

微生物吸附重金属离子机理研究进展

刘磊^{1,2,3}, 宋文成² (1. 安徽职业技术学院环境与化工学院, 安徽合肥 230011; 2. 中国科学院合肥物质科学研究院医学物理技术中心, 安徽合肥 230031; 3. 中国科学技术大学, 安徽合肥 230026)

摘要 综述了微生物吸附重金属离子的作用机理, 包括胞外沉淀作用、菌体表面吸附与络合效应、静电结合作用、离子交换型吸附、氧化还原、微沉积作用、胞内累积效应。

关键词 微生物吸附; 金属离子; 吸附机理

中图分类号 X172 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)05-0015-03

Research Advance in the Mechanism of Microbial Adsorption of Heavy Metal Ions

LIU Lei^{1,2,3}, SONG Wen-cheng² (1. Dept. of Chemical Engineering, Anhui Vocational and Technical College, Hefei, Anhui 230011; 2. Center of Medical Physics and Technology, Hefei Institute of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei, Anhui 230031; 3. University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui 230026)

Abstract The mechanism of microbial adsorption of heavy metal ions was reviewed, including extracellular precipitation, surface adsorption and complexation, electrostatic binding, ion exchange adsorption, redox, micro deposition and intracellular accumulation.

Key words Microbial adsorption; Metal ions; The adsorption mechanism

生物吸附被定义为在溶液中利用生物材料, 使大量重金属离子被富集, 从而去除金属、混合物及微粒物质的方法^[1-2]。重金属污染已经构成最严重的环境污染之一, 各种工业(如采矿、冶炼金属、电镀、化学农药的使用等)产生的废弃物中大量重金属被排放到环境中, 对人体健康、生态环境构成很大威胁^[3-4]。

从溶液中去掉重金属离子的方法很多, 主要有物理、化学及生物方法, 常规方法如化学沉淀、膜过滤、离子交换及电化等, 如果溶液中金属离子浓度过低, 化学沉淀在去除金属离子时, 需要消耗大量化学试剂, 因此重金属离子在低浓度时, 化学沉淀的方法不适用。近些年, 利用微生物菌体作为吸附剂对金属离子进行吸附, 引起了广泛关注, 对真菌、酵母菌及细菌进行筛选分离、富集培养, 然后利用其吸附作用去除废水中重金属离子。如常用黑曲霉属真菌进行重金属离子吸附^[5-7]。相关研究表明, 活体微生物菌体可以吸附重金属离子, 然而许多无活性的死菌体也具有较好的吸附效果。活体微生物在吸附重金属离子的过程中, 需要依赖新陈代谢, 同时对重金属具有一定的抗逆性, 活体微生物通过分泌胞外产物与重金属离子结合, 从而降低重金属离子的危害。因此, 很多活体微生物吸附量没有灭活的菌体高。微生物菌体与重金属离子之间的相互作用研究也是非常重要的, 为了提高吸附量效率, 需要对微生物吸附的机理进行探讨, 该研究主要综述了微生物吸附机理的几种类型。

1 胞外沉淀作用

在外部环境的作用下, 许多微生物菌体能够分泌黏性的胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS), 其主要成分是蛋白质、脂类等, 富含带负电荷的官能团(如羧基、羟基等)可与重金属发生沉淀作用或者络合作用。Kurek等^[8]研究发现, 一些细菌在生长过程中, 释放出一定量的蛋白质,

与溶液中可溶性离子(Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 等)形成不溶性的沉淀, 从而去除重金属离子。Suh等^[9]研究发现, 当出芽短梗霉菌(*Aureobasidium pullulans*)分泌EPS时, Pb^{2+} 积累在整个菌体细胞的表面, 且随着菌体存活时间的延长, EPS分泌量增多, 吸附在细胞表面的 Pb^{2+} 水平也有较大提高, 把菌体分泌的EPS分离提取出来后, 导致 Pb^{2+} 积累量显著减少。Loaëc等^[10]也通过试验研究表明, 异养菌(*Alteromonas macleodii* subsp.)的EPS对 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 均有良好的吸附能力。

EPS作为含水凝聚基质, 可将体系中的微生物黏结聚集在一起发挥作用。EPS也是生物膜的主要成分之一, 常用在污泥或者生物膜法处理重金属废水的过程中, EPS主要包括以下几个方面作用: ①絮凝捕获重金属离子; ②EPS可以与重金属离子形成离子键; ③促进细胞对重金属离子的富集与积累。

2 菌体表面吸附与络合效应

络合作用是重金属离子与菌体细胞壁的某些成分以配位键形成复合物的过程, 螯合作用是1个配基与2个或者2个以上的配位原子与重金属结合形成具有环状络合物的过程。络合作用和螯合作用是微生物吸附剂与重金属离子重要的结合方式。微生物菌体细胞与重金属离子接触的过程中, 首先接触的是细胞壁, 细胞壁的化学成分及结构非常关键, 决定与重金属离子相互作用的特性。大量研究表明, 某些微生物的细胞壁表面富含可以与重金属离子成键的活性基团, 如羧基、羟基、羰基等, 其中氧、氮、磷、硫可作为配位原子与重金属离子配位络合。有研究结果表明, 从枯草芽孢杆菌分离出来的细胞壁, 可以从低浓度的水溶液中络合大量的 Fe^{3+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 和少量的 Pb^{2+} 、 Ag^{+} 。Manasi等^[11]利用1株筛选分离获得的盐单胞菌处理电子工业中富含 Cd^{2+} 废水, 结果表明, 细胞表面的羟基、氨基和羧基是菌体吸附重金属的主要官能团, 且通过多种生化技术分析发现, 金属离子结合到菌体表面后, 同时也改变细胞表面的微观形态^[12-13]。另外, 也有文献报道, 指状青霉(*Penicillium digitatum*)对铀的

作者简介 刘磊(1985—), 男, 安徽五河人, 讲师, 博士, 从事应用微生物研究。

收稿日期 2017-12-07

吸附不受外界 pH 的影响,显然铀是以较为专性吸附的方式吸附在菌丝表面,通过 X 射线衍射及扫描电子显微镜观察发现,铀主要吸附在根霉的细胞壁上^[14],而大量铀结合的化合物主要存在于青霉的细胞壁,或者在与细胞膜的孔隙中。

3 静电结合作用

大量研究结果表明,羟基、羧基和巯基可以提供电子,而使细胞壁表面呈电负性,从而能够吸附重金属阳离子。静电吸附已被证明是细菌(如生枝动胶菌, *Zoogloea ramigera*)、藻类(如普通小球藻^[15-16], *Chlorella vulgaris*)吸附铜、黑曲霉吸附铬、少量根霉(*Rhizopus arrhizus*)吸附 Cu、Ca、Pb 的主要原因^[17]。

真菌的细胞壁含有氨基己糖和蛋白质类物质。有研究结果表明,铬酸根阴离子在菌体细胞壁上大量吸附,导致氨基红外吸收峰强度显著降低,这使溶液呈酸性时,氨基大量解离,形成带正电荷的细胞壁表面,铬酸根阴离子通过静电作用吸附在细胞表面。根霉的无活性菌体对重金属阴离子的吸附作用主要依赖于溶液的 pH,因为该吸附过程是由于静电作用使重金属阴离子与带正电荷的官能团相互作用。

4 离子交换型吸附

重金属离子与微生物菌体之间相互作用,除了与细胞表面的活性基团形成共价键、静电作用外,还可以以离子交换的方式吸附于菌体表面。离子交换是指微生物菌体内的阳离子与溶液中的重金属离子发生交换,促使重金属离子被吸附运输或者结合到细胞上的过程,最后达到除去或者提取溶液中重金属离子的目的。菌体细胞与重金属离子之间的交换作用机理可通过菌体细胞吸附重金属离子过程中的交换规律而得到证实。离子交换规律根据不同菌种和生长条件而变化,生长条件改变可影响细胞上磷酸基和羧基的比例,从而影响微生物对不同金属离子的吸收,一般过渡金属优先被吸附。如根霉对 Co^{2+} 的生物吸附就是 Co^{2+} 、 Ca^{2+} 和 H^+ 发生离子交换的结果。Chen 等^[18-19]研究发现,在 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 单独存在的单一体系中,酿酒酵母对二者的吸附量几乎相等,只是达到平衡的时间不同。 Hg^{2+} 和 Pb^{2+} 共存的体系中, Pb^{2+} 的吸附受 Hg^{2+} 影响很大。

5 氧化还原

氧化还原反应存在于微生物菌体吸附过程中,这种作用机理主要与某些菌株所分泌的酶有关,在酶的催化下,菌体可以发生一些变价重金属的氧化还原反应,使重金属的溶解度降低或者毒性降低。如从恶臭假单胞菌 MK1 中分离并纯化的可溶性 Cr^{6+} 还原酶 ChrR,在还原 Cr^{6+} 的过程中,先催化一个电子转运,形成中间产物 Cr^{5+} 和 Cr^{4+} ,并进一步转运 2 个电子形成 Cr^{3+} ;而从大肠杆菌中提取的还原酶 YieF,其转运 4 个电子后直接将 Cr^{6+} 还原为 Cr^{3+} 。也有研究者从巨大芽孢杆菌 TKW3 中筛选分离出膜结合的 Cr^{6+} 还原酶。在厌氧条件下,可溶性酶和膜结合还原酶,均可催化 Cr^{6+} 还原为 Cr^{3+} ,这个过程中 Cr^{6+} 作为电子转运链中的电子受体,而且菌体的细胞色素类也参与此类氧化还原反应^[20]。

Furukawa 等^[21]研究发现,某些抗 Hg 的假单胞菌可产生

Hg 的离释酶,该酶在 NADPH 存在的情况下可将 Hg^{2+} 还原成 Hg。一般来说,氧化还原反应需要有代谢活性的细胞参与,但也有微生物死体细胞能吸附重金属离子,并将其还原为元素态的报道。Lloyd^[22]研究发现,脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)的无活性菌体细胞在没有其他辅助因子存在的条件下,能以丙酮酸、 CH_4 或 H_2 作为电子供体,使 Pd^{2+} 还原为 Pd。微生物对重金属还具有氧化作用,如假单胞菌(*Pseudomonas*)能使 As^{3+} 、 Fe^{2+} 等发生氧化。有关文献报道,大肠杆菌能将 Hg 蒸气氧化成 Hg^{2+} ,这主要与大肠杆菌能分泌过氧化氢酶类有关。另外,芽孢杆菌和链霉菌(*Streptomyces*)对 Hg 也有氧化作用,如氧化亚铁嗜酸硫杆菌的铜蓝蛋白可将 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} 。

6 微沉积作用

微沉积是重金属离子在微生物菌体细胞壁或胞内形成沉淀复合物的过程,有研究表明,产黄青霉菌体吸附 Pb 时,其中大部分被吸附的 Pb 沉积在菌体表面。Strandberg 等^[23-25]在研究酿酒酵母细胞对 U 的吸附时发现,U 沉积在酵母细胞表层,呈针状,这种沉积程度受到外界环境因素影响,同时这种沉积物还可用化学法进行洗脱,使酿酒酵母可以重复使用。重金属还能以磷酸盐、硫酸盐或者氢氧化物等形式在细胞壁或者细胞内沉积下来。Volesky 等^[26]用活性酵母吸附 Cd^{2+} ,通过分析发现, Cd^{2+} 是以磷酸盐的形式在细胞内发生沉淀,在酵母细胞的细胞壁上并未检测到磷酸盐沉淀物,而在细胞内的液泡中含有大量含 Cd 沉淀物。Scott 等^[27]研究发现,用一些节杆菌(*Arthrobacter*)和假单胞菌脱除 Cd 时,在细胞表面形成了 Cd 的沉淀物。

另外,菌体分泌的一些不溶性胞外分泌物也能与重金属结合,在菌体表面形成沉淀。

7 胞内累积效应

首先通过物理化学过程把重金属吸附到菌体细胞表面,然后依赖能量的转运体系再把金属运输到细胞内。有研究发现,芽孢杆菌对重离子态金的吸附过程中,金的吸附量与细胞的代谢有直接关系。另外一种螺旋藻(*Spirulina*)的活细胞在 pH 为 3~8 时,吸附金的量随 pH 的升高而增加,该藻类的活细胞吸附金的过程同样被抑制剂叠氮化钠抑制,说明藻类吸附金的过程是依赖能量进行转移过程。一般情况下,由活体微生物菌体吸附起作用,经转运穿过细胞壁、细胞膜进入细胞内部,从而重金属离子和一些微量难降解有机化合物分子可能被继续转运至一些亚细胞器进行沉淀,也可能转化为其他物质而形成生物积累。Vijver 等^[28]研究认为,重金属污染细胞内吸附机理主要有两大类型,一是合成独特的机体内含物,主要是磷酸酶的吸附颗粒;二是合成金属硫蛋白。金属硫蛋白富含半胱氨酸、组氨酸、谷氨酸等氨基酸残基,这使得金属硫蛋白与金属阳离子具有较高的结合容量。金属硫蛋白或者类似多肽的主要生理功能是储存、调节和解毒胞内的金属离子,在微生物治理重金属污染中具有广阔的应用前景。通过微生物菌体表达高容量金属结合蛋白,也可提高菌体对重金属离子的吸附结合效应^[29-30]。

参考文献

- [1] GADD G M. Interactions of fungi with toxic metals[J]. *Phytologist*, 1993, 124:25-60.
- [2] GADD G M, WHITE C. Removal of thorium from simulated acid process streams by fungal biomass: Potential for thorium desorption and reuse of biomass and desorbent[J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 1992, 55(1): 39-44.
- [3] WANG J L, CHEN C. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review[J]. *Biotechnology advances*, 2006, 24(5): 427-451.
- [4] BRADY D, ROSE P D, DUNCAN J R. The use of hollow fiber cross flow microfiltration in bioaccumulation and continuous removal of heavy metals from solution by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Biotechnol Bioeng*, 1994, 44(11): 1362-1366.
- [5] AKTHAR N, SASTRY S, MOHAN P M. Biosorption of silver ions by processed *Aspergillus niger* biomass[J]. *Biotechnol Lett*, 1995, 17(5): 551-556.
- [6] AWOFOLU O R, OKONKWO J O, VAN DER MERWE R R, et al. A new approach to chemical modification protocols of *Aspergillus niger* and sorption of lead ion by fungal species[J]. *Electron J Biotechnol*, 2006, 9(4): 340-348.
- [7] BAPAT P M, KUNDU S, WANGIKAR P P. An optimized method for *Aspergillus niger* spore production on natural carrier substrates[J]. *Biotechnol Prog*, 2003, 19(6): 1683-1688.
- [8] KUREK E, MAJEWSKA M. *In vitro* remobilization of Cd immobilized by fungal biomass[J]. *Geoderma*, 2004, 122(2/3/4): 235-246.
- [9] SUH J H, YUN J W, KIM D S, et al. Comparative study on Pb²⁺ accumulation between *Saccharomyces cerevisiae* and *Aureobasidium pullulans* by SEM (Scanning Electron Microscopy) and EDX (Energy Dispersive X-Ray) analyses[J]. *Journal of bioscience and bioengineering*, 1999, 87(1): 112-115.
- [10] LOAËC M, OLIER R, GUEZENNEC J. Uptake of lead, cadmium and zinc by a novel bacterial exopolysaccharide[J]. *Water research*, 1997, 31(5): 1171-1179.
- [11] MANASI, RAJESH V, KUMAR A S K, et al. Biosorption of cadmium using a novel bacterium isolated from an electronic industry effluent[J]. *Chemical engineering journal*, 2014, 235: 176-185.
- [12] FILIPOVIC-KOVACEVIC Ž, SIPOS L, BRISKI F. Biosorption of chromium, copper, nickel and zinc ions onto fungal pellets of *Aspergillus niger* 405 from aqueous solutions[J]. *Food Technol Biotechnol*, 2000, 38(3): 211-216.
- [13] BHAINSA K C, D'SOUZA S F. Biosorption of uranium(VI) by *Aspergillus fumigatus*[J]. *Biotechnology techniques*, 1999, 13(10): 695-699.
- [14] FOUREST E, CANAL C, ROUX J C. Improvement of heavy metal biosorption by mycelial dead biomasses (*Rhizopus arrhizus*, *Mucor miehei* and *Penicillium chrysogenum*): pH control and cationic activation[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 1994, 14(4): 325-332.
- [15] DAVIS T A, VOLESKY B, MUCCI A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae[J]. *Water Res*, 2003, 37(18): 4311-4330.
- [16] BRINZA L, DRING M J, GAVRILESCU M. Marine micro-and macro-algal species as biosorbents for heavy metals[J]. *Environ Eng Manage J*, 2007, 6(3): 237-251.
- [17] FIGUEIRA M M, VOLESKY B, CIMINELLI V S T, et al. Biosorption of metals in brown seaweed biomass[J]. *Water Res*, 2000, 34(1): 196-204.
- [18] CHEN C, WANG J L. Cation (K⁺, Mg²⁺, Na⁺, Ca²⁺) release during Zn (II) biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Huan jing ke xue*, 2006, 27(11): 2261-2267.
- [19] DOSTALEK P, PATZAK M, MATEJKA P. Influence of specific growth limitation on biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2004, 54(2/3): 203-207.
- [20] CHEUNGA K H, GU J D. Mechanism of hexavalent chromium detoxification by microorganisms and bioremediation application potential: A review[J]. *International biodeterioration & biodegradation*, 2007, 59(1): 8-15.
- [21] FURUKAWA K, TONOMURA K. Cytochrome *c* involved in the reductive decomposition of organic mercurials. Purification of cytochrome *c-I* from mercury-resistant *Pseudomonas* and reactivity of cytochromes *c* from various kinds of bacteria[J]. *Biochimica et biophysica acta*, 1973, 325(3): 413-423.
- [22] LLOYD J R. Microbial reduction of metals and radionuclides[J]. *FEMS Microbiology Review*, 2003, 27(2/3): 411-425.
- [23] STRANDBERG G W, SHUMATE S E, PARROTT J R. Microbial cells as biosorbents for heavy metals: Accumulation of uranium by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Applied and environmental microbiology*, 1981, 41(1): 237-245.
- [24] CHANG J S, LAW R, CHANG C C. Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21[J]. *Water research*, 1997, 31(7): 1651-1658.
- [25] CHEN X C, WANG Y P, LIN Q, et al. Biosorption of copper(II) and zinc (II) from aqueous solution by *Pseudomonas putida* CZ1[J]. *Colloid Surf B-Biointerfaces*, 2005, 46(2): 101-107.
- [26] VOLESKY B, MAY H, HOLAN Z R. Cadmium biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Biotechnology and bioengineering*, 1993, 41(8): 826-829.
- [27] SCOTT J A, PALMER S J. Sites of cadmium uptake in bacteria used for biosorption[J]. *Applied microbiology and biotechnology*, 1990, 33(2): 221-225.
- [28] VIJVER M G, VAN GESTEL C A M, LANNO R P, et al. Internal metal sequestration and its ecotoxicological relevance: A review[J]. *Environmental science & technology*, 2004, 38(18): 4705-4712.
- [29] DAY R, DENIZLI A, ARICA M Y. Biosorption of cadmium(II), lead(II) and copper(II) with the filamentous fungus *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *Bioresour Technol*, 2001, 76(1): 67-70.
- [30] AKSU Z, ACIKEL U, KUTSAL T. Application of multicomponent adsorption isotherms to simultaneous biosorption of iron(III) and chromium(VI) on *C. vulgaris*[J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 1997, 70(4): 368-378.

(上接第 11 页)

3 结论与讨论

通过构建两电极微通道传感器,使用电化学工作站在 $10 \sim 1 \times 10^6$ Hz 频率对不同细胞含量的奶样进行测试试验。从测得的 $10 \sim 1000$ Hz 频率段奶样容抗值可以初步确定具有该结构参数的传感器细胞数检测下限可达 40 万个/mL;又分析了传感器的等效电路结构,提取出不同细胞含量奶样的奶体电容值,进一步分析奶体电容值与细胞含量之间的线性关系,发现两者之间具有一定的线性相关性,确定奶体电容值可以作为细胞含量检测的一个重要指标。最后提出两电极微通道传感器的结构还有待进一步的优化,例如,如何减小界面电容对奶体电容造成的干扰、如何设计更加合理的等效电路模型来准确提取奶体电容值等,以此来提高传感器的牛奶细胞数检测下限和奶体电容值作为细胞含量检测指标的

准确度。

参考文献

- [1] DOS REIS C B M, BARREIRO J R, MORENO J F G, et al. Evaluation of somatic cell count thresholds to detect subclinical mastitis in Gyr cows[J]. *J Dairy Sci*, 2011, 94(4): 4406-4412.
- [2] 崔传金, 陈至坤, 张学超, 等. 基于体细胞数的奶牛乳腺炎检测方法研究进展[J]. *中国乳品工业*, 2013, 41(7): 44-47.
- [3] SENGUPTA S, BATTIGELLI D A, CHANG H C. A micro-scale multi-frequency reactance measurement technique to detect bacterial growth at low bio-particle concentrations[J]. *Lab on a Chip*, 2006(5): 682-692.
- [4] CLAES J E, VAN LMPE J F. On-line estimation of the specific growth rate based on viable biomass measurements: Experimental validation[J]. *Bio-process Eng*, 1999, 21(5): 389-395.
- [5] 崔传金, 古少鹏, 左月明. 基于电参数与神经网络的奶牛乳腺炎检测方法[J]. *农业机械学报*, 2011, 42(1): 193-197.
- [6] SIERRA D, SANCHEZ A, LUENGO C, et al. Temperature effects on somatic cell counts in goat milk[J]. *Int Dairy J*, 2006, 16(4): 385-387.
- [7] 刘峰, 迟玉杰. 乳房炎乳的检测方法[J]. *现代食品科技*, 2005, 21(1): 129-131.
- [8] 李荻. 电化学原理[M]. 3 版. 北京: 北京航空航天大学出版社, 2008.