

固定化啤酒酵母废菌体吸附 Pd^{2+} 的研究*

谢丹丹^{1,2} 刘月英^{1**} 吴成林¹ 傅锦坤³ 薛茹³

(厦门大学生命科学学院 厦门 361005)¹ (厦门海洋职业技术学院 厦门 361012)²

(厦门大学化学化工学院 厦门 361005)³

摘要: 用 2% 海藻酸钠与 1% 明胶混合为包埋剂固定啤酒酵母废菌体。SEM、X-射线能谱和 TEM 研究结果表明, 该固定化啤酒酵母废菌体 (ISCWB) 颗粒中的菌体分布较均匀, ISCWB 不仅能吸附 Pd^{2+} , 而且能将 Pd^{2+} 还原成 Pd^0 。ISCWB 吸附 Pd^{2+} 的最适 pH 值为 3.5。在 30℃ ~ 70℃ 范围内, 吸附作用不受温度的影响。吸附作用是一个较快的过程; 在最初的 5min 内吸附量可达最大吸附量的 36%。吸附作用受 ISCWB 浓度、 Pd^{2+} 起始浓度和共存离子的影响。在起始 Pd^{2+} 浓度 100mg/L、ISCWB 浓度 1.8g/L、pH3.5 和 30℃ 条件下振荡吸附 90min, 吸附量为 40.6mg/g。以 0.5mol/L 盐酸作为解吸剂解吸率达 98.7%。连续吸附与解吸附试验结果表明, ISCWB 的最大饱和吸附量为 46.3mg/g, 解吸率为 98%。

关键词: 啤酒酵母废菌体, 固定化, 生物吸附, 钯

中图分类号: Q939.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 06-0029-06

* 国家自然科学基金资助项目 (No.29876026)

Project Granted by China National Natural Science Fund (No.29876026)

作者还有: 古萍英³

联系人 Tel: 0592-2185360, E-mail: linying 6401@sina.com.cn

收稿日期: 2002-11-04, 修回日期: 2002-12-16

STUDIES ON BIOSORPTION OF Pd^{2+} BY THE IMMOBILIZED *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* WASTE BIOMASS

XIE Dan-Dan^{1,2} LIU Yue-Ying¹ WU Cheng-Lin¹

(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, 361005)¹

(Xiamen College of Marine Professional Technology, Xiamen 361012)²

FU Jin-Kun³ XUE Ru³ GU Pin-Ying³

(School of Chemistry & Chemical engineering, Xiamen University Xiamen, 361005)³

Abstract: *Saccharomyces cerevisiae* waste biomass (SCWB) was entrapped with the mixture of 2% alginate sodium and 1% gelatin. The results of SEM, X-ray spectrum and TEM analysis showed that the SCWB were uniformly immobilized within the entrapment matrix and Pd^{2+} could be adsorbed and reduced to Pd^0 particles by immobilized SCWB (ISCWB). The optimum pH value of Pd^{2+} biosorption by ISCWB was 3.5. The temperature in the range of 30°C ~ 70°C did not affect the biosorption. The biosorption was a rapid process, reaching 36% of the maximum capacity within the first 5 min. The content of the biomass, Pd^{2+} initial concentration and the competing metal ions in the solution affected the biosorption. The biosorptive capacity reached 40.6mg/g under the conditions of 100mg Pd^{2+} /L, 1.8g ISCWB/L, pH3.5 and 30°C for 90 min. 98.7% of Pd^{2+} adsorbed on ISCWB could be desorbed with 0.5mol/L HCl. In packed-bed reactor, the saturation uptake and desorbed efficient were 46.3mg/g and 98%, respectively.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae* waste biomass, Immobilization, Biosorption, Palladium

钯在化工、电子等工业上有广泛的应用,但钯资源稀少。因此,从含钯的废料、废液和废水等“二次资源”中回收钯具有重要的经济价值。在微生物吸附贵金属的研究中,我们曾从金矿矿坑水分离、筛选得到一株吸附、还原 Pd^{2+} 能力较强的菌株地衣芽孢杆菌 R08,并研究了该菌株^[1]及其固定化菌体^[2]吸附 Pd^{2+} 的特性。然而,如能用发酵工业的残留菌体制备固定化菌体作为 Pd^{2+} 的吸附剂,将具有重要的经济意义和社会意义。因为这些生物材料来源丰富、价格低廉,它们的利用不仅可以降低生物吸附剂的生产成本,而且可以提高发酵工业中废菌体的利用价值或减少废菌体对环境的污染。本文报道用啤酒酿造厂的啤酒酵母废菌体作为生物材料,用海藻酸钠和明胶为包埋剂制备的固定化菌体吸附 Pd^{2+} 的一些特性。

1 材料与方法

1.1 菌体的制备

将来自啤酒厂的啤酒酵母废菌体用蒸馏水洗 2~3 次,离心 (3,500 r/min, 10min), 收集菌体, 80°C 下烘干, 研磨成细粉后干燥保存。

1.2 固定化菌体的制备

海藻酸钠-明胶包埋法: 称取 2g 海藻酸钠和 1g 明胶, 加适量的蒸馏水加热溶解, 然后加入 1.2g 菌体和补加蒸馏水至 100mL, 混合均匀后用注射器滴入 4% CaCl_2 溶液中, 静置固化 24h, 洗净备用。

海藻酸钠包埋法: 除不加明胶外, 其它的步骤同上。

聚乙烯醇 (PVA)-海藻酸钠包埋法: 以 2% PVA 加 1% 海藻酸钠作包埋剂, 其它的步骤同上。

海藻酸钠-明胶-PVA 包埋法: 以海藻酸钠、明胶和 PVA 各 1% 作包埋剂, 其它的步

骤同上。

1.3 固定化菌体机械强度及耐酸性测定

按照文献 [3] 的方法测定。

1.4 固定化菌体的分批吸附与解吸附试验

除另有说明外, 准确称取 18.0mg 固定化菌体 (以干重计), 加入 100mg/L 的 Pd^{2+} (PdCl_2) 溶液 10.0mL, 在 pH3.5 和 30℃ 下振荡 (130r/min) 吸附 90min, 取上清液用 Jasmim 法^[4]或用 AA800 原子吸收分光光度法测定 Pd^{2+} 浓度。按文献 [2] 计算固定化菌体对 Pd^{2+} 的吸附率和吸附量。

将上述吸附了 Pd^{2+} 的固定化菌体, 用 pH3.5 的水洗涤 2 次, 弃上清液; 分别加入不同的解吸液 10.0mL, 室温振荡解吸 90min, 测定解吸液 Pd^{2+} 浓度, 按文献 [2] 计算解吸率。

1.5 填充床反应器中的连续吸附与解吸附试验

连续吸附试验: 称取 0.6g (以干重计) 固定化菌体填入吸附柱 (堆积高度 10cm 左右), 将 50mg/L 的 Pd^{2+} 溶液以 3mL/min 的流速从吸附柱上方流下, 在吸附柱下方定时取样, 测定 Pd^{2+} 浓度, 至流出液浓度达流入液浓度的 95% ~ 98% 时停止进液。

连续解吸附试验: 将解吸液以 3mL/min 的流速从吸附柱上方流下, 在吸附柱下方定时取样, 测定 Pd^{2+} 浓度, 直至流出液浓度小于 5mg/L。

1.6 扫描电子显微镜 (SEM) 与透射电子显微镜 (TEM) 表征

SEM 表征: 将固定化菌体颗粒真空干燥后置于溅射仪中镀金 100Å, 然后在 LEO 场发射扫描电子显微镜 (德国 LEO 公司) 下观察。

TEM 表征: 将固定化菌体与 Pd^{2+} 溶液接触不同时间, 现场取样, 将固定化菌体颗粒磨碎, 用具有聚乙烯醇缩甲醛膜的铜网蘸取样品, 置滤纸上室温干燥, 用透射电子显微镜 (JEM 100CX11 型) 在加速电压 100kV 下观察。

2 结果

2.1 固定化方法的选择

对各种固定化菌体的成球性、机械强度和耐酸性进行比较。结果表明, 用 2% 海藻酸钠与 1% 明胶混合作为包埋剂制备的固定化菌体, 其机械强度、成球性和耐酸性均比其它几种方法制备的固定化菌体好。固定化菌体颗粒与 Pd^{2+} 溶液接触 24h 后在 SEM 下观察, 结果表明, 固定化菌体颗粒上的酵母菌体完整, 并较均匀地分布于固定化载体中 (图 1); X 射线能谱分析表明, 固定化菌体能够从 PdCl_2 溶液中吸附 Pd (图 2)。比较与 PdCl_2 溶液接触的 (图 3a) 和不接触的 (图 3b) 的固定化菌体的 TEM 图, 可见前者菌体上存在电子不透明的微粒, 说明该固定化菌体不仅能吸附 Pd^{2+} 而且能将 Pd^{2+} 还原成 Pd^0 微粒。以下试验均采用 2%

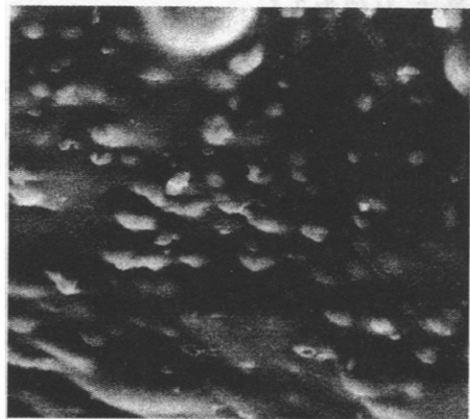


图 1 固定化啤酒酵母菌体的 SEM 照片 (500×)

海藻酸钠与1%明胶混合包埋啤酒酵母废菌体。

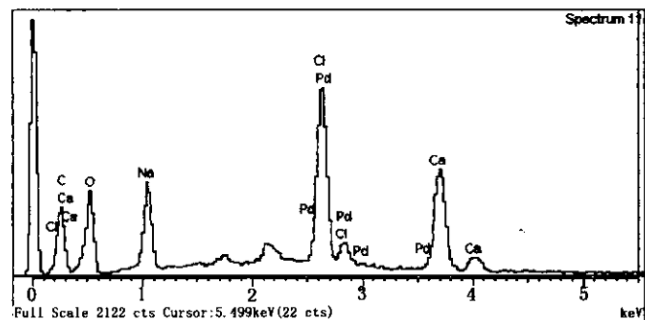


图2 固定化啤酒酵母菌体吸附 Pd^{2+} 的 X-射线能谱

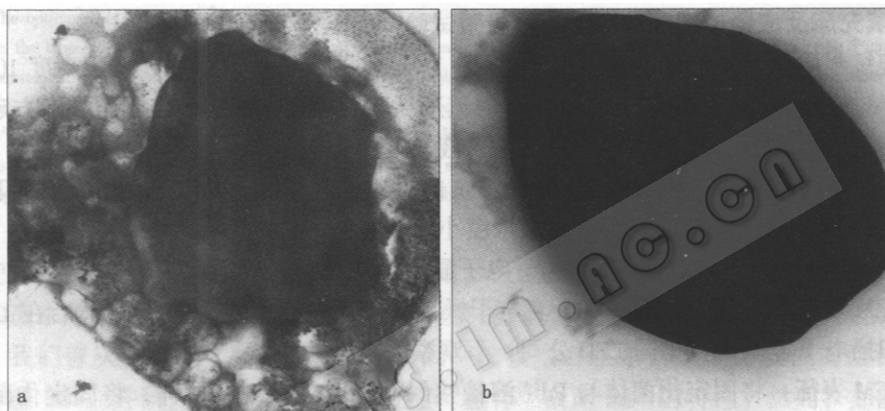


图3 固定化菌体吸附 Pd^{2+} 的 TEM 照片 ($\times 10,000$)

最初 5min 内, 吸附量已达 90min 时的 37.7%, 90min 之后吸附量仅增加 1.6mg/g。

2.2.2 pH 值的影响: PdCl_2 溶液在 $\text{pH} \geq 4$ 时会产生絮状沉淀, 因此试验将 PdCl_2 溶液的 pH 值分别调至 1.0、2.0、3.0、3.5 和 3.8 进行吸附试验。结果吸附量分别为 0、10.6、32.3、40.6 和 38.6mg/g。说明溶液的 pH 值对固定化菌体吸附 Pd^{2+} 影响较大, 其最适 pH 值为 3.5。

2.2.3 温度的影响: 在不同的温度下进行吸附试验。结果表明, 在 5、10、30、40、50、60 和 70℃ 下, 吸附量分别为 19.8、20.7、40.6、40.8、41.0、42.4 和 42.5 mg/g。说明在 5 和 10℃ 下, 固定化菌体吸附 Pd^{2+} 的能力明显降低, 而在 30℃ ~ 70℃ 范围内, 温度对吸附作用的影响不大。

2.2.4 固定化菌体浓度的影响: 用不同的固定化菌体浓度 (0.45 ~ 3.61g/L) 进行吸附试验。结果 (图 4) 表明, 固定化菌体对 Pd^{2+} 的吸附率随着固定化菌体浓度的提高而提高, 而吸附量则反之。当固定化菌体浓度为 0.45g/L 时, 吸附量为 71.8mg/g; 当固定化菌体浓度为 3.61g/L 时, 吸附率为 87.5%。

2.2.5 Pd^{2+} 起始浓度的影响: 用不同的 Pd^{2+} 起始浓度进行试验。结果 (图 5) 表明, 在 Pd^{2+} 起始浓度 25 ~ 250mg/L 的范围内, 固定化菌体的吸附量随着 Pd^{2+} 起始浓度的提高而增大, 在 225mg/L 时, 吸附量达 64.6mg/g; 在 25mg/L 时, 吸附率为 91%, 随着 Pd^{2+} 起始浓度的提高, 吸附率则降低。

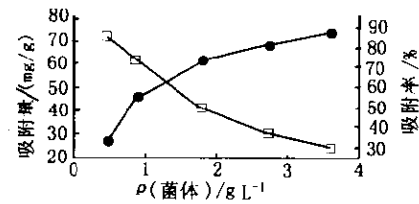


图 4 固定化菌体浓度对吸附作用的影响

—□— 吸附量, —●— 吸附率

2.2.6 共存离子的影响: 在 pH3.5、100mgPd²⁺/L 溶液中分别加入 Al³⁺、Ba²⁺、Au³⁺ 和 Pb²⁺ 等金属离子 (终浓度均为 100mg/L), 以不加的为对照。结果 (表 1) 表明, 在固定化菌体吸附 Pd²⁺ 的系统中, 当有其它所试的金属离子存在时, 固定化菌体吸附 Pd²⁺ 的能力均有不同程度的降低, 这可能是由于上述金属离子与 Pd²⁺ 竞争菌体上的结合位点的结果。

2.3 固定化菌体的分批解吸附

分别用不同的解吸剂对已吸附 Pd²⁺ 的固定化菌体颗粒进行解吸附。结果 (表 2) 表明, 盐酸的解吸效果最好, 其浓度为 0.5mol/L 时, 洗脱率达 98.7%。因此, 在连续解吸附试验中以 0.5mol/L 盐酸为解吸剂。

2.4 填充床反应器中的连续吸附与解吸附试验

在填充床反应器中, 固定化菌体对 Pd²⁺ 的吸附量、吸附率和解吸率在首次吸附-解吸附时分别为 46.3mg/g、88% 和 98%, 而连续吸附与解吸附至第 3 次时, 则分别为 19.8mg/g、61% 和 98%。

3 讨论

应用于吸附金属的菌体固定化方法有将菌体吸附在惰性载体上、包埋在多聚物中、共价键合于载体和用交联剂交联等^[5]。本文采用包埋法, 通过对几种包埋基质的比较, 选用 2% 海藻酸钠与 1% 明胶混合作为包埋基质固定啤酒酵母废菌体。用该法制备的固定化菌体具有机械强度高、成球性好和耐酸等特性。从 SEM、X 射线能谱和 TEM 研究结果表明, 该固定化菌体颗粒中的菌体分布较均匀, 固定化菌体不仅能吸附 Pd²⁺ 而且能将 Pd²⁺ 还原成 Pd⁰。这与地衣芽孢杆菌能吸附、还原 Pd²⁺ 的特性相同^[1]。

在分批吸附试验中, 固定化菌体吸附 Pd²⁺ 的特性与固定化地衣芽孢杆菌吸附 Pd²⁺ 的特性相似^[2], 在 Pd²⁺ 起始浓度 100mg/L、固定化菌体浓度 1.8g/L, pH3.5 和 30℃ 下吸附 90min, 固定化菌体对 Pd²⁺ 的吸附量为 40.6mg/g。与固定化地衣芽孢杆菌吸附 Pd²⁺^[2]、固定化芽枝状枝孢霉菌体球吸附 Au³⁺^[6]、微小真菌 (micromycete) 吸附 Ag⁺^[7]

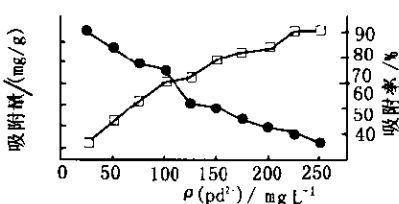


图 5 Pd²⁺ 起始浓度对吸附作用的影响

—□— 吸附量, —●— 吸附率

表 1 共存离子对固定化菌体吸附 Pd²⁺ 的影响

共存离子	吸附量 (mg/g)	下降率 (%)
对照	40.6	0
Pb ²⁺	34.1	16.0
Ba ²⁺	24.5	39.7
Al ³⁺	21.2	47.8
Au ³⁺	17.4	57.1

表 2 不同解吸剂解吸效果的比较

解吸剂	解吸率 (%)	解吸剂	解吸率 (%)
盐酸 (1mol/L)	100	NaCl (0.5mol/L)	49.7
盐酸 (0.5mol/L)	98.7	醋酸 (9%)	24.6
HNO ₃ (0.5mol/L)	84.3	NH ₄ Cl (0.5mol/L)	7.1
草酸 (0.5mol/L)	81.1	尿素 (0.5mol/L)	2.4

和 *Ascomyces nodosum*、*Streptomyces rimosus*、*Fucus vesiculosus* 吸附 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} [8] 比较, 固定化啤酒酵母废菌体在钯的吸附回收中具有较好的应用前景。

在连续吸附-解吸附的初步研究中, 固定化菌体对 Pd^{2+} 的最大饱和吸附量为 46.3 mg/g, 使用 3 个循环的解吸附率仍达 98%。若进一步优化反应条件将有可能提高固定化菌体对 Pd^{2+} 的吸附能力, 并延长固定化菌体在填充床反应器中的寿命。

参 考 文 献

- [1] 刘月英, 傅锦坤, 李仁忠, 等. 微生物学报, 2000, 40 (5): 535 ~ 539.
- [2] 刘月英, 李仁忠, 张秀丽, 等. 微生物学报, 2002, 42 (6): 700 ~ 705.
- [3] 居乃璇, 仇昌明, 黄国庆, 等. 微生物学通报, 1983, 10: 1 ~ 11.
- [4] Jasim F, magee R J, Wilson C L. Recueil, 1960, 79: 541 ~ 550.
- [5] Veglio F, Beolchini F. Hydrometallurgy, 1997, 44: 301 ~ 316.
- [6] Pethkar A V, Paknikar K M. Journal of Biotechnology, 1998, 63: 121 ~ 136.
- [7] Korenevskii A A, Khamidova K, Avakyan Z A, et al. Microbiol, 1999, 68 (2): 139 ~ 145.
- [8] Bakkaloglu I, Butter T J. Wat Sci Tech, 1998, 38 (6): 269 ~ 277.