

酿酒酵母 220 菌株对铅的生物吸附研究*

宋安东^{1**} 吴 坤¹ 陈红歌¹ 常国林² 王 爽²

(河南农业大学生物技术与食品科学学院 郑州 450002)¹

(南阳市环境监测站 南阳 473060)²

摘要: 在含铅培养基中培养酿酒酵母 220, 发现该菌对铅有一定的抗性。将培养好的酿酒酵母 220 接入含铅培养基中并对该菌吸附铅的能力进行研究, 结果表明, 在 30℃ 时, 该菌对 6mg/L 的含铅溶液有最大的吸附率, 吸附率为 96.6%, 吸附平衡时间为 25~30min, 吸附的动力学方程为 $q = 26.318C / (1 + 0.437C)$, 乙酸对吸附后的酿酒酵母 220 有良好的解吸作用, 葡萄糖和 KH_2PO_4 可以提高酿酒酵母 220 对铅的吸附率。

关键词: 酿酒酵母, 铅, 生物吸附

中图分类号: Q935 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654 (2004) 03-0006-05

Study on Lead Cation Biosorption of *Saccharmyces cerevisiae* 220

SONG An-Dong¹ WU Kun¹ CHEN Hong-Ge¹ CHANG Guo-Lin² WANG Shuang²

(Biotechnology & Food Science College, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002)¹

(Environmental Inspection Brunch, Nanyang 473060)²

Abstract: *Saccharmyces cerevisiae* 220 has certain resistance to Pb^{2+} was found through the test of it's cultured on media containing lead cation. *Saccharmyces cerevisiae* 220 cultured was put into the media cotaining lead cation and it's biosorption to lead cation was studied. The results show this strain has maximum biosorption ratio (96.6%) to 6mg/L lead cation, biosorption-equilibrium period is 25~30min, biosorption kinitics equation is $q = 26.318C / (1 + 0.437C)$. Acetic acid is benefit to de-biosorption, glucose and KH_2PO_4 can improve biosorption ratio to lead cation.

Key words: *Saccharmyces cerevisiae*, Lead cation, Biosorption

环境问题已作为全球问题而引起世人的关注。在现代科技经济发展的同时, 人类正面临着大量被重金属污染的水系、土壤、空气环境的危害。据统计, 全球每年释放到环境中的有毒重金属高达数百万吨, 其中铅为 34.6 万吨, 而 Pb^{2+} 为主要的毒性成分, 这些铅可以通过食物链而积累, 导致人体慢性中毒, 引发肿瘤甚至死亡。废水中重金属 Pb^{2+} 的去除或者称为重金属污染废水的生物修复已经成为当前十分迫切的任务^[1-3]。到目前为止, 含重金属废水的传统处理方法主要有中和凝集沉淀法、硫化物沉淀法、铁氧体法等, 它们虽然也能达到一定的净化效果, 但因过程繁琐并易造成二次污染而不够理想, 尤其是当金属离子浓度较低时, 往往操作费用和原料成本过高使应用受到限制^[1,4,5]。近年来, 美、俄、日等国采用生物吸附法去除废水中的重金属, 而国内较为少见。采用微生物对含重金属废水进行吸附处理具有吸收速度快, 吸附量大, 处理效率高、条件易控制、二次污染少等明显的优势而受到青睐^[5,6]。多种微生物包括细菌、霉菌、酵母具有从外界环境富集重金属离子的能力, 国内外吸附重金属的研究

* 河南省杰出人才创新基金资助项目 (No.321001300)

** 联系人 Tel: 0371-3555153, E-mail: song16666@hotmail.com

收稿日期: 2003-03-28, 修回日期: 2003-05-21

多集中在细菌和丝状真菌^[6~8], 而对酵母菌研究报道较少。本文以酿酒酵母 220 为试验菌株, 对该菌吸附 Pb^{2+} 的动力学进行了研究, 为利用酵母处理重金属污染的工业废水奠定一定的基础。

1 材料与方法

1.1 菌种

酿酒酵母 (*Saccharmyces cerevisiae*) 220, 本校生物技术实验室提供。

1.2 培养基

基本培养基: K_2HPO_4 2.56g, KH_2PO_4 2.08g, $CaCl_2$ 0.05g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, NH_4Cl 0.05g, 葡萄糖 10g, 水定容至 1,000mL。

含铅溶液: 用分析纯的硝酸铅配制 1g/mL 溶液之后, 再用原子吸收分光光度法标定其二价铅离子浓度, 调整溶液的 pH 为 6.0, 备用。

含铅培养基: 采取不同的稀释度, 用基本培养基来稀释标准铅溶液, 得到一系列梯度的含铅培养基。

豆芽汁培养基: 称 10g 黄豆芽, 加水 100mL, 煮沸 0.5h 后 4 层纱布过滤, 加蔗糖 5%, pH 自然。

1.3 酿酒酵母 220 对 Pb^{2+} 的抗性试验^[4,8]

将酿酒酵母 220 以 10% 的接种量接入含铅培养基中, 30℃, 180r/min 振荡培养并对其生长情况进行计数。

1.4 啤酒酵母 220 对 Pb^{2+} 吸附试验^[5~10]

将酿酒酵母 220 接入装有 60mL 豆芽汁培养基的 250mL 三角瓶中, 30℃, 180r/min 振荡培养 24h, 4,000 r/min 离心 5min 收集菌体, 用去离子水洗涤 3 次, 准确称取一定量的菌体, 在含铅溶液中, 30℃, 180r/min 条件下研究酿酒酵母 220 对 Pb^{2+} 的吸附作用。

1.5 测定方法

用原子吸收分光光度计法来测定吸附 (或解吸) 前后溶液中 Pb^{2+} 的浓度。计算公式如下:

吸附率或解吸率 (RE 或 DRE) = (初始浓度 - 终浓度) / 初始浓度 $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 酿酒酵母 220 对 Pb^{2+} 的抗性试验

重金属一般具有很强的生物毒性, 当细胞中积累的重金属达到一定量时, 生物体将被钝化或被杀死, Pb^{2+} 也不例外, 它可造成细胞膜损伤, 破坏营养物质的运输。因此要想用生物的方法来吸附 Pb^{2+} , 重要的一点是该生物应对 Pb^{2+} 具有一定的抗性。图 1 中表明了酿酒酵母 220 在含有不同 Pb^{2+} 浓度的培养基中生长情况。从图中可以看出, 随着 Pb^{2+} 浓度的增加, 在开始的 3d 内, 酿酒酵母迅速繁殖, 繁殖速度大于不含 Pb^{2+} 的环境; 3d 以后, 酿酒酵母的生长随 Pb^{2+} 浓度的增加而受到抑制, 但酿酒酵母还可继续生长。这说明酿酒酵母 220 对一定浓度 (9mg/L) 的 Pb^{2+} 有一定的抗性, 可以利用一定浓度的 Pb^{2+} 或在一定浓度含 Pb^{2+} 环境中存活, 这就为利用酿酒酵母 220 处理含 Pb^{2+} 的重金属废水奠定了基础。

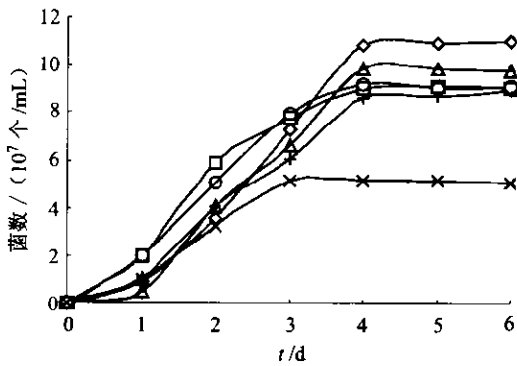


图 1 酿酒酵母 220 的在不同浓度含铅培养基中生长曲线

◇ 0mg/L, ▲ 1mg/L, + 3mg/L, □ 5mg/L, ○ 7mg/L, × 9mg/L

2.2 啤酒酵母 220 对 Pb²⁺ 吸附的动力学

向 100mL 含铅培养基中加入 0.1g 酿酒酵母 220 活菌体, 对不同浓度的含铅溶液进行吸附研究, 结果见表 1。

表 1 啤酒酵母 220 对不同浓度的 Pb²⁺ 吸附率 (%)

吸附时间 (min)	Pb ²⁺ 浓度 (mg/L)				
	2	4	6	8	10
0	0	0	0	0	0
5	74.6	73.9	73.6	77.2	70.6
10	79.9	80.6	79.1	81.3	78.9
15	88.8	89.4	85.6	85.6	83.1
20	92.9	94.3	88.6	90.4	84.1
25	96.0	95.9	92.5	94.8	84.2
30	94.0	96.0	96.0	95.8	84.2
35	93.7	96.0	96.6	95.5	84.0
40	93.5	95.3	96.0	95.5	83.1
45	93.5	95.2	96.0	94.0	83.0
50	93.0	94.2	94.3	93.5	83.0
55	91.5	94.0	94.1	92.1	81.2
60	91.0	94.0	91.0	92.0	81.0

从表 1 中可以分析得到, 酿酒酵母 220 对不同浓度的 Pb²⁺ 吸附在开始阶段随着时间的延长吸附率在增加, 一般经过 25~35min 后, 吸附达到最大吸附率, 随后处于一种相对的平衡状态, 由此可以确定酿酒酵母 220 对 Pb²⁺ 的吸附平衡时间为 25~30min。表中的数据表明, 随着 Pb²⁺ 浓度的增加, 吸附率随之增加, 在 6mg/L 时, 吸附率最大, 达到 96.6%, 之后, Pb²⁺ 浓度继续增加, 最大吸附率反而减少, 也就是说, 酿酒酵母 220 对 Pb²⁺ 吸附的最适浓度为 6mg/L。

同时, 酿酒酵母 220 对不同浓度的 Pb²⁺ 吸附达到平衡时的吸附量和平衡时的浓度如表 2。

表 2 酿酒酵母 220 对 Pb²⁺ 吸附平衡时的吸附量和平衡浓度

初始浓度 (mg/L)	平衡浓度 (C) (mg/L)	吸附量 (q) (mg)	1/C (1/mg)	1/q (1/mg)
2	0.080	0.920	12.500	0.521
4	0.136	3.864	7.353	0.258
6	0.204	5.796	4.902	0.173
8	0.336	7.664	2.976	0.130
10	0.600	8.400	1.667	0.119

根据吸附的 Langmuir 等温吸附模型 $q = q_{\max} K_L C / (1 + K_L C)$ ，式中 q 为吸附量 ($\mu\text{mol/g}$)， $q_{\max}$ 为最大吸附量， K_L 为吸附平衡常数， C 为吸附平衡后被吸附的金属离子的浓度 ($\mu\text{mol/L}$)， K 为常数。将上式转换一下，可得到 $1/q - 1/C$ 的线性关系式： $1/q = 1/q_{\max} + 1/K_L q_{\max} \cdot 1/C$ ，截矩为 $1/q_{\max}$ ，斜率为 $1/q_{\max} K_L$ 。我们对表 2 中的 q 、 C 的双倒数进行线性回归，可以得到方程： $y = 0.038x + 0.0166$ ，相关系数为 0.9572。

从方程中得到最大吸附量 $q_{\max} = 60.241\text{mg}$ ，吸附平衡常数 $K_L = 0.437$ ，由此得到酿酒酵母 220 对 Pb²⁺ 的等温吸附模型为： $q = 26.318C / (1 + 0.437C)$ 。

2.3 酿酒酵母 220 吸附 Pb²⁺ 后的解吸研究

在对水体重金属的修复中，吸附重金属后材料的后处理工作也是一个关键问题。如果微生物在 Pb²⁺ 后能够将 Pb²⁺ 从菌体上吸附在上解吸下来，这对于 Pb²⁺ 的回收和微生物的再次利用将有重要的意义。在上述 Pb²⁺ 浓度为 6mg/L 的吸附平衡的溶液体系中，用盐酸来调整溶液 pH，10min 后，测定 Pb²⁺ 的浓度，计算解吸率，结果如图 2 所示。

从图 2 可以看出，用盐酸将溶液平衡体系的 pH 调整后，酿酒酵母 220 对 Pb²⁺ 发生解吸作用，随着 pH 的降低，解吸率逐渐升高，在 pH 为 2 时解吸率最大。同时，不同的酸对酿酒酵母 220 的解吸率影响的基本趋势相同，但解吸率的大小有差别，在最大解吸率 (pH = 2) 时，解吸率大小依次为 HAc > EDTA > HCl > H₃PO₄，分别是 68.0%、67.2%、65.5% 和 57.0%。

我们对解吸后的酿酒酵母 220 二次利用，重新进行浓度为 6mg/L 的含铅溶液的吸附试验，结果发现采用酸解吸后的啤酒酵母 220 对的 Pb²⁺ 仍具有一定的吸附能力，但吸附力有所下降，最大为 92%；同时经过不同的酸（盐酸、磷酸、乙酸和 EDTA）解吸后的啤酒酵母 220 对 Pb²⁺ 的再吸附能力有差别，最差的是其他 H₃PO₄，最好的是 HAc（如图 3 所示）。

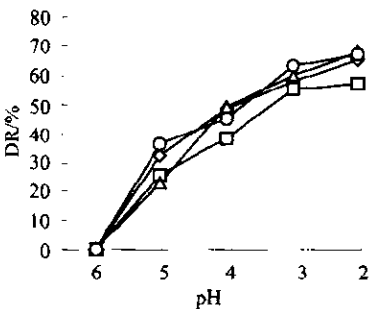


图 2 pH 值对酵母吸附后的解吸作用
—◇— HCl, —□— H₃PO₄, —△— HAc, —○— EDTA

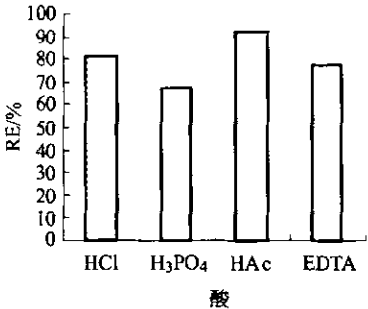


图 3 酸对解吸后酵母吸附力的影响

2.4 提高酿酒酵母 220 对 Pb^{2+} 吸附能力的研究

向 6mg/L 的含铅溶液中加入 0.05% (质量分数) 的葡萄糖和 KH_2PO_4 , 25min 后计算酿酒酵母 220 对 Pb^{2+} 的吸附, 结果如表 3 所示。从表中可以看出, 葡萄糖和 KH_2PO_4 对酿酒酵母 220 吸附 Pb^{2+} 都有提高作用, 可以分别增加 11.9% 和 11.2%, 同时可以发现, 吸附的速度也增大了, 25min 就可达到相当大的吸附率。

表 3 提高啤酒酵母 220 对 Pb^{2+} 吸附能力的效果

增效剂	原吸附率 (%)	吸附率 (%)	吸附率提高率 (%)
葡萄糖	88.6	99.1	11.9
KH_2PO_4		98.5	11.2

3 结论

研究结果表明, 酿酒酵母 220 生长过程中对 Pb^{2+} 有一定的抗性。30℃ 时, 该菌对 6mg/L 的含铅溶液有最大的吸附率, 吸附率为 96.6%, 吸附的动力学方程为 $q = 26.318C / (1 + 0.437C)$, 乙酸对吸附后的酿酒酵母 220 有良好的解吸作用, 在 $pH = 2$ 时解吸率为 68.0%, 解吸后的酿酒酵母有对 Pb^{2+} 再吸附的能力, 再吸附率可达到 92.0%, 葡萄糖和 KH_2PO_4 可以提高酿酒酵母 220 对 Pb^{2+} 的吸附率。

采用酿酒酵母 220 对 Pb^{2+} 进行吸附处理, 吸附率较高, 可以达到对环境中重金属污染的有效去除, 同时 Pb^{2+} 可以回收, 酵母菌 220 可以循环使用, 这为利用酿酒酵母处理重金属污染的废水从而减少重金属铅对环境的危害提供了一条有效的途径。

致谢: 感谢河南农业大学吴云汉教授对本试验所提出的宝贵建议。

参 考 文 献

- [1] 叶锦韶, 尹 华, 彭 辉, 等. 城市环境与城市生态, 2001, 14 (3): 30~32.
- [2] 吴 消, 李清彪, 邓 旭, 等. 离子交换与吸附, 1998, 14 (2): 180~187.
- [3] 胡稳奇, 张志光. 大自然探索, 1995, 14 (2): 58~62.
- [4] 陈勇生, 孙启俊, 陈 钧. 环境科学进展, 1997, 5 (6): 34~43.
- [5] 陈素华, 孙铁昕, 周启星, 等. 应用生态学报, 2002, 13 (2): 239~242.
- [6] 李明春, 姜 恒, 侯义强, 等. 菌物系统, 1998, 17 (4): 367~373.
- [7] Todorov T S, Dimkov R, Koteva Z H. Pochovoznaniye Agrokhimii, 22 (5): 33~40.
- [8] Niu H, Xu X S. Biotechnol Bioeng, 1993, 43: 785~787.
- [9] 韩润平, 李建军, 杨贯羽, 等. 郑州大学学报 (自然科学版), 2000, 32 (3): 25~25.
- [10] Chander K, Brookes P C. Biochem, 1991b, 23: 917~925.