

研究报告

## 耐性真菌 HA 吸附铅、锌的影响因素及吸附机理研究

廖佳 冯冲凌\* 李科林\* 向捷 李进

(中南林业科技大学 环境科学与工程研究中心 湖南 长沙 410004)

**摘要:**【目的】从铅锌矿区分离筛选出耐铅锌性菌株,并研究其吸附铅、锌的影响因素及吸附机理,为重金属污染微生物修复提供参考。【方法】以从铅锌矿区筛选出的耐铅锌真菌 HA 作为试验菌株,考察影响其对铅、锌去除能力的主要因素(初始浓度、pH、接种量),同时通过等温吸附模型、动力学分析及红外光谱分析探讨其相关的吸附机理。【结果】经鉴定,从矿区筛选的对  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  有较强耐性的菌株 HA 为米曲霉(*Aspergillus oryzae*);在初始铅、锌浓度的实验范围内(100–800 mg/L),HA 对铅、锌离子的去除率随着其初始浓度增加而减小,25 h 后 HA 的生长进入平稳期,且对铅、锌离子的去除率趋于稳定。当铅、锌初始浓度为 100 mg/L、pH 为 5.0 时,HA 对铅、锌离子的去除率均达到最高,分别为 97.8%、54.1%;当 HA 接种量为 1 mL 时,其对铅、锌去除率的增长率达到最大。HA 对铅、锌的吸附过程满足 Langmuir 吸附模型,其吸附以单层吸附为主。在动态吸附过程中,HA 对  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  离子吸附性能与准二级动力学吸附方程的拟合程度更高,且对  $\text{Pb}^{2+}$  的吸附效果明显高于  $\text{Zn}^{2+}$ 。红外光谱分析表明,HA 细胞中羟基、烷基、酰胺基、羧基、磷酸基等参与了  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  的吸附过程。【结论】HA 是一株对铅、锌有较强吸附能力的真菌,其吸附铅、锌影响因素及吸附机理研究结果将为重金属污染微生物修复提供指导。

**关键词:** 耐性真菌 HA, 铅离子, 锌离子, 吸附机理

## Influence factors and absorption mechanism of Pb(II) and Zn(II) by resistant fungus HA

LIAO Jia FENG Chong-Ling\* LI Ke-Lin\* XIANG Jie LI Jin

(Center of Environmental Science and Engineering, Center South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China)

**Abstract:** [Objective] The purpose of this paper is to isolate and screen lead-zinc resistant strains from lead-zinc tailings areas. Its influence factors and mechanism of Pb(II) and Zn(II) adsorption also were studied. This work is expected to provide a reference for bioremediation of heavy metal pollution. [Methods] The fungus HA which was isolated and screened from lead-zinc tailings areas was used.

**基金项目:** 国家“十二五”科技支撑计划项目(No. 2012BAC09B03); 国家“十二五”科技惠民计划项目(No. 2012GS430203); 湖南省环境科学与工程重点学科建设项目

\*通讯作者: 冯冲凌: Tel: 86-731-85623459; 邮箱: ddukepet@163.com

李科林: Tel: 86-731-85623459; 邮箱: csfuklli@163.com

收稿日期: 2014-06-24; 接受日期: 2014-09-03; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-09-10

The main influence factors (i.e., initial concentration of Pb(II) and Zn(II), pH, inoculation amounts) on the removal of Pb(II) and Zn(II) were investigated. And the related adsorption mechanism was also discussed by isothermal adsorption model, adsorption kinetics analysis and IR analysis. **[Results]** The resistant strain HA screened from tailings areas was identified as *Aspergillus oryzae*. In the experimental range of initial concentration of Pb(II) and Zn(II) (100–800 mg/L), the removal of Pb(II) and Zn(II) decreased with the increase of the initial concentration of Pb(II) and Zn(II). The growth of HA turned into stable period after 25 h, and the removal of Pb(II) and Zn(II) was relatively stable. The maximum biosorption was found at initial Pb(II) and Zn(II) of 100 mg/L and pH 5.0. Under such conditions, the adsorption rates of Pb(II) and Zn(II) was 97.8% and 54.1%, respectively. When the inoculation quantity of HA was 1 mL, the Pb(II) and Zn(II) adsorption rate of increment was the fastest. The adsorption process of Pb(II) and Zn(II) by HA was in accordance with Langmuir adsorption model, and its adsorption was given priority with monolayer adsorption. During the dynamic adsorption process of Pb(II) and Zn(II) by HA, a pseudo-second-order adsorption kinetics model was more suitable for describing the adsorption performance of HA, and the effect of HA on adsorption of Pb(II) was significantly higher than on Zn(II). IR analysis showed that the functional groups of HA such as hydroxyl, alkyl, amide, carbonyl and phosphate group were involved in the adsorption process of Pb(II) and Zn(II) by HA. **[Conclusion]** HA is a fungus having stronger adsorption ability for Pb(II) and Zn(II), and this research results of influence factors and mechanism of Pb(II) and Zn(II) adsorption would provide a guidance for bioremediation of heavy metal pollution.

**Keywords:** Resistant fungus HA, Pb(II), Zn(II), Adsorption mechanism

近年来,随着采矿、冶炼、电镀、电子及燃料生产等行业的快速发展,越来越多的重金属通过多种途径进入土壤或水体环境中,对生态环境和人类健康造成了严重威胁<sup>[1-3]</sup>。铅锌在工业上具有非常重要的作用,其应用极为广泛,因此,目前环境中的铅锌污染尤为突出<sup>[4]</sup>。由于铅锌具有难降解、难迁移和生物累积等特性,如何合理有效治理其所造成的污染问题已成为目前国内外研究的热点之一<sup>[5]</sup>。

目前,在重金属污染治理的方法中,传统的物理修复费用高、设备复杂、对大面积的污染处理效果差;化学修复方法最大的缺点是二次污染;而微生物修复因投资费用少、效率高、对环境影响小等优点受到广泛关注<sup>[6-7]</sup>。研究表明<sup>[2]</sup>,在重金属污染土壤环境,经长期生活,部分微生物群已对重金属形成了一定的耐性和抗性,因此,从金属矿区土壤中分离耐性微生物用于治理重金属污染,不失为重金属污染治理的有效途径。Pérez Silva 等<sup>[8]</sup>从重金属污染土壤中分离出能够有效吸附  $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  的铜绿假单胞菌;Velmuruga 等<sup>[9]</sup>从矿区筛选出对  $\text{Pb}^{2+}$  有较强吸附能力的真菌 MRF-1,并对其吸附

机理进行了研究;Govarthanan 等<sup>[10]</sup>从金属尾矿区筛选的细菌 KK1 能明显地降低铅的可交换态;Ahemad 等<sup>[11]</sup>从用重金属污染废水灌溉的农田里筛选出 3 株对  $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Cu}^{2+}$  有较强耐性的细菌;金羽等<sup>[12]</sup>从某铅锌矿区筛选的细菌 LY-1 最大铅耐受浓度为 500 mg/L。然而,这些报道主要集中在其对重金属吸附能力的研究,对其吸附机理的研究报道较少,特别是针对其吸附动力学的研究鲜有报道。

本研究在课题组前期工作的基础上,从湖南某铅锌矿区的先锋植物根际土壤中分离、筛选出一株对铅锌耐性较强的菌株,探讨了其吸附铅、锌的影响因素,并对其吸附机理进行初步研究,以为今后重金属污染微生物修复的工业化应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 土样

土样为采自湖南资兴铅锌矿区的尾砂矿和先锋植物根际土壤。

### 1.2 培养基

基础培养基(g/L): 牛肉膏 3, 蛋白胨 10, NaCl

5, 水 1 L, pH 7.2–7.4,  $1 \times 10^5$  Pa 灭菌 30 min。

选择培养基: 将硝酸铅、硝酸锌试剂配成一定浓度的储备液, 加入基础培养基中, 调节至所需浓度。

固体培养基是在液体培养基中加入 20 g/L 琼脂。

### 1.3 耐铅锌微生物的筛选

取 10 g 新鲜土样于装有 100 mL 无菌水的三角瓶振荡, 制成土壤稀释液, 取稀释液 0.1 mL 涂布于基础固体培养基, 28 °C 培养 2 d 后, 挑选单菌落接种后继续培养。最后选取生长速度相对较快、菌落特征典型的菌进一步纯化。将纯化的菌种接种到浓度梯度分别为  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$  的土壤浸提液的液体培养基中, 观察其生长情况, 逐步筛选淘汰长势差的菌株。将筛选出的长势较好的菌株继续加入到同时含不同浓度梯度铅、锌离子(100、200、300、400、500 mg/L)的选择培养基, 培养 3 d 后, 离心取上清液, 测定其中铅、锌离子含量, 比较其铅、锌去除率, 以筛选出耐受能力最高的菌株, 作为本研究的试验菌株。

### 1.4 菌株鉴定

将筛选的耐性菌株培养数天, 观察其菌落特征, 并对其进行分子生物学鉴定。提取耐性菌株的基因组 DNA, 采用引物: 正向引物 NL1: 5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'; 反向引物 NL4: 5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3', PCR 扩增此耐性菌 26S rDNA D1/D2 区。PCR 扩增体系条件为(20  $\mu$ L):  $10 \times$ Taq buffer 2  $\mu$ L, dNTPs (2 mmol/L) 2  $\mu$ L,  $MgSO_4$  (25 mmol/L) 1.2  $\mu$ L, Taq 酶 1  $\mu$ L, D1/D2 Forward primer (10  $\mu$ mol/L) 1  $\mu$ L, D1/D2 Reverse primer (10  $\mu$ mol/L) 1  $\mu$ L, 基因组 DNA 1  $\mu$ L, PCR 增强剂 5  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 5.8  $\mu$ L。PCR 循环条件: 96 °C 3 min; 96 °C 20 s; 55 °C 30 s, 72 °C 40 s, 循环 35 次; 72 °C 5min。PCR 扩增产物完成测序后, 将得到的耐性菌的 26S rDNA D1/D2 基因序列在 NCBI 中进行 BLAST 分析, 研究其同源

性, 选取同源性相近的菌株, 构建进化树。菌株的分子生物学鉴定部分由中美泰和生物技术(北京)有限公司完成。

### 1.5 生长曲线的测定

将耐性真菌 HA 真空冷冻干燥, 配成孢子浓度为 0.01 g/mL 菌悬液, 取 1 mL 接种于含铅、锌浓度为 100 mg/L 的液体培养基, 28 °C、120 r/min 培养, 定时取样。以培养时间为横坐标, 以孢子和  $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  去除率为纵坐标, 绘制 HA 的生长曲线及时间对 HA 吸附  $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  的影响图<sup>[13-14]</sup>。取样时间分别为 1、2、3、5、7、9、12、15、24、36 h。

### 1.6 不同因素对 HA 吸附 $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 的影响

实验条件: HA 接种量: 孢子浓度为 0.01 g/mL 的菌液 1 mL, 初始  $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  浓度: 100 mg/L, pH 5.0, 恒温摇床(120 r/min, 28 °C)培养 2 d。

为考查 HA 吸附  $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  不同因素的影响, 按以上条件, 分别改变下列参数: (1) 初始浓度  $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  影响: 分别配制含铅、锌离子浓度分别为 0、100、200、400、600、800 mg/L 的培养液; (2) pH 对吸附的影响: 采用 1 mol/L 的 HCl 和 1 mol/L 的 NaOH 依次将 pH 值分别调节为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、7.0、8.0; (3) HA 的接种量影响: 配制含铅、锌离子浓度为 400 mg/L 的培养液, 分别加入孢子浓度为 0.01 g/mL 的菌液 0、0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00 mL。采用原子吸收分光光度计, 测定吸附前后培养基上清液中  $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  的含量。

### 1.7 菌株对重金属的吸附机理研究

**1.7.1 等温吸附模型:** 分别采用 Langmuir 和 Freundlich 吸附等温式, 模拟此吸附过程<sup>[15-16]</sup>。其中, Langmuir 模型中, 吸附量  $q_e$  与平衡时重金属浓度  $C_e$  的双倒数成直线关系; Freundlich 模型中,  $q_e$  与  $C_e$  的双对数成直线关系<sup>[12,15]</sup>。此外, Langmuir 吸附公式的另一个重要参数  $R_L$ , 它表示吸附性能 ( $R_L > 1$ : 不利于吸附;  $R_L = 1$ : 线性;  $0 < R_L < 1$ : 有利;  $R_L = 0$ : 不可逆)<sup>[17-18]</sup>。

**1.7.2 吸附动力学模型:** 为进一步研究吸附时间过

程, 将 HA 干菌体加入含 100 mg/L  $Pb^{2+}$ 、100 mg/L  $Zn^{2+}$  的液体培养基, 使其浓度达到 0.1 g/L, 所有吸附条件同上, 供试样品在 1、2、3、5、7、9、12、15、24、36 h 分别取样, 用火焰原子吸收测定上清液中的重金属离子的含量。吸附的时间过程可以用准一级动力学和准二级动力学模型拟合。

**1.7.3 红外光谱分析:** 红外光谱是测定各种物质的化学结构重要分析方法, 通过红外光谱的特征谱带, 可以分析菌体所含有的特征官能团, 了解菌体吸附重金属离子的吸附位点<sup>[19]</sup>。将 HA 在含 0 和 400 mg/L  $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  的液体培养基培养后, 离心收集菌体, 并分别用去离子水洗涤 3 次, 真空冷冻干燥后, 取少量冻干菌体与 KBr 研磨混匀, 在 10 t/cm<sup>2</sup> 下压成薄片并维持 1 min, 用红外光谱仪测定并记录其光谱。

2 结果与分析

2.1 耐铅锌微生物的筛选

在基础固体培养基上, 从土样中纯化分离出 26 株长势较好的菌株, 分别将其接种到含浓度梯度依次增加的土壤浸提液的液体培养基中, 逐一淘汰后, 选取生长较好的 3 株, 分别为 HA、WB、ZC。将 HA、WB、ZC 分别加入到含铅、锌离子的选择培养基继续培养后, 测定上清液中铅、锌离子含量并比较其对铅、锌的去除率, 结果见图 1。由图 1

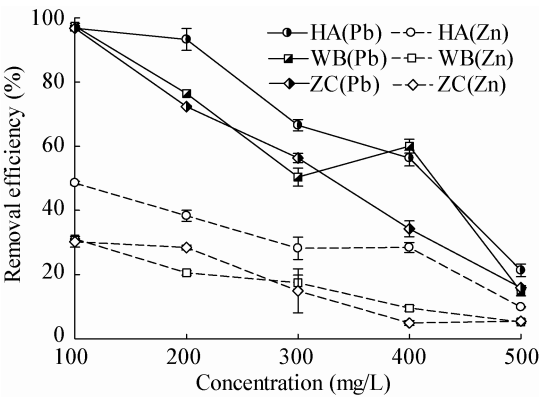


图 1 3 株耐性菌株在不同浓度下对铅、锌的去除率  
Figure 1 Three resistant strains on the removal of Pb(II) and Zn(II) under different initial concentrations

可知, 随着重金属浓度的增加, 微生物对其去除率大体依次下降; 且这 3 株菌对铅的去除率都高于锌, 而在这 3 株菌中, HA 的铅锌去除率都高于其余两株。因此, 筛选出耐性最高的菌株 HA 作为本研究的试验菌株。

2.2 菌株鉴定

耐性菌株 HA 菌落生长较快, 在基础固体培养基培养 3 d 左右, 菌落直径为 15–30 mm, 菌落呈圆形、稍隆起, 质地疏松, 绒状兼絮状, 前期为白色 (图 2A), 后期长出淡黄绿色的孢子 (图 2B)。将 HA 的测序结果在 NCBI 数据库进行 BLAST 比对后, 选取同源性相近的菌株, 采用软件 MEGA 绘制系统发育树, 由系统发育树图 3 可知, HA 与 *Aspergillus oryzae* 的进化关系最近。经过 BLAST 比对, HA 与 *Aspergillus oryzae* 的基因序列有 100% 的同源性。综上, 可以将耐铅锌菌 HA 鉴定为米曲霉 (*Aspergillus oryzae*)。

2.3 生长曲线测定

本实验通过研究在含铅、锌浓度为 100 mg/L 的液体培养基中, 不同的培养时间下 HA 的生长变化以考察 HA 的生长周期以及最佳的生长时间点。由图 4 可知, 接种 HA 后, 1 h 左右进入对数生长期, 大约 25 h 后进入平稳期, 菌体基本不再增长, 且对铅、锌离子的去除率也趋于稳定。

2.4 耐性菌株的吸附条件优化实验

**2.4.1 pH 对吸附的影响:** pH 能影响细胞膜的通透性、官能团的活性、胞内物质的溶解性或电离性等,

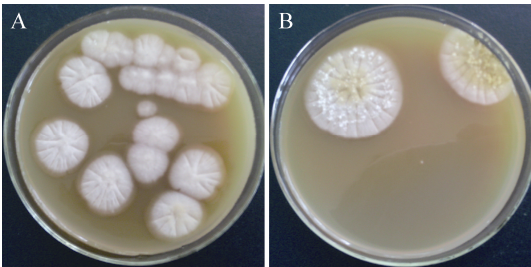


图 2 耐性真菌 HA  
Figure 2 Resistant fungus HA

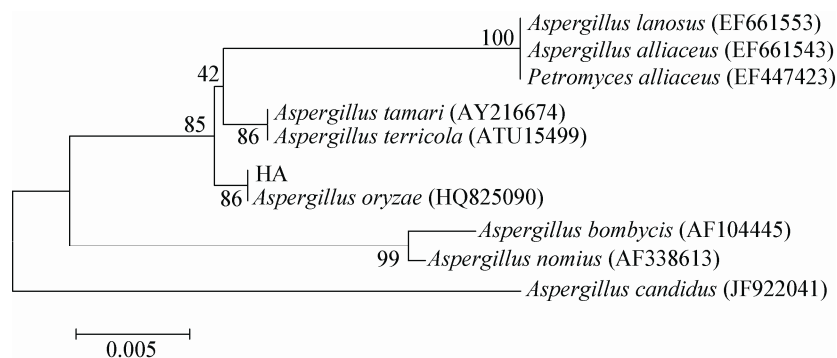


图3 HA与相关菌株的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree of HA and its relatives

注：括号中的序号表示 GenBank 登录号；树上的数字表示 Bootstrap 值；标尺表示分支长度。

Note: The numbers in parenthesis represent GenBank accession numbers. The numbers on each branch indicate the bootstrap values (1 000 bootstrap replicates). The scale bar defines branch length.

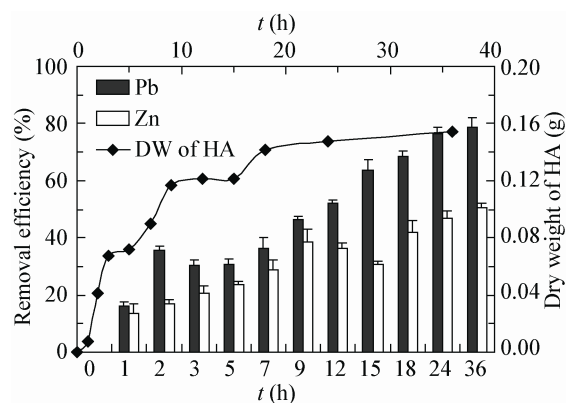


图4 HA的生长曲线及铅、锌去除率随时间的变化

Figure 4 The growth curve of HA and the variation on the removal of Pb(II) and Zn(II) with time

对于不同的菌株，其最适 pH 范围不同，了解菌株的合适 pH 范围，有助于微生物在生产中的应用<sup>[20]</sup>。将 HA 加入不同 pH 值的培养基培养后，其对铅、锌去除率的影响如图 5 所示。

由图 5 可以看出，pH 对 HA 的吸附能力影响很大。HA 对铅、锌离子的去除率均在 pH 为 5.0 时达到最高，去除率分别为 97.8%、54.1%；当 4.0<pH<5.0 时，随着 pH 值增大，铅、锌离子的去除率增加；当 pH>5.0 时，铅、锌离子的去除率随 pH 增加而减小。这可能是由于 pH 较低时，溶液中大量的 H<sup>+</sup>和 H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>与金属阳离子竞争细胞表面吸附位点，菌体对重金属离子的吸附量随 pH 的降低而减少；而当 pH

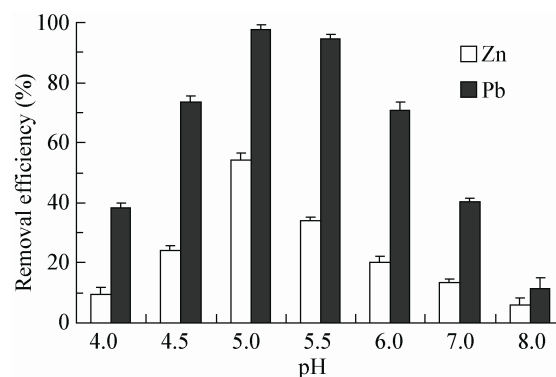


图5 pH值对铅、锌去除率的影响

Figure 5 Effects of pH value on the removal of Pb(II) and Zn(II)

值升高时，由于细胞表面的金属离子可能形成氢氧化物沉淀，影响到细胞酶等载体的协助运输作用，从而影响菌体的吸附作用，导致菌体对金属离子的吸附率降低<sup>[12,18,21]</sup>。此外，本实验中，pH>6.0 时，培养基中会产生不同程度的沉淀，但随着培养时间增加，沉淀又会明显减少，这表明该菌在生长过程中对氢氧化物沉淀有明显的吸附或吸收作用。因此，有必要对其胞外物质及胞内器官吸收情况开展进一步的研究。

**2.4.2 初始浓度 Pb<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>对吸附的影响：**将 HA 加入不同浓度梯度铅、锌离子的培养基后，其对铅、锌去除效果如图 6 所示。

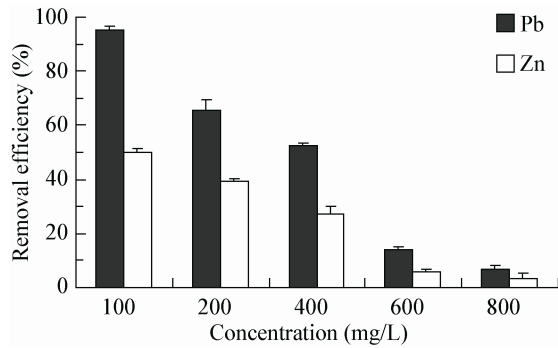


图6 不同初始浓度对铅、锌去除率的影响

Figure 6 Effects of initial concentration on the removal of Pb(II) and Zn(II)

由图 6 可知, 当铅、锌离子的初始浓度为 100 mg/L 时, HA 对铅离子的去除率高达 95.1%, 对锌离子的去除率为 49.9%。这表明该菌对铅的吸附能力比锌的更强。当铅、锌初始浓度增加时, HA 对重金属的去除率随铅锌浓度的增加明显下降。在铅锌浓度为 800 mg/L 时, HA 对铅、锌离子的去除率分别仅为 6.7% 和 3.4%。这可能是由于在低金属离子浓度条件下, 菌体表面存在丰富的吸附活性位点, 当金属离子浓度不断加大时, 溶液中的离子彼此竞争吸附活性位点, 从而降低了菌体对金属离子的吸附率<sup>[22-24]</sup>。李慧芬等<sup>[25]</sup>研究表明, 离子浓度越大, 菌株的生物吸附量也越大, 但菌株对离子的去除能力则会因为离子间对吸附位点的竞争而有所减少, 本实验的研究结果与之相类似。本实验中, 在 pH 为 5.0, 初始离子浓度大于 200 mg/L 时, 溶液中会产生一定量的沉淀, 随着培养时间的增加, 沉淀的量有明显的减少。

**2.4.3 接种量对吸附的影响:** 在含铅、锌离子的培养基中接种不同的菌量, 研究 HA 不同接种量对铅、锌离子去除率的影响, 结果见图 7。

由图 7 可知, 随着接种量的增加, HA 对  $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  的去除率增加。这是因为接种量越高, 菌给重金属离子提供的吸附位点越多, 重金属的去除率就越高, 总的生物吸附量也越多<sup>[25]</sup>。但是去除率并不随菌体加入量的增加而成比例升高。如图 7 所示, 当接种量从 0.5 mL 增加到 1 mL 时, HA 的接种量

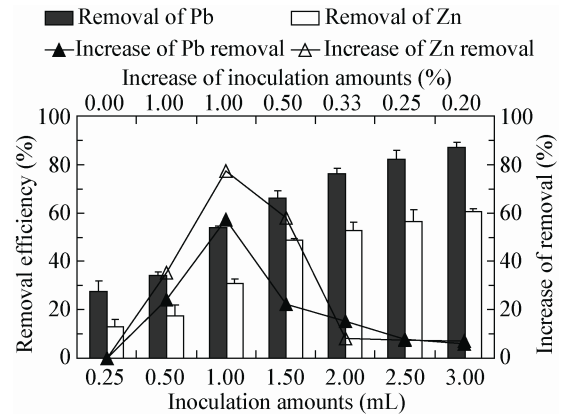


图7 不同接种量对铅、锌去除率的影响

Figure 7 Effects of inoculation amounts on the removal of Pb(II) and Zn(II)

的增长率为 100%, 其对铅、锌离子的去除率的增长率分别为 57.4%、77.1%; 而当 HA 的接种量从 1 mL 增加到 2 mL 以及 2 mL 增加到 3 mL 时, 其对铅、锌离子的去除率的增长率仅分别为 37.7%、66.4% 和 13.7%、14.3%。这说明在金属浓度确定的吸附体系中, 只要菌体表面吸附位点未达到饱和, 其对重金属的去除率增加, 但当菌体投加量达到一定数量以后, 再继续增加, 对去除率作用不明显<sup>[26]</sup>。因此, 在实际应用中, 为了保证较高去除率又节约成本, 接种量不宜选择过大。

## 2.5 菌株对重金属的吸附机理研究

**2.5.1 等温吸附模型:** 为了模拟吸附过程, 人们提出了一些数学方程, 其中以 Langmuir 和 Freundlich 方程应用最为广泛<sup>[27-28]</sup>。本研究用 Langmuir 和 Freundlich 两种平衡吸附模型模拟 HA 对铅、锌离子吸附过程进行了线性拟合, 结果如图 8 所示, 由拟合线计算出的参数见表 1。对比两种模型可知, HA 对铅、锌离子的吸附 Langmuir 模型的线性相关系数  $R^2$  (0.986 8 和 0.977 4) 高于 Freundlich 模型 (0.801 4 和 0.848 0)。因此, Langmuir 吸附模型更满足此吸附过程。说明 HA 对铅、锌离子的吸附以单层吸附为主, 即随着浓度的增加, 微生物对重金属离子的吸附量也增加, 当浓度大于一定值时, 吸附达到平衡并趋于饱和状态。这种吸附现象一般与金属离子在细胞表面的化学机制有关<sup>[29]</sup>。



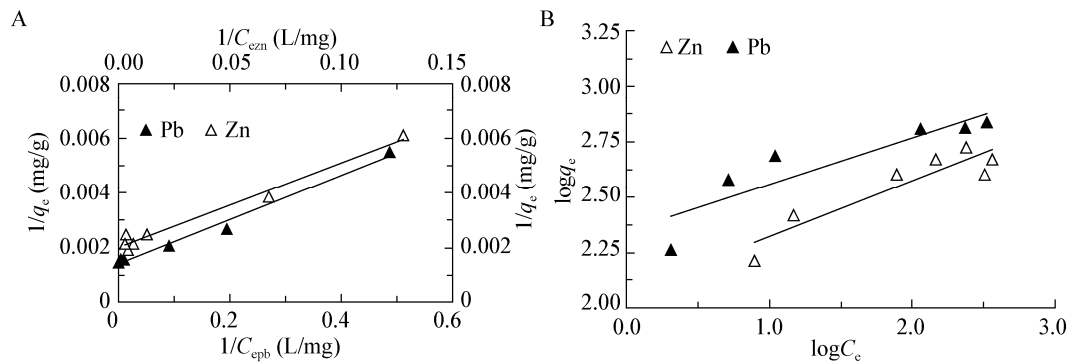


图 8 HA 吸附铅、锌离子的 Langmuir 模型(A)和 Freundlich 模型(B)  
Figure 8 Langmuir (A) and Freundlich (B) adsorption model on the biosorption of Pb(II) and Zn(II)

表 1 Langmuir 与 Freundlich 模型参数							
	Langmuir 模型			Freundlich 模型			
	Langmuir model			Freundlich model			
	$K_L$ (mg <sup>-1</sup> )	$q_m$ (mg/g)	$R^2$	$R_L$	$K_F$ (g <sup>-1</sup> )	$n$	$R^2$
Pb	0.172 8	694.444 4	0.986 8	0.001 8	10.439 5	4.737 1	0.801 4
Zn	0.024 2	476.190 5	0.974 4	0.049 1	7.208 8	2.509 4	0.848 0

Langmuir 吸附模型由  $q_m$  与  $K_L$  这两个常数共同决定,  $q_m$  表示在特定条件下吸附剂对金属离子的最大吸附量, 而吸附常数  $K_L$  是指金属离子与吸附剂结合稳定性的量度,  $K_L$  越大, 表明两者结合越稳定<sup>[30]</sup>。由表 1 可知, HA 吸附铅离子的  $q_m$  为 694.4 mg/g, 吸附锌离子的  $q_m$  为 476.2 mg/g, 且 HA 吸附铅离子的  $K_L$  (0.172 8) 高于吸附锌离子的

(0.024 2), 说明 HA 对铅离子有更高的吸附效率。另外, HA 对铅、锌离子吸附的  $R_L$  值都在 0–1 的范围内, 表明 HA 对铅、锌的吸附都属于有利吸附。  
**2.5.2 吸附动力学模型:** 对实验数据采用了准一级动力学和准二级动力学模型拟合, 结果见图 9, 根据动力学模型的拟合线, 得动力学常数, 如表 2 所示。

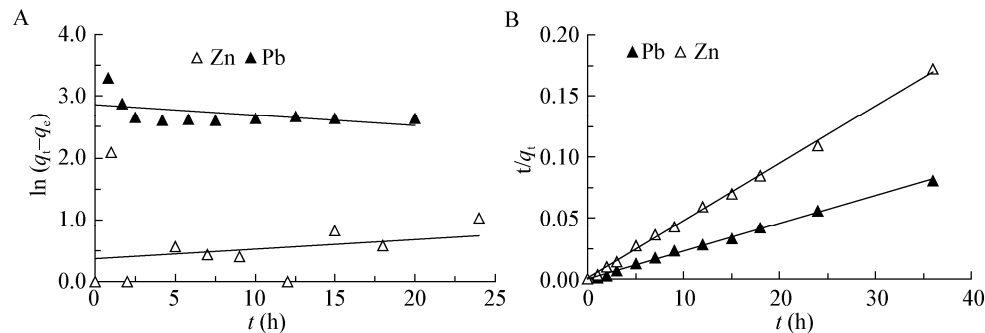


图 9 HA 对铅、锌离子吸附的一级动力学模型(A)和二级动力学模型(B)  
Figure 9 Pseudo-first-order (A) and pseudo-second-order (B) adsorption kinetics model on the biosorption of Pb(II) and Zn(II)

表 2 准一级和二级动力学常数							
Table 2 Pseudo-first-order and pseudo-second-order adsorption kinetics model constants							
	$q_{e0}$ (mg/g)	准一级动力学模型			准二级动力学模型		
		Pseudo-first-order kinetics model			Pseudo-second-order kinetics model		
		$q_{e1}$ (mg/g)	$k_1$ ( $h^{-1}$ )	$R^2$	$q_{e2}$ (mg/g)	$k_2$ (g/(mg·h))	$R^2$
Pb	427.61	17.416	0.032 7	0.245 6	434.78	0.010 6	0.997 8
Zn	199.78	2.227	0.034 3	0.043 8	204.08	0.048 1	0.996 2

从图 9 和表 2 可以看出, HA 对铅、锌离子的吸附动力学都能较好的满足准二级动力学模型( $R^2$  分别为 0.997 8 和 0.996 2); 准一级动力学模型中的  $R^2$  分别为 0.245 6 和 0.043 8, 线性关系较差。另外, 实验测得的  $q_{e0}$  值(427.6、199.8 mg/g)与由准二级动力学模型计算出来的  $q_{e2}$  值(434.8、204.1 mg/g)相差不大, 理论值稍高于实验值; 而与准一级动力学模型的  $q_{e1}$  值(17.4、2.2 mg/g)与实验值相差较远。

由此可见, 准二级动力学吸附模型更适于描述 HA 对  $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  离子的动态吸附过程。这与其他关于重金属微生物吸附动力学研究的结果一致<sup>[4]</sup>。

由图 9 准二级动力学方程线性拟合线的斜率可知, HA 对  $Pb^{2+}$  的吸附效果明显高于  $Zn^{2+}$ , 这与 2.4.2 的结果相一致。这可能是由于在吸附过程中,  $Pb^{2+}$  更能与 HA 表面的吸附位点进行结合。然而,  $k_2$  显示, 相比于 HA 对  $Pb^{2+}$  的吸附, 其对  $Zn^{2+}$  的吸附是一个较快速的过程。这可能是由于 HA 表面有相对较少的  $Zn^{2+}$  吸附位点, 对  $Zn^{2+}$  的吸附也更容易达到

饱和。

**2.5.3 红外光谱分析:** 根据以前的文献报道<sup>[15,20,31]</sup> 对吸附铅、锌前后的红外光谱图进行分析, 对比图 10 中 HA 吸附铅、锌前后的红外光谱图可知, 羟基的最大吸收峰峰型变窄, 且位置从  $3\,292\,cm^{-1}$  迁移至  $3\,288\,cm^{-1}$ ; 蛋白质、糖类物质中的烷基的振动吸收峰从  $2\,931\,cm^{-1}$  迁移至  $2\,929\,cm^{-1}$ ; 位于  $1\,651\,cm^{-1}$  和  $1\,543\,cm^{-1}$  处酰胺 I 带(C=O 的伸缩振动)和酰胺 II 带(N-H 的弯曲振动与 C-N 伸展振动的叠加)吸收峰较吸附重金属前明显增强, 且分别迁移至  $1\,656$ 、 $1\,547\,cm^{-1}$ ;  $1\,453\,cm^{-1}$  处的羧酸盐 C=O 振动吸收峰明显减弱;  $1\,244\,cm^{-1}$  处的 P=O 和 C=S 的伸缩振动以及 C-O 与 O-H 的叠加吸收峰迁移至  $1\,241\,cm^{-1}$ ;  $1\,030$ – $1\,080\,cm^{-1}$  间的  $-PO_4^{3-}$ 、胺基中的 C-N 的伸缩振动和糖环的振动吸收峰从  $1\,077\,cm^{-1}$  迁移至  $1\,034\,cm^{-1}$ , 位移较大, 且明显增强; 吸附重金属后,  $600\,cm^{-1}$  以下处出现了两处较明显的 M-O 和 O-M-O (M-金属离子)振动吸收峰。

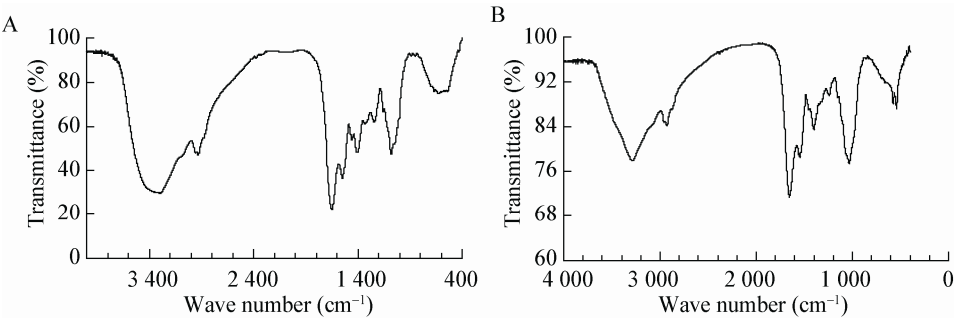


图 10 HA 吸附铅锌前(A)后(B)的红外光谱图

Figure 10 IR spectrogram of HA before (A) and after (B) adsorbing Pb(II) and Zn(II)



因此, IR 分析表明, HA 细胞中羟基、烷基、酰胺基、羰基、磷酸基等与  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  之间发生了相互作用, 使特征峰吸收强度和位置都出现不同程度的变化, 这与其他学者提出细胞中参与  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  吸附的主要是羟基、烷基、酰胺基、羰基、磷酸基等官能团的结论相似<sup>[12,32]</sup>。

### 3 结论

虽然, 国内外有不少关于筛选出耐重金属微生物的报道, 但对  $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  都有较强耐性的真菌鲜有报道, 本实验从铅锌矿区筛选的耐性菌 HA 经鉴定为米曲霉, 其对  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  都有较强的吸附能力。当  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  初始浓度为 100 mg/L 时, 25 h 后 HA 的生长进入平稳期, 其对  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  的去除率也趋于稳定; 当 pH 为 5.0 时, HA 对铅、锌离子的去除率均达到最高, 分别为 97.8%、54.1%; HA 对铅、锌离子的去除率随着其初始浓度增加而减小, 但当  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  初始浓度较高(>200 mg/L)和 pH>6.0 时, 液体培养基中会产生一定量的氢氧化物沉淀, 而随着培养时间增加, 沉淀又会明显减少, 其与 HA 的作用机理还有待进一步研究。当 HA 接种量为 1 mL 时, 其对铅、锌去除率的增长率达到最大, 因此在实际应用中, 在保证效率又节约成本的前提下, 菌体的接种量不宜选择过大。

吸附过程中, Langmuir 吸附线性模型的相关系数(0.986 8 和 0.977 4)高于 Freundlich 模型(0.801 4 和 0.848 0)。表明 HA 对铅、锌离子的吸附过程以单层吸附为主, 当初始浓度大于平衡浓度时, 吸附逐渐达到平衡并趋于饱和状态。动力学数据分析采用准一级动力学和准二级动力学模型拟合, 结果表明, 准二级动力学吸附方程比准一级动力学方程更适于描述 HA 对  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  离子的动态吸附过程。IR 分析表明, HA 细胞中羟基、烷基、酰胺基、羰基、磷酸基等参与了  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  的吸附, 使特征峰吸收强度和位置都出现不同程度的变化。

### 参考文献

[1] Zaidi S, Usmani S, Singh BR, et al. Significance of *Bacillus*

- subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*[J]. Chemosphere, 2006, 64(6): 991-997
- [2] Long MR, Xie XL, Feng GD, et al. Isolation and identification of cadmium-tolerant filamentous fungi from lead-zinc tailings[J]. Microbiology China, 2013, 40(12): 2203-2216 (in Chinese)  
隆美容, 谢小林, 冯广达, 等. 铅锌尾矿中耐重金属菌的丝状真菌的分离鉴定[J]. 微生物学通报, 2013, 40(12): 2203-2216
- [3] Klimek B. Effect of long-term zinc pollution on soil microbial community resistance to repeated contamination[J]. Bull Environment Contaminate Toxicol, 2012, 88(4): 617-622
- [4] Zhou W, Zhang XP, Kang JT. Absorption of Pb(II) and Zn(II) by microorganisms isolated from mine soil[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2009, 3(10): 1906-1911 (in Chinese)  
周薇, 张小平, 康纪婷. 从矿区土壤中筛选微生物对  $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  吸附的研究[J]. 环境工程学报, 2009, 3(10): 1906-1911
- [5] Amoozegar MA, Ghazanfari N, Didari M. Lead and cadmium bioremoval by *Halomonas* sp., an exopolysaccharide-producing halophilic bacterium[J]. Progress in Biological Sciences, 2012, 2(1): 1-11
- [6] Xue GS, Hu LJ, Tian Y, et al. Research progress on microbial remediation of controlling heavy metal pollution[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(11): 266-271 (in Chinese)  
薛高尚, 胡丽娟, 田云, 等. 微生物修复技术在重金属污染治理中的研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(11): 266-271
- [7] Deng Z, Cao L, Huang H, et al. Characterization of Cd-and Pb-resistant fungal endophyte *Mucor* sp. CBRF59 isolated from rapes (*Brassica chinensis*) in a metal-contaminated soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 185(2): 717-724
- [8] Pérez Silva RM, Ábalos Rodríguez A, Gómez Montes De Oca JM, et al. Biosorption of chromium, copper, manganese and zinc by *Pseudomonas aeruginosa* AT18 isolated from a site contaminated with petroleum[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(4): 1533-1538
- [9] Velmurugan N, Hwang G, Sathishkumar M, et al. Isolation, identification, Pb(II) biosorption isotherms and kinetics of a lead adsorbing *Penicillium* sp. MRF-1 from South Korean mine soil[J]. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(7): 1049-1056
- [10] Govarathanan M, Lee KJ, Cho M, et al. Significance of autochthonous *Bacillus* sp. KK1 on biomineralization of lead in mine tailings[J]. Chemosphere, 2013, 90(8): 2267-2272
- [11] Ahemad M, Malik A. Bioaccumulation of heavy metals by zinc resistant bacteria isolated from agricultural soils irrigated with wastewater[J]. Bacteriology Journal, 2012, 2(1): 12-21
- [12] Jin Y, Qu JJ, Li Y, et al. Isolation, identification and Pb(II) biosorption characterization of a lead-resistant strain[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2013, 33(8): 2248-2255 (in Chinese)  
金羽, 曲娟娟, 李影, 等. 一株耐铅细菌的分离鉴定及其吸附特性研究[J]. 环境科学学报, 2013, 33(8): 2248-2255
- [13] Yang L, Hao RX, Wu P, et al. Isolation of lead-tolerant fungus and the adsorption effect to Pb(II)[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2012, 32(10): 2366-2374 (in Chinese)  
杨亮, 郝瑞霞, 吴洋, 等. 耐受铅真菌的筛选及其对铅离子吸附的初步研究[J]. 环境科学学报, 2012, 32(10): 2366-2374
- [14] Feng H, Li YT, Zhang G, et al. Screening, identification of fungi with high cadmium-resistance and its solubilization capacity of insoluble phosphates[J]. Journal of South China Agricultural University, 2013, 34(2): 177-181 (in Chinese)  
冯宏, 李永涛, 张干, 等. 强抗镉真菌的分离鉴定及溶磷能力研究[J]. 华南农业大学学报, 2013, 34(2): 177-181

- [15] Gabr RM, Hassan SHA, Shoreit AAM. Biosorption of lead and nickel by living and non-living cells of *Pseudomonas aeruginosa* ASU 6a[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2008, 62(2): 195-203
- [16] Yang Y, Wei X, Wan J, et al. Equilibrium and kinetic characteristic of adsorption of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  on a novel anionic starch microspheres[J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2011, 219(1/4): 103-112
- [17] Cabuk A, Aka T, Tunali S. Biosorption characteristics of *Bacillus* sp. ATS-2 immobilized in silica gel for removal of  $\text{Pb(II)}$ [J]. Journal of Hazardous Materials, 2006, 136(2): 317-323
- [18] Gonte R, Balasubramanian K. Heavy and toxic metal uptake by mesoporous hypercrosslinked SMA beads: isotherms and kinetics[J]. Journal of Saudi Chemical Society, 2013, DOI: 10.1016/j.jscs.2013.04.003
- [19] Fereidouni M, Daneshi A, Younesi H. Biosorption equilibria of binary  $\text{Cd(II)}$  and  $\text{Ni(II)}$  systems onto *Saccharomyces cerevisiae* and *Ralstonia eutropha* cells: application of response surface methodology[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 168(2): 1437-1448
- [20] Velmurugan P, Shim J, You Y, et al. Removal of zinc by live, dead, and dried biomass of *Fusarium* sp. isolated from the abandoned-metal mine in South Korea and its perspective of producing nanocrystals[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 182(1): 317-324
- [21] Congeevaram S, Dhanarani S, Park J, et al. Biosorption of chromium and nickel by heavy metal resistant fungal and bacterial isolates[J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, 146(1): 270-277
- [22] Cai JL, Huang Y, Li X. Cytological mechanisms of pollutants adsorption by biosorbent[J]. Chinese Journal of Ecology, 2008, 27(6): 1005-1011 (in Chinese)  
蔡佳亮, 黄艺, 礼晓. 生物吸附剂对污染物吸附的细胞学机理[J]. 生态学杂志, 2008, 27(6): 1005-1011
- [23] Shin MN, Shim J, You Y, et al. Characterization of lead resistant endophytic *Bacillus* sp. MN3-4 and its potential for promoting lead accumulation in metal hyperaccumulator *alnus firma*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 199: 314-320
- [24] Oves M, Khan MS, Zaidi A. Biosorption of heavy metals by *Bacillus thuringiensis* strain OSM29 originating from industrial effluent contaminated north Indian soil[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2013, 20(2): 121-129
- [25] Li HF, Lin YB, Wang NN, et al. Screening and identification of a heavy metal-resistant strain and optimization of its zinc biosorption conditions[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2013, 30(11): 2189-2196 (in Chinese)  
李慧芬, 林雁冰, 王娜娜, 等. 一株 Zn 抗性菌株的筛选鉴定及吸附条件优化[J]. 环境科学学报, 2013, 30(11): 2189-2196
- [26] Zhang JM. Study on absorption of heavy metal ions  $\text{Cr(III)}$ ,  $\text{Mn(II)}$  and  $\text{Zn(II)}$  by *Rhizopus tonkinesis*[J]. Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control, 2006, 7(8): 64-68 (in Chinese)  
张建梅. 东京根霉对重金属  $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  的吸附研究[J]. 环境污染治理技术与设备, 2006, 7(8): 64-68
- [27] Zhou M, Liu YG, Li X, et al. Kinetic studies on  $\text{Cr(VI)}$  biosorption by *Bacillus licheniformis*[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2006, 12(1): 84-87 (in Chinese)  
周鸣, 刘云国, 李欣, 等. 地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*) 对  $\text{Cr}^{6+}$  的吸附动力学研究[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(1): 84-87
- [28] Katsou E, Malamis S, Haralambous KJ, et al. Use of ultrafiltration membranes and aluminosilicate minerals for nickel removal from industrial wastewater[J]. Journal of Membrane Science, 2010, 360(1): 234-249
- [29] Khani MH, Keshtkar AR, Ghannadi M, et al. Equilibrium, kinetic and thermodynamic study of the biosorption of uranium onto *Cystoseira indica* algae[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 150(3): 612-618
- [30] Huang LZ, Zeng GM, Huang GH, et al. Adsorption of  $\text{Pb(II)}$  in water onto *Hydrilla verticillata*[J]. Environmental Protection of Chemical Industry, 2008, 28(4): 288-291 (in Chinese)  
黄灵芝, 曾光明, 黄国和, 等. 黑藻对铅离子的生物吸附[J]. 化工环保, 2008, 28(4): 288-291
- [31] Wang JS, Hu XJ, Wang J. The tolerance of *Rhizopus arrhizus* to  $\text{U(VI)}$  and biosorption behavior of  $\text{U(VI)}$  onto *R. arrhizus*[J]. Biochemical Engineering Journal, 2010, 51(1): 19-23
- [32] Aty AMA, Ammar NS, Ghafar HHA, et al. Biosorption of cadmium and lead from aqueous solution by fresh water alga *Anabaena sphaerica* biomass[J]. Journal of Advanced Research, 2013, 4(4): 367-374