) onto chitosan-pyromellitic dianhydride modified biochar[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2017, 506: 355-364.
- [41] COMTE S, GUIBAUD G, BAUDU M. Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) towards Cd, Cu and Pb for different pH values[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 151(1): 185-193.
- [42] 黄飞. 蜡状芽孢杆菌对水体中镉的吸附特性与机理研究[D]. 广州: 华南理工大学博士学位论文, 2013.
- HUANG F. Study on the removal of Cd(II) from aqueous solutions by *Bacillus cereus* RC-1: biosorption characteristics and mechanism[D]. Guangzhou: Doctoral Dissertation of South China University of Technology, 2013 (in Chinese).
- [43] LI Y, CHEN YY, YANG SG, TIAN WM. Cloning and characterization of *HbMT2a*, a metallothionein gene from *Hevea brasiliensis* Muell. Arg differently responds to abiotic stress and heavy metals[J].

- Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 461(1): 95-101.
- [44] 张蓉蓉. 三种典型土壤胶体与耐性细菌对镉铅的吸附解吸特性研究[D]. 南宁: 广西大学硕士学位论文, 2020.
- ZHANG RR. Adsorption and desorption of cadmium and lead by three typical soil colloids and tolerance bacteria[D]. Nanning: Master's Thesis of Guangxi University, 2020 (in Chinese).
- [45] 李兰松. 重金属吸附菌的选育、吸附特性和机理研究[D]. 太原: 太原理工大学博士学位论文, 2016.
- LI LS. Breeding, biosorption characters and mechanism of heavy metal biosorptive bacteria[D]. Taiyuan: Doctoral Dissertation of Taiyuan University of Technology, 2016 (in Chinese).
- [46] GHOSAL PS, GUPTA AK. Development of a generalized adsorption isotherm model at solid-liquid interface: a novel approach[J]. Journal of Molecular Liquids, 2017, 240: 21-24.
- [47] 陈宇婷, 盛光遥, 谢康颖, 白金龙, 姜晶, 何岸飞, 丁静. 枯草芽孢杆菌耐镉能力驯化及镉吸附特性研究[J]. 工业水处理, 2021, 41(2): 97-102.
- CHEN YT, SHENG GY, XIE KY, BAI JL, JIANG J, HE AF, DING J. Acclimation of cadmium tolerance and cadmium adsorption characteristics of *Bacillus subtilis*[J]. Industrial Water Treatment, 2021, 41(2): 97-102 (in Chinese).
- [48] LI WW, YU HQ. Insight into the roles of microbial extracellular polymer substances in metal biosorption[J]. Bioresource Technology, 2014, 160: 15-23.
- [49] HO SH, CHEN YD, YANG ZK, NAGARAJAN D, CHANG JS, REN NQ. High-efficiency removal of lead from wastewater by biochar derived from anaerobic digestion sludge[J]. Bioresource Technology, 2017, 246: 142-149.