

絮凝酵母吸附 Cr(VI) 的机理

陈丽杰, 王志存, 葛旭萌, 白凤武

大连理工大学生命科学与技术学院, 大连 116024

摘要: 絮凝酵母 SPSC01 为酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 和粟酒裂殖酵母 *Schizosaccharomyces pombe* 的融合菌株, 用其吸附水溶液中的重金属 Cr(VI), 可以大大降低生物吸附的固液分离成本。为了探讨 SPSC01 菌体絮凝蛋白对 Cr(VI) 还原吸附的影响, 对 SPSC01 与其亲本菌株的吸附行为进行了比较。结果表明, SPSC01 和其具有絮凝性状的亲本 *S. pombe* 的 Cr(VI) 去除速率基本同步, 远优于无絮凝性状的亲本 *S. cerevisiae*; 达到吸附平衡时, *S. pombe*、SPSC01 和 *S. cerevisiae* 对总 Cr 去除率分别达 68.8%、48.6% 和 37.5%; 从而证明了絮凝有利于 Cr(VI) 的还原、吸附, 絮凝蛋白在 Cr(VI) 的还原吸附过程中起促进作用。通过化学屏蔽方法和傅立叶变换红外光谱 (FTIR) 分析, 对 SPSC01 菌体表面吸附 Cr(VI) 的机理进行了研究, 结果表明 SPSC01 菌体表面吸附 Cr(VI) 起主要作用的基团是氨基、羧基和酰胺基。

关键词: 絮凝酵母, 生物吸附, Cr(VI), 吸附机理

Mechanism of Cr(VI) biosorption by flocculating yeast

Lijie Chen, Zhicun Wang, Xumeng Ge, and Fengwu Bai

School of Life Science and Biotechnology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China

Abstract: The flocculating yeast strain SPSC01 is a fusant strain of *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces pombe*. The use of SPSC01 to absorb Cr(VI) from Cr(VI) containing aqueous solution would greatly reduce the cost of post-adsorption separation, since the superior flocculating property of SPSC01 would allow easy separation of the Cr(VI)-biomass from the solution. In order to investigate the effects of flocculating proteins on Cr(VI) reduction and adsorption by SPSC01, the adsorption behaviors of SPSC01 and its parental strains were compared. The results showed that Cr(VI) removal rate of SPSC01 was almost the same as that of *S. pombe*, which also has flocculating ability, but was faster than that of *S. cerevisiae*, which has no flocculating ability. When the system reached equilibrium, the amount of total Cr adsorbed by *S. pombe*, SPSC01 and *S. cerevisiae* were 68.8%, 48.6% and 37.5%, respectively. This showed that flocculation was beneficial to Cr(VI) reduction and adsorption, and suggested that flocculating proteins may play a role in enhancing the Cr(VI) adsorption capacity of SPSC01 and *S. pombe*. We investigated the mechanism of Cr(VI) adsorption by SPSC01 using chemical modification and FTIR. The results indicated that the major functional groups (amino, carboxyl and amide) of surface proteins may contribute to the adsorption of Cr(VI).

Keywords: flocculating yeasts, biosorption, Cr(VI), mechanisms of adsorption

Received: April 23, 2010; **Accepted:** June 11, 2010

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 20806014).

Corresponding author: Fengwu Bai. Tel/Fax: +86-411-84706329; E-mail: fwbai@dlut.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 20806014) 资助。

重金属污染是当今世界严重的环境问题之一^[1]。Cr 是一种典型的重金属污染物。处理重金属污染的传统方法包括: 化学沉淀、离子交换、活性炭吸附等。它们的缺点在于处理费用高, 并且在低浓度时 (<100 mg/L) 处理效率低^[2]。重金属生物吸附法可以克服传统处理方法的弊端^[3-4], 并且生物吸附剂来源广泛、成本低廉。但是由于生物吸附剂尺度小、密度低、固液分离困难致使其在重金属废水处理领域的应用受到限制, 因此生物吸附剂的固定化技术和相关的研究受到极大关注, 目前已有大量的研究成果发表^[5-10]。然而以包埋、交联等传统的固定化技术所实现的生物吸附剂固定化存在传质性能差、制备成本高等工程应用问题。细胞自絮凝是固定化细胞技术中全新的概念, 这种无载体固定化细胞技术是利用细胞自絮凝颗粒作为一种固定化细胞的方法, 与传统固定化方法比较具有传质阻力小、不产生细胞固定化过程附加成本的优势。近年来, 絮凝微生物在水污染治理中的重要地位逐渐被人们认可, 利用自絮凝微生物处理重金属的研究已有报道^[11-12], 但未涉及到吸附机理的研究。本实验所采用的絮凝酵母 SPSC01 为絮凝性状优良、已经投入燃料乙醇工业生产的融合酵母菌, 具有自絮凝形成颗粒的特性, 用其吸附重金属 Cr(VI), 可以降低固液分离成本, 有良好的实际应用前景。

酵母絮凝的机理被认为是类凝集素作用的蛋白-糖结合机理, 即由细胞表面蛋白 (类似于凝集素蛋白) 和细胞外壁的甘露糖结合而引起的细胞凝聚^[13-14]。因此, 对絮凝酵母细胞表面吸附机理的研究十分必要。近年来生物吸附剂对 Cr(VI) 的表面吸附机制的研究工作已有多篇文章发表^[15-18]。表面吸附机制认为, 细胞壁是吸附反应的主要场所, 细胞壁的多糖、蛋白和脂类中的一些基团与 Cr 形成离子键、共价键等形式, 而使 Cr 吸附到生物吸附剂上。细胞壁表面的主要作用基团包括氨基、羧基、羟基、酰胺基和磷酸基等。Park 等^[19]通过酸处理、有机溶剂处理、氨基甲基化和羧基氨基化等方法结合 FTIR 方法发现, 氨基和羧基对于 Cr(VI) 的吸附起重要作用。

Kapoor 和 Viraraghavan^[20]也得到同样结果, 并发现磷酸基和脂类对吸附基本不起作用。Das 和 Guha^[15]通过红外光谱等方法认为, Cr(VI) 首先通过氢键等作用力与生物材料结合, 后被还原为 Cr(OH)₃。Seki 等^[16]得到相反的结果, 其发现甲基化羧基可以使酵母对 Cr(VI) 的吸附量增大, 因此指出细胞壁是微生物防止重金属进入细胞的第一道屏障, 带负电荷的羧基基团可以防止 Cr(VI) 的渗透。

本文对絮凝酵母还原吸附 Cr(VI) 进行了研究, 在实验室现有条件的基础上, 借鉴前人实验方法 (FTIR 和化学修饰), 探讨了絮凝酵母细胞壁蛋白 (包括絮凝蛋白) 在还原、吸附过程中的作用, 为絮凝酵母定向改造、强化絮凝酵母的吸附能力以及絮凝酵母应用于重金属及其他污染物治理的研究和开发提供了参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

SPSC01: 本课题组于 1997 年以酿酒酵母和粟酒裂殖酵母为亲本, 经过原生质体融合技术获得的具有高乙醇发酵性能和强絮凝能力的融合菌。

Schizosaccharomyces pombe: SPSC01 的亲本菌株之一, 具有自絮凝能力的粟酒裂殖酵母。

Saccharomyces cerevisiae: SPSC01 的另一亲本菌株, 乙醇发酵性能优良的酿酒酵母。

酵母培养基 (g/L): 无水葡萄糖 60, 蛋白胨 4, 酵母浸粉 4, 121 °C 灭菌 20 min。

酵母斜面保存培养基 (g/L): 无水葡萄糖 30, 蛋白胨 4, 酵母浸粉 4, 琼脂粉 20, 121 °C 灭菌 20 min。

Cr(VI) 溶液 (50 mg/L): 充分烘干的分析纯重铬酸钾与纯净水配制成 50 mg/L 的 Cr(VI) 溶液。

1.2 试剂及仪器

所用试剂有重铬酸钾、丙酮、浓硫酸、浓硝酸、磷酸、盐酸、氢氧化钠、溴化钾、二苯碳酰二肼、尿素、亚硝酸钠、高锰酸钾、乙醇、甲醇、甲醛、甲酸、三氯化铬等, 均为分析纯。

酶标仪 (Thermo electron corporation), 傅立叶红

外变换光谱仪 EQUINOX 55 型 (德国布鲁克公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 铬浓度测定

采用二苯碳酰二肼分光光度法测定溶液中 Cr(VI) 浓度^[21]。采用高锰酸钾氧化法测定溶液中总铬浓度^[22]。Cr(III) 浓度为总铬浓度与 Cr(VI) 浓度之差。

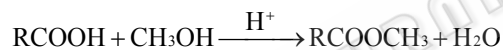
1.3.2 酵母细胞表面基团的屏蔽处理

利用化学方法屏蔽絮凝酵母菌体表面的不同基团, 并与未经处理的絮凝酵母的吸附行为进行比较, 以此研究絮凝酵母细胞表面主要基团在吸附中的作用。

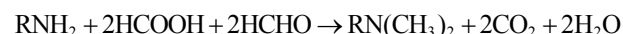
干燥酵母: 85 °C 烘干的 SPSC01。

NaOH 处理酵母^[23]: 将酸洗(0.1 mol/L 的 HCl) 的 SPSC01 与 1 L 0.1 mol/L 的 NaOH 反应 24 h, 再用去离子水洗去多余的 NaOH, 恒温 85 °C 烘干。

酵母表面羧基酯化^[24]: 将 SPSC01 用无水甲醇和浓盐酸按 65 : 0.6(V/V) 的比例酯化 24 h, 再用去离子水洗去多余的甲醇和盐酸, 恒温 85 °C 烘干。



酵母表面氨基甲基化^[24]: 将 SPSC01 用甲酸和甲醛按 1 : 2(V/V) 的比例反应 24 h, 再用去离子水洗去多余的甲酸和甲醛, 恒温 85 °C 烘干。



苯处理酵母^[24]: 将苯和 SPSC01 (按 1 g 干重对应 75 mL 苯的比例) 加热 6 h。过滤, 去离子水冲洗, 恒温 85 °C 烘干。苯处理的目的是溶解酵母细胞表面脂质。

酵母表面磷酸基酯化^[24]: 按 40 mL 亚磷酸三乙酯和 30 mL 硝基甲烷对应 1 g 干重 SPSC01 的比例加热 6 h。过滤, 去离子水冲洗, 恒温 85 °C 烘干。此处理的目的是将磷酸基团酯化。

1.3.3 傅立叶变换红外光谱 (FTIR) 分析

将各需测样品烘干, 研磨成粉状, 按约 1% 的样品比例与 KBr 充分研磨混合, 保持干燥, 压片, 利用傅立叶变换红外光谱仪测定红外吸收光谱图。

1.3.4 Cr(VI) 吸附实验

在磁力搅拌反应器中, 对比 SPSC01 与其亲本菌株的 Cr(VI) 吸附性能, 菌体干重 10 g/L, Cr(VI) 初始浓度 50 mg/L, 搅拌转速 150 r/min, 30 °C, 初始 pH 2。

利用摇瓶实验研究酵母细胞表面基团对于吸附的作用, 菌体干重 10 g/L, Cr(VI) 初始浓度 50 mg/L, 转速 150 r/min, 30 °C, 初始 pH 2。

2 结果与分析

2.1 SPSC01 与其亲本菌株的 Cr(VI) 吸附性能对比

Cr(VI) 的去除速率是评价生物吸附材料性能的重要参数。以磁力搅拌罐为反应器, 对比 SPSC01、*S. pombe* 和 *S. cerevisiae* 的吸附性能。由图 1 可知, Cr(VI) 均被完全去除, SPSC01 和 *S. pombe* 的去除速率基本同步, 所需的平衡时间约为 8 h, 远低于 *S. cerevisiae* 的平衡时间 (约 24 h)。SPSC01 和 *S. pombe* 均为具有絮凝性状的酵母菌株, 絮凝蛋白对于酵母絮凝起了关键的作用^[25], 上述实验结果表明絮凝蛋白的存在对于酵母菌体对 Cr(VI) 的还原起到了积极的作用。

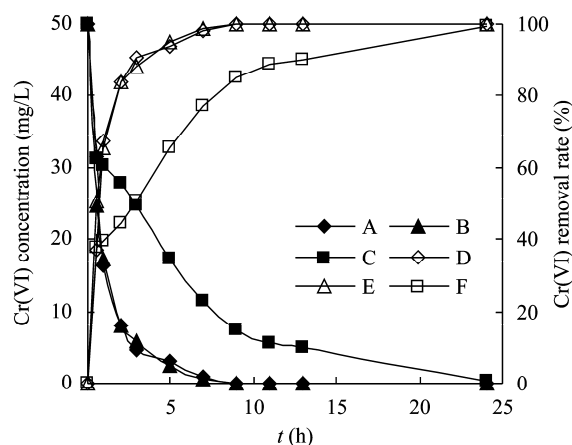


图 1 SPSC01 与其亲本菌株的 Cr(VI) 去除速率

Fig. 1 Cr(VI) removal speed of SPSC01 and parental strains. Cr(VI) concentration: A: SPSC01; B: *S. pombe*; C: *S. cerevisiae*. Cr(VI) removal rate: D: SPSC01; E: *S. pombe*; F: *S. cerevisiae*.

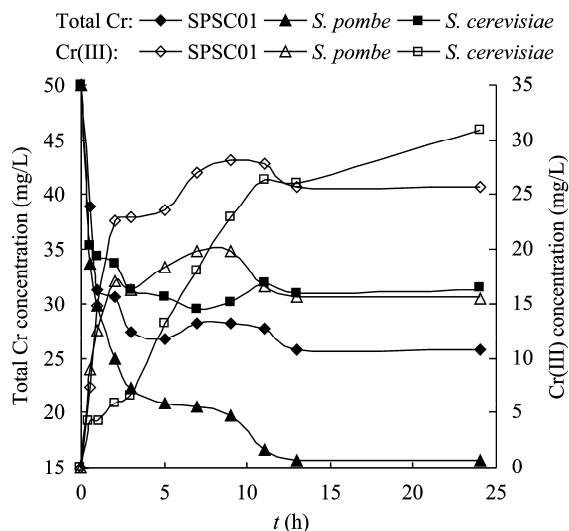


图 2 SPSC01 与其亲本菌株的总铬和 Cr(III) 浓度随时间变化

Fig. 2 Influence of time on total chromium and Cr(III) concentration of SPSC01 and parental strains.

由图 2 可见, 对总铬吸附量最大的是 *S. pombe*, 为 68.8%, *S. cerevisiae* 的吸附量最少, 为 37.5%, SPSC01 的吸附量为 48.6%。由于在 Cr(VI) 的吸附过程中, Cr(VI) 被还原为 Cr(III), 由 Cr(III) 的生成曲线可见, 相对于 *S. cerevisiae*, SPSC01 和 *S. pombe* 的还原速率较快, 而且在 Cr(VI) 被完全去除后, 仍有部分 Cr(III) 被 SPSC01 和 *S. pombe* 菌体吸附, 这说明絮凝蛋白的存在有利于 Cr(III) 的吸附。另外在 Cr(VI) 的还原吸附过程中, SPSC01 能够保持较好絮凝性状, 未发现解絮的现象。

以上的实验结果表明, SPSC01 不仅有优良的絮凝性状, 而且对于 Cr(VI) 的还原吸附能力也处于较高的水平, 再者 SPSC01 与 *S. pombe* 相比, 发酵性能更优, 已应用于燃料乙醇工业生产^[26], 菌体可以从发酵工业中大量获得, 作为生物吸附剂在 Cr(VI) 废水处理中有较高的应用价值。絮凝蛋白存在于细胞壁表面, 基团主要包括羧基、氨基和酰胺基, 研究其表面吸附机理可以为后期菌体定向改造, 强化絮凝酵母的吸附能力提供参考。

2.2 酵母细胞表面基团的吸附作用

由于酵母絮凝是由细胞表面蛋白 (类似于凝集

素蛋白) 和细胞外壁的甘露糖结合而引起的细胞凝聚^[13-14]。因此, 结合絮凝蛋白的作用, 对絮凝酵母细胞表面吸附机理的研究十分必要。通过摇瓶实验, 对 SPSC01 和不同化学屏蔽处理酵母菌体的 Cr(VI) 去除情况进行比较, 结果如图 3 所示。10 g/L 干重的菌体均能使 Cr(VI) 完全去除, 但去除平衡时间有明显差别。用干燥酵母 SPSC01(B) 吸附 Cr(VI), 可以最快地完全去除 Cr(VI), 仅需要 20 h, 其次是活性 SPSC01(A), 它所需的平衡时间是 36 h。其余 5 种菌体, 对比干燥酵母和活性酵母, 均表现为 Cr(VI) 去除平衡时间变长、去除速率变慢的现象。平衡时间长短顺序为: 羧基酯化菌体 (D) > NaOH 处理后菌体 (C) = 苯处理后菌体 (F) > 氨基甲基化菌体 (E) = 磷酸基酯化菌体 (G)。说明在 Cr(VI) 的去除过程中, 羧基、氨基和磷酸基均起到促进的作用, 因为在 pH 2 时, Cr(VI) 以 HCrO_4^- 形式存在, 此时羧基、氨基和磷酸基均被质子化, 以 $-\text{COOH}_2^+$ 、 $-\text{NH}_3^+$ 和 $-\text{PO}_3\text{H}_2^+$ 形式存在, 阴阳离子形成离子键, 从而使 HCrO_4^- 吸附到酵母表面。本结果与文献^[15,17-18]基本一致; 而 Seki 等^[16]指出细胞壁是微生物防止重金属进入细胞的第一道屏障, 负电羧基基团可以防止 Cr(VI) 的渗透, 甲基化羧基可以使酵母对 Cr(VI) 的吸附量增大, 与本文结果相反。利用 NaOH 处理酵母 (C), 理论上可以使酵母表面的酯基水解, 释放出羧基和羟基, 从而使 Cr(VI) 的去除速率更快; 但实验结果是 Cr(VI) 的去除速率变慢, 这可能是因为 NaOH 的处理会使酵母表面产生更多的负电基团, 使酵母表面电负性增强, 从而抑制了阴离子基团 HCrO_4^- 同酵母细胞表面的结合。苯处理酵母脂质 (F) 的结果与羧基酯化和氨基甲基化的结果相似, 这说明了脂质在 Cr(VI) 的吸附过程中也起到了一定的作用, 因为其含有羧基, 干燥酵母相对于活性酵母 SPSC01 表现出更高的速率, 这与 Rapoport 和 Muter^[27]的结果相似, 原因是烘干的酵母在再水合的过程中, 表面有分岔的甘露聚糖蛋白纤维 (在活性酵母表面不存在), 会暴露出更多的羧基和氨基, 这就使活性酵母的 Cr(VI) 去除速率低于脱水酵母。

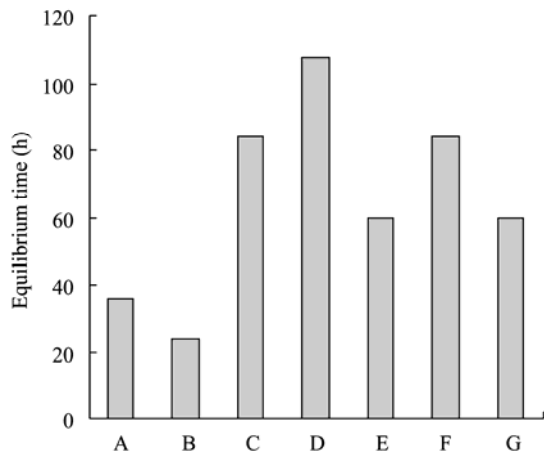


图 3 SPSC01 与不同化学屏蔽处理酵母菌体时 Cr(VI) 去除的平衡时间

Fig. 3 Equilibrium time of Cr(VI) removal of SPSC01 and yeasts of different chemical modification. A: SPSC01; B: drying yeasts; C: esterly-hydrolyzed yeasts; D: carboxyl-esterified yeasts; E: amine-methylated yeasts; F: lipid-extracted yeasts; G: phosphate esterified yeasts.

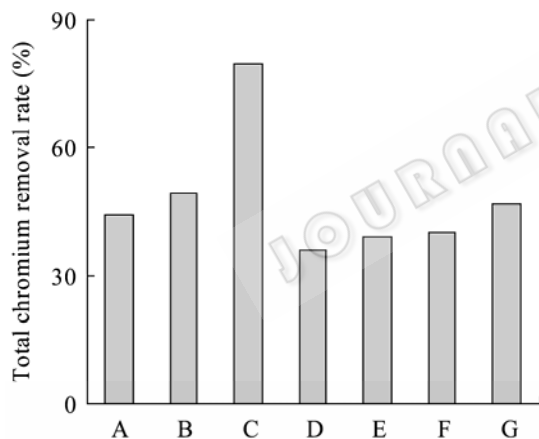


图 4 SPSC01 与不同化学屏蔽处理酵母菌体的总铬去除率

Fig. 4 Total chromium removal rate of SPSC01 and yeasts of different chemical modification. A: SPSC01; B: drying yeasts; C: esterly-hydrolyzed yeasts; D: carboxyl-esterified yeasts; E: amine-methylated yeasts; F: lipid-extracted yeasts; G: phosphate esterified yeasts.

总铬去除率反应了材料的吸附能力, 由图 4 可见, 干燥酵母 (B) 相对于活性酵母 (A), 吸附能力变强, 如 Rapoport 和 Muter^[27]所述, 干燥酵母会暴露出更多的羧基和氨基, 说明了羧基和氨基有利于吸附。所有酵母菌体中, 吸附能力最强的是 NaOH

处理后的酵母菌体 (C), 这是由于 NaOH 使酯基水解, 使菌体表面羧基增多, 从而证明了羧基在吸附 Cr 过程中起到了重要的作用; 羧基酯化 (D) 和苯处理后的菌体 (F) 的吸附能力明显降低, 也验证了羧基的作用。对比发现, 氨基甲基化的酵母菌体 (E) 吸附能力明显下降, 证明氨基在吸附中的促进作用。羧基和氨基均为蛋白组成基团, 证明了包括絮凝蛋白在内的酵母表面蛋白对于 Cr 的吸附起正向作用。实验发现磷酸基酯化菌体 (G) 的吸附能力稍微降低, 说明了磷酸基对于吸附起较弱的作用, 或者是由于酵母表面磷酸基基团所占的比例较小。

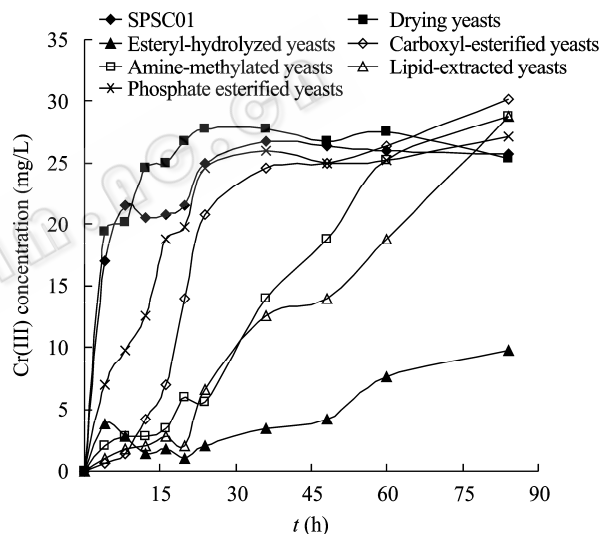


图 5 吸附过程中 SPSC01 与不同化学屏蔽处理酵母菌体的 Cr(III) 浓度

Fig. 5 Cr(III) concentration of SPSC01 and yeasts of different chemical modification.

图 5 所示为吸附过程中 SPSC01 与不同化学屏蔽处理酵母菌体的 Cr(III)浓度, 可以发现活性酵母 SPSC01(A)和干燥酵母(B)的还原速率最快, 其余酵母菌体的还原速率快慢顺序为: 磷酸基酯化菌体 (G)>羧基酯化菌体 (D)>氨基甲基化菌体 (E)>苯处理后菌体 (F)>NaOH 处理后菌体 (C)。这说明了屏蔽氨基和羧基之后, 降低了 Cr(VI) 的还原速率, 证明了这两种基团在 Cr(VI) 还原过程中的作用。酵母磷酸基酯化之后, 菌体的 Cr(VI) 还原速率略有降低, 说明磷酸基对于菌体对 Cr(VI) 还原起到的作用

较小。NaOH 处理后的菌体吸附最多的 Cr(III)，因此在重金属上清液中的 Cr(III) 的浓度最小，验证了上述实验结果。

综上所述，絮凝酵母 SPSC01 表面基团对于 Cr(VI) 的还原吸附作用大小如下：羧基 > 氨基 > 磷酸基。

2.3 傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 分析结果

图 6 和图 7 为将 SPSC01 用不同方法处理后的各种酵母菌体吸附 Cr(VI) 前后的红外光谱图，图 6 中干燥酵母的谱峰分析如表 1。

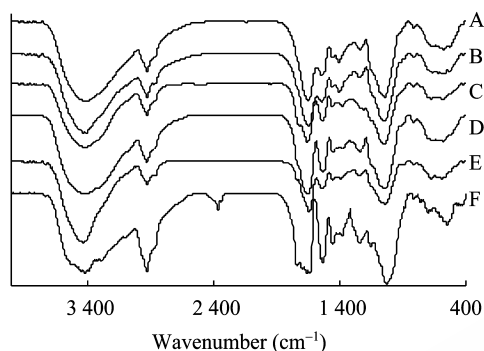


图 6 SPSC01 和不同化学屏蔽处理后的酵母菌体红外光谱图

Fig. 6 FTIR of SPSC01 and other yeasts of different chemical modification. A: drying yeasts; B: esteryl-hydrolyzed yeasts; C: carboxyl-esterified yeasts; D: amine-methylated yeasts; E: lipid-extracted yeasts; F: phosphate esterified yeasts.

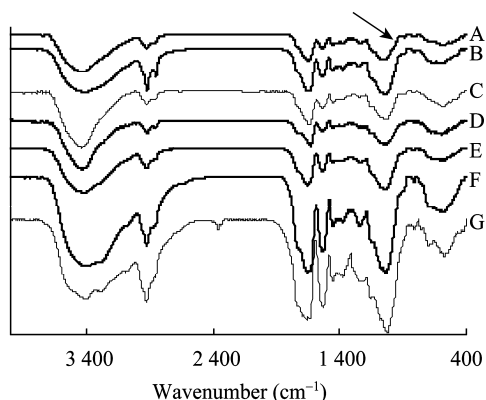


图 7 SPSC01 和不同化学屏蔽处理后的酵母菌体吸附 Cr(VI) 后的红外光谱图

Fig. 7 FTIR of SPSC01 and other yeasts of different chemical modification after Cr(VI) adsorption. A: SPSC01; B: drying yeasts; C: esteryl-hydrolyzed yeasts; D: carboxyl-esterified yeasts; E: amine-methylated yeasts; F: lipid-extracted yeasts; G: phosphate esterified yeasts.

表 1 干燥酵母空白对照谱峰分析

Table 1 The analysis of FTIR of drying SPSC01

Wavenumber (cm ⁻¹)	Assignment
3 430	The broad and strong band due to the overlapping of O-H and N-H stretching ^[28]
3 405	
2 925	C-H stretching of -CH ₃ and >CH ₂ functional groups ^[29]
2 856	
1 650	C=O stretching [Amide I or -COOM (M: Na, K, <i>et al</i>)] ^[30]
1 540	N-H stretching (Amide II) ^[30]
1 455	C=O stretching [-COOM (M: Na, K, <i>et al</i>)] ^[30]
1 407	C-N stretching (Amide III) ^[30]
1 241	C-N and N-H stretching (Amide IV), or P=O stretching ^[31]
1 045	C-O stretching, or P=O stretching ^[31]
919	O-H deformation vibration
809	C-C stretching, and N-H deformation vibration

从活性 SPSC01 吸附 Cr(VI) 后的 IR 图可以看出，相对于空白对照酵母 (图 6A) 来说，活性酵母吸附 Cr(VI) 之后 (图 7A)，其吸收频率 3 430 cm⁻¹ 和 3 405 cm⁻¹ 向高波数转移，至 3 444 cm⁻¹ 和 3 424 cm⁻¹，而且谱峰变窄了，这说明氨基和羟基在吸附过程中起到了一定的作用。在 1 720 cm⁻¹~1 730 cm⁻¹ 之间出现了较模糊的拐点，这是由于酵母细胞壁上的仲羟基被 Cr(VI) 氧化成了羰基的原因。酰胺 I 带，C=O 的伸缩振动，或者是解离羧基中 C=O 伸缩振动的峰由 1 650 cm⁻¹ 降低到 1 646 cm⁻¹，这是由于 Cr 与其结合的原因，可能是结合到了氧分子上，与氧形成了稳定的共价键。1 405 cm⁻¹ 的峰减弱，产生了 1 376 cm⁻¹ 的峰，C-O 的伸缩振动或者磷酸基伸缩振动峰 1 043 cm⁻¹ 升到了 1 051 cm⁻¹，这可以说明磷酸基在吸附过程中起到了作用。在 892 cm⁻¹ (箭头处) 产生了新的峰，这是 Cr=O 伸缩振动峰^[32]，说明在活性酵母吸附 Cr(VI) 的过程中，有 Cr 原子和 O 原子形成 Cr=O 而使 Cr(III) 吸附到酵母细胞上。

观察所有吸附过 Cr(VI) 的菌体 (图 7A-G) 和空白处理菌体 (图 6A-F)，可以看出，在未吸附 Cr(VI) 的菌体的红外光谱图上，均未发现 Cr=O 伸缩振动峰，而吸附过 Cr(VI) 的材料红外光谱图上均在 892 cm⁻¹ 左右出现了吸收峰，这证明了 Cr(VI)

被还原以后,与O原子形成Cr=O而被酵母吸附,Cr-O的伸缩振动的峰在 750 cm^{-1} 左右^[32],在本实验中未体现出来,说明不存在Cr原子和O原子之间形成的单键。

由于干燥酵母吸附Cr(VI)后的IR图(图7B)可见,利用干燥酵母处理Cr(VI)的结果相对于活性酵母吸附Cr(VI)的不同在于,其氨基和羟基伸缩振动峰 3430 cm^{-1} 、 3405 cm^{-1} 没有发生偏移。C-H伸缩振动,双峰是亚甲基的特征峰 2925 cm^{-1} 、 2856 cm^{-1} 降低到了 2919 cm^{-1} 、 2852 cm^{-1} ,而且峰的强度很大,在 1149 cm^{-1} 、 1076 cm^{-1} 出现2个新的峰,是C-N的伸缩振动峰,或者是酯类C-O-C的伸缩振动峰,这可能是由于干燥酵母加入到溶液中,在水合的过程中使其表面某些羟基、酯基基团暴露的原因。C-O的伸缩振动或者是磷酸基伸缩振动峰 1043 cm^{-1} 降低到了 1037 cm^{-1} 。其他谱峰,如: 1650 cm^{-1} 降低到 1648 cm^{-1} , 1405 cm^{-1} 的峰减弱,产生了新的 1373 cm^{-1} 、 892 cm^{-1} 的峰,这些与活性酵母吸附Cr(VI)之后的谱峰一致。对比磷酸基团酯化酵母吸附前后的IR图(图6F和图7G)发现, 2360 cm^{-1} 为水的吸收峰^[33],磷酸基伸缩振动峰 1043 cm^{-1} 至 1041 cm^{-1} 发生了稍微偏移,说明磷酸基团对于吸附的作用较小。

综上所述,在Cr(VI)的吸附还原过程中,羟基、磷酸基、氨基、羧基和酰胺基均起到了一定的效果,其中起主要作用的是氨基、羧基和酰胺基,均为蛋白组分基团;这说明酵母表面蛋白对于Cr(VI)的吸附还原起到了重要的作用。絮凝酵母SPSC01的絮凝性状缘于其表面絮凝蛋白的作用;当然酵母表面还有很多的其他类型蛋白,但可以确定絮凝蛋白不仅有利于后期的分离,而且在吸附还原的过程中也起到了积极的作用。

3 结论

本实验所用菌株SPSC01有优良的絮凝性状和发酵性能,菌体可以从发酵工业中大量获得,在

Cr(VI)吸附还原过程中能够保持其絮凝性状,在重金属生物吸附方面极具应用价值。

对比絮凝酵母SPSC01与其亲本菌株发现,尽管絮凝酵母的比表面积低于游离酵母,但仍表现出优于游离酵母的还原吸附能力,表明在Cr(VI)的还原吸附过程中絮凝蛋白起积极作用。

化学屏蔽处理结果表明,絮凝酵母SPSC01表面基团对于Cr(VI)的还原吸附作用大小如下:羧基>氨基>磷酸基。FTIR的分析结果表明,与Cr(VI)还原吸附相关的官能团包括:羟基、磷酸基、氨基、羧基和酰胺基,其中起主要作用的是氨基、羧基和酰胺基,均为蛋白组成基团,证明了包括絮凝蛋白在内的酵母表面蛋白对于Cr的吸附起正向作用。

综上所述,絮凝酵母SPSC01在重金属污染治理中有良好的应用前景,在对其表面吸附机理研究的基础上,后续研究工作可以考虑通过絮凝蛋白过量表达,以强化絮凝酵母SPSC01吸附能力。

REFERENCES

- [1] Wang JL, Chen C. Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnol Adv*, 2009, 27(2): 195–226.
- [2] Chang JS, Law R, Chang CC. Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21. *Wat Res*, 1997, 31(7): 1651–1658.
- [3] Say R, Denizal A, Arica MY. Biosorption of cadmium(II), lead(II) and copper(II) with the filamentous fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Biores Technol*, 2001, 76(1): 67–70.
- [4] Jia R, Pei MJ, Shi Y, et al. Studies on adsorption of Cu^{2+} by the fungus *Aspergillus* sp.. *Chin Environ Sci*, 2003, 23(3): 263–266.
莼荣, 裴明军, 史银, 等. 真菌 (*Aspergillus* sp.) 吸附 Cu^{2+} 的研究. *中国环境科学*, 2003, 23(3): 263–266.
- [5] Wang JL, Chen C. Research advances in heavy metal removal by biosorption. *Acta Sci Circum*, 2010, 30(4): 673–701
王建龙, 陈灿. 生物吸附法去除重金属离子的研究进展. *环境科学学报*, 2010, 30(4): 673–701.
- [6] Huang GL, Zhang HY, Shi JX, et al. Adsorption of Chromium (VI) from aqueous solutions using cross-linked

- magnetic chitosan beads. *Ind Eng Chem Res*, 2009, 48(5): 2646–2651.
- [7] Ting YP, Sun G. Use of polyvinyl alcohol as a cell immobilization matrix for copper biosorption by yeast cells. *J Chem Technol Biot*, 2000, 75(7): 541–546.
- [8] Abdel-Razek AS, Abdel-Ghany TM, Mahmoud SA, et al. The use of free and immobilized *Cunninghamella elegans* for removing cobalt ions from aqueous waste solutions. *World J Microb Biot*, 2009, 25(12): 2137–2145.
- [9] Gokhale SV, Jyoti KK, Lele SS. Modeling of chromium (VI) biosorption by immobilized *Spirulina platensis* in packed column. *J Hazard Mater*, 2009, 170(2/3): 735–743.
- [10] Zhou LC, Li YF, Bai X, et al. Use of microorganisms immobilized on composite polyurethane foam to remove Cu(II) from aqueous solution. *J Hazard Mater*, 2009, 167(1/3): 1106–1113.
- [11] Machado MD, Santos MSF, Gouveia C, et al. Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae*: the flocculation as a separation process. *Biores Technol*, 2008, 99(7): 2107–2115.
- [12] Ferraz AI, Teixeira JA. The use of flocculating brewer's yeast for Cr(III) and Pb(II) removal from residual wastewaters. *Bioproc Eng*, 1999, 21(5): 431–437.
- [13] Verstrepen KJ, Klis FM. Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts. *Mol Microbiol*, 2006, 60(1): 5–15.
- [14] Jin YL, Speers RA. Flocculation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Res Int*, 1998, 31(6/7): 421–440.
- [15] Das SK, Guha AK. Biosorption of chromium by *Termitomyces clypeatus*. *Colloid Surface B*, 2007, 60(1): 46–54.
- [16] Seki H, Suzuki A, Maruyama H. Biosorption of chromium (VI) and arsenic (V) onto methylated yeast biomass. *J Colloid Interf Sci*, 2005, 281(2): 261–266.
- [17] Prabhakaran SK, Vijayaraghavan K, Balasubramanian R. Removal of Cr(VI) ions by spent tea and coffee dusts: reduction to Cr(III) and biosorption. *Ind Eng Chem Res*, 2009, 48(4): 2113–2117.
- [18] Park D, Yun YS, Park JM. XAS and XPS studies on chromium-binding groups of biomaterial during Cr(VI) biosorption. *J Colloid Interf Sci*, 2008, 317(1): 54–61.
- [19] Park D, Yun YS, Park JM. Studies on hexavalent chromium biosorption by chemically-treated biomass of *Ecklonia* sp.. *Chemosphere*, 2005, 60(10): 1356–1364.
- [20] Kapoor A, Viraraghavan T. Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*. *Biores Technol*, 1997, 61(3): 221–227.
- [21] GB7467-87, Water quality-Determination of chromium(VI)-1,5 Diphenylcarbohydrazide spectrophotometric method. GB7467-87, 水质六价铬的测定——二苯碳酰二肼分光光度法.
- [22] GB7466-87, Water quality-Determination of total chromium-potassium permanganate oxidation-1,5 Diphenylcarbohydrazide spectrophotometric method. GB7466-87, 水质总铬的测定——高锰酸钾氧化-二苯碳酰二肼分光光度法.
- [23] Han RP, Yang GY, Zhang JH, et al. Study on mechanism of beer yeast adsorbing copper ion by spectroscopy. *Spectrosc Spec Anal*, 2006, 26(12): 2334–2337. 韩润平, 杨贵羽, 张敬华, 等. 光谱法研究酵母菌对铜离子的吸附机理. *光谱学与光谱分析*, 2006, 26(12): 2334–2337.
- [24] Parvathi K, Nagendran R. Functional groups on waste beer yeast involved in chromium biosorption from electroplating effluent. *World J Microb Biot*, 2008, 24(12): 2865–2870.
- [25] Zhang BR, Ren J, Liu YF. Research progress and application of yeast flocculating mechanism. *Microbiol Chin*, 1996, 23(5): 307–310. 张博润, 任健, 刘玉方. 酵母菌絮凝机理研究进展及应用前景. *微生物学通报*, 1996, 23(5): 307–310.
- [26] Bai FW, Anderson WA, Moo-Young M. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnol Adv*, 2008, 26(1): 89–105.
- [27] Rapoport AI, Muter OA. Biosorption of hexavalent chromium by yeasts. *Process Biochem*, 1995, 30(2): 145–149.
- [28] Deng SB, Ting YP. Characterization of PEI-modified biomass and biosorption of Cu(II), Pb(II) and Ni(II). *Wat Res*, 2005, 39(10): 2167–2177.
- [29] Yee N, Benning LG, Phoenix VR, et al. Characterization of metal-cyanobacteria sorption reactions: a combined macroscopic and infrared spectroscopic investigation. *Environ Sci Technol*, 2004, 38(3): 775–782.
- [30] Lin ZY, Wu JM, Xue R, et al. Spectroscopic characterization of Au³⁺ biosorption by waste biomass of *Saccharomyces cerevisiae*. *Spectrochim Acta A*, 2005, 61(4): 761–765.
- [31] Benning LG, Phoenix VR, Yee N, et al. Molecular characterization of cyanobacterial silicification using synchrotron infrared micro-spectroscopy. *Geochim Cosmochim A*, 2004, 68(4): 729–741.
- [32] Ko YG, Choi US, Kim TY, et al. FT-IR and isotherm study on anion adsorption onto novel chelating fibers. *Macromol Rapid Comm*, 2002, 23(9): 535–539.
- [33] Yang L, Chen JP. Biosorption of hexavalent chromium onto raw and chemically modified *Sargassum* sp.. *Biores Technol*, 2008, 99(2): 297–307.