

干废弃啤酒酵母菌对铅离子的吸附及 FTIR 分析

代群威^{1,2}, 董发勤^{1*}, 张 伟¹

1. 固体废物处理与资源化省部共建教育部重点实验室, 四川 绵阳 621010
2. 西南科技大学环境与资源学院, 四川 绵阳 621010

摘 要 以啤酒厂废弃啤酒酵母菌为原料, 利用原子吸收光谱(AAS)、扫描电子显微镜/X射线能谱仪(SEM/EDS)、傅里叶红外光谱(FTIR)等手段, 研究其对 Pb^{2+} 的生物吸附规律, 并对吸附机理进行了探讨。结果发现实验条件下, 啤酒酵母菌对 Pb^{2+} 的吸附是一个快速过程, 实验进行 30 min 时酵母菌的吸附量为 $47.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 吸附效率已达到 91.6%, 90 min 时基本达到吸附平衡, 此时酵母菌实验吸附量为 $48.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 吸附效率接近 94.0% 以上。SEM 分析发现吸附 Pb^{2+} 后部分酵母菌出现细胞壁破裂和脱离现象, 且认为胞内的溶出物质为酵母菌对 Pb^{2+} 后期吸附有一定贡献。EDS 分析进一步证明 Pb^{2+} 被吸附到酵母菌细胞上。FTIR 分析发现, 不同 pH 和吸附时间红外光谱图均有所差异, 特别是羟基、羧基及酰胺的氨基等基团变化显著, 认为细胞上的多糖、蛋白质酰胺更多地参与了对 Pb^{2+} 的化学吸附过程。利用啤酒厂废弃啤酒酵母菌体为原料处理工业污水中的 Pb^{2+} 是一种价格低廉, 吸附效果理想的有效途径。

关键词 啤酒酵母菌; 生物吸附; 铅离子; 生物吸附剂; 傅里叶红外光谱

中图分类号: Q939.9 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)07-1788-05

引 言

工业和尾矿带来的重金属污染已在全世界范围内成为亟待解决的重要环境问题。为克服传统处理方法的耗能高、效率低以及成本高等不足, 近年来一些国内外学者探讨了不同生物吸附剂对废水中重金属的吸附效果和机理^[1, 2]。生物吸附是利用生物体(死体或活体)对液相中重金属离子进行吸附富集的方法。目前利用较多的生物体包括细菌^[3, 4]、真菌^[5, 6]、藻类^[7, 8]和植物^[9, 10], 其中酵母菌, 包括面包酵母和啤酒酵母菌由于具有量大、价格低廉等特点逐渐受到研究者的关注。尽管目前已有关于啤酒酵母菌吸附重金属 Pb^{2+} 的研究, 但研究所呈结果有所差别, 且对其具体复杂的吸附机理还没完全解释清楚^[11-13]。

本文利用工业废弃啤酒酵母菌为原料, 通过其对 Pb^{2+} 的吸附条件探讨及相关机理的分析, 进一步展现了啤酒酵母菌作为一种来源广、经济高效型生物吸附剂的优点。

1 材料与方 法

1.1 实验材料的选取

实验用微生物为取自绵阳某啤酒厂废弃啤酒酵母菌, 于 60 °C 烘箱中 24 h 烘干成粉后备用; $Pb(NO_3)_2$ (分析纯), 天津市科密欧化学试剂开发中心。

1.2 实验方法

称取一定量的 $Pb(NO_3)_2$ 溶解于无菌水中, 配制成 $10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $Pb(NO_3)_2$ 溶液 1 000 mL 作为储备液, 并梯度稀释获得 1.0 和 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Pb^{2+} 溶液。溶液 pH 值用 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HNO_3 和 $NaOH$ 调节。在实验过程中, 称取实验所需重量啤酒酵母菌, 加入装有 100 mL Pb^{2+} 溶液的 250 mL 锥形瓶中, 在 28 °C, 120 rpm 水浴振荡器中振荡, 每次取样 2 mL, 取出后在盖玻片上滴加混合样制备 SEM 测试样; 剩余样品立即在 6 000 rpm 下离心 8 min, 取上清液于 4 °C 下保存为 AAS 试样, 待测; 所得沉淀用无菌蒸馏水反复洗涤并离心 3 次后收集, 在 45 °C 下烘干 24 h 作为 FTIR 和 EDS 试样。

文中 q_t 是吸附剂吸附重金属的量, $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; n 是吸附剂吸附重金属的效率, %; c_0 是初始溶液中重金属离子的浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; c_m 是投加吸附剂浓度, $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.3 主要仪器设备

AA700 型 AAS(美国 PE 公司), LEO S440 型 SEM/

收稿日期: 2008-06-02, 修订日期: 2008-09-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(10776027)和科技部欧盟国际合作专项项目(06zg0101)资助

作者简介: 代群威, 1978 年生, 西南科技大学环境与资源学院助理研究员 e-mail: qw_dai@163.com

* 通讯联系人 e-mail: fqdong@swust.edu.cn

EDS(英国 LEICA 公司), Nicolet5700 型 FTIR(美国 NICO-LET 公司)。

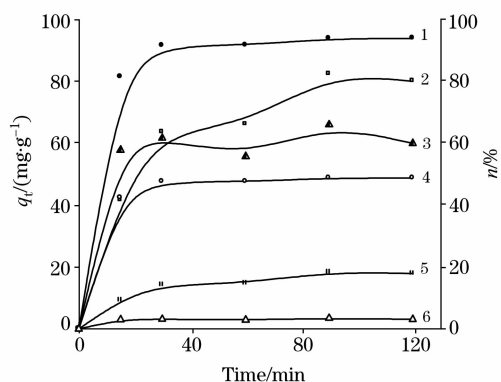


Fig. 1 Effect of contact time on the biosorption capacity of dried waste beer yeast to Pb^{2+}

Biosorption conditions: T : 28 °C; c_m : 4 g · L⁻¹; pH 4.5

1: $n \cdot c_0 = 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 2: $q_t \cdot c_0 = 10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;

3: $n \cdot c_0 = 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 4: $q_t \cdot c_0 = 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;

5: $n \cdot c_0 = 10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 6: $q_t \cdot c_0 = 0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

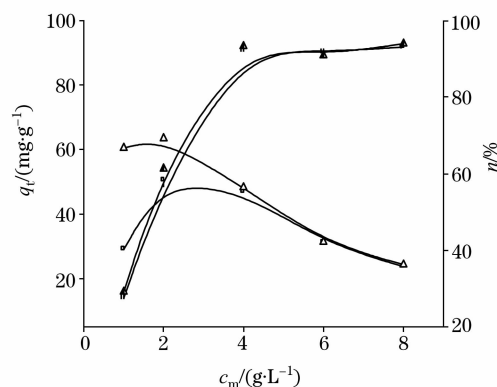


Fig. 2 Effect of biomass dosage on the biosorption capacity of dried waste beer yeast to Pb^{2+}

Biosorption conditions: $c_0 = 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; $t = 90 \text{ min}$; T : 28 °C;

1: q_t pH 3.5; 2: q_t pH 4.5; 3: n pH 3.5; 4: n pH 4.5

2 结果及讨论

2.1 酵母菌吸附研究

吸附时间和菌体浓度对啤酒酵母菌吸附效果的影响见图 1 和图 2。

由图 1 可知, 酵母菌吸附量随 Pb^{2+} 的初始浓度的增高而增大, 而吸附效率则在 Pb^{2+} 初始浓度 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时出现最大值。初始浓度为 $10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 菌体吸附量达到了 $82.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 比初始浓度为 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时增加了近 1 倍, 而吸附效率只有 18.4%, 初始浓度为 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 吸附效率最大只有 66.0%, 反映了低浓度重金属离子环境中, 酵母菌自身有一定抗重金属吸附能力。在 15 min 时, 吸附量为 $42.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 吸附效率达到 81.5% 左右; 到 30 min 时基本上达到吸附平衡, 吸附量为 $47.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 吸附效率达到 91.6%, 在此后的 90 min 内, 吸附量只增加了 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 吸附效率增加了 2.3%, 且在 90~120 min 反应期间, 吸附效果基本上没有明显增加。说明实验所用啤酒酵母菌对 Pb^{2+} 的吸附速度快, 吸附效果好。

图 2 显示, 当加入菌体量达到 $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 菌体吸附效率达到 90% 以上, 但随着吸附效率的增加, 单位菌体吸附量随之降低, 菌体量为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 单位菌体吸附量为 $60.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 但吸附效率仅为 29.2%, 且 pH 对其吸附能力影响严重, 初始溶液为 pH 3.5 时, 单位菌体吸附量仅为 $29.1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 只有 pH 4.5 时的一半。可能是由于 pH 越低, 溶液中有更多 H^+ 与 Pb^{2+} 竞争吸附点位, 在酵母菌吸附 Pb^{2+} 的同时, H^+ 又从菌体上解吸 Pb^{2+} , 使菌体吸附和解吸两个过程同时存在, 并趋向于动态平衡。

2.2 SEM/EDS 分析

为了确保酵母菌对溶液中 Pb^{2+} 的有效吸附, 确定实验条件下菌体最佳浓度为 $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用 $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 啤酒酵母菌对 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Pb^{2+} 溶液吸附 90 min 后进行 SEM 分析, 结果如图 3 所示。正常情况下啤酒酵母菌菌体表面光滑, 衰亡期的菌体虽然变瘪[见图 3(a)右下角], 但仍比较平滑。吸附 Pb^{2+} 后, 胞外产生细小颗粒物并附着于菌体表面, 部分

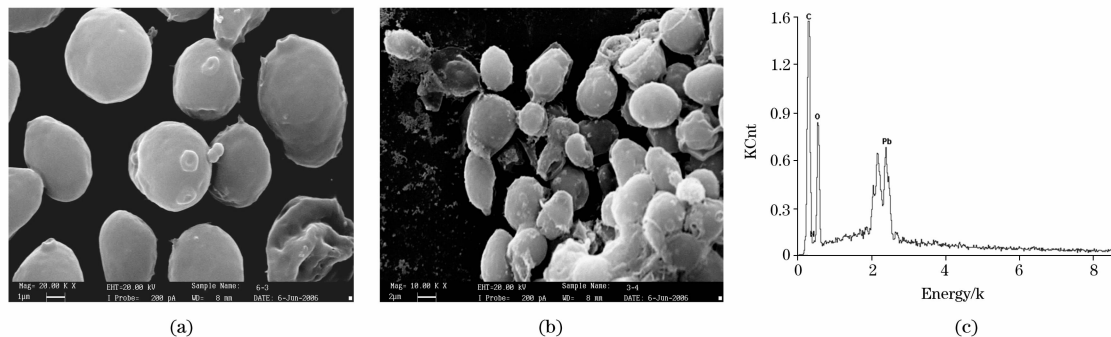


Fig. 3 SEM/EDS micrographs of waste beer yeast cells

(a): Before Pb^{2+} loaded; (b): After Pb^{2+} loaded; (c): EDS spectrum after Pb^{2+} loaded

$c_0 = 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; $t = 90 \text{ min}$; T : 28 °C; c_m : 4 g · L⁻¹; pH 4.5

啤酒酵母菌细胞壁出现破裂, 细胞壁继而从裂口处开始卷曲脱离菌体, 造成酵母菌细胞壁膜分离, 裸露的细胞内部物质与 Pb^{2+} 进一步发生作用[见图 3(b)]. 对啤酒酵母菌吸附 Pb^{2+} 后菌体进行 EDS 分析[见图 3(c)], 菌体上有大量 Pb 元素, 进一步证明 Pb^{2+} 被吸附到酵母菌细胞上。

SEM 分析发现啤酒酵母菌吸附 Pb^{2+} 过程中出现了壁膜分离现象, Pb^{2+} 离子进而与膜内有机物质结合。 Pb^{2+} 与酵母菌细胞壁结合过程中, 破坏细胞壁的正常结构, 特别是与细胞壁相对薄弱位点结合时可能使其破裂, 上图中破裂处可能发生在酵母菌出芽生殖留下的芽痕处, 芽痕在整个细胞壁上相对其他部分有所差异。但要确定破裂是在细胞壁上随机发生或在芽痕处发生还需进一步研究。另外不难想象, 随着 Pb^{2+} 浓度的增加或作用时间的延长, 这种破壁现象应该会越来越严重。低浓度或吸附过程初期阶段, 细胞壁吸附占据主导地位^[2], 而胞内物质吸附会使酵母菌整体吸附量有所增加。这可能从一定程度解释前述(图 1)的前 30 min 的快速吸附占据整个吸附过程(120 min)吸附总量的 98% 左右, 而剩余 90 min 中吸附总量只缓慢增加了 2%。

2.3 FTIR 分析

酵母菌主要的吸收谱带归属如下^[2, 14, 15]: $3\ 334\ cm^{-1}$ 附近范围宽谱峰为缔合的来自 O—H 的伸缩振动, 是 O—H 和 N—H 键伸展振动吸收, 来自多糖、脂肪酸和蛋白质等组分的贡献。 $2\ 927$ 和 $2\ 960\ cm^{-1}$ 处的谱峰分别来自蛋白质和脂类的 $\nu_{as}(CH_2)$ 和 $\nu_{as}(CH_3)$, 是典型的脂碳链(— CH_3 , = CH_3 , = CH —)的 C—H 键的伸展振动吸收带, 它反映脂肪酸、各种膜和细胞壁组分的亲水脂分子的信息。 $1\ 643$ 和 $1\ 544\ cm^{-1}$ 两处谱峰主要来自蛋白质酰胺 I 带和酰胺 II 带, 其中前者来自 C=O 的伸缩振动, 后者来自 N—H 弯曲振动和 C—N 伸缩振动。 $1\ 240\ cm^{-1}$ 处为酰胺 III 带 C—N 和 N—H 的混合振动峰, 可能还有 P=O 伸缩振动。 $1\ 456$ 和 $1\ 402\ cm^{-1}$ 附近的吸收带分别属于蛋白质分子中甲基的反对称和对称弯曲振动峰 $[\delta_{as}(CH_3)]$ 和 $[\delta_s(CH_3)]$ 。 $1\ 175\sim 1\ 150\ cm^{-1}$ 处的吸收谱带主要来自细胞壁的主要成分碳水化合物中多聚糖中 C—O 键的伸缩振动。 $1\ 080\ cm^{-1}$ 处峰为糖环的振动。 $1\ 042\ cm^{-1}$ 处峰为多糖骨架振动吸收带, 主要是糖类的 C—OH 的伸缩振动, 可能也含 P—O—C 伸缩振动。 $1\ 100\ cm^{-1}$ 附近为 —C=C—, —C=C—O—, —N=C— 等累积双键的指纹区。

图 4 是啤酒酵母菌主要的吸附 Pb^{2+} 不同时间后的 FTIR 图。由图 4 可以看出, 作用 30 和 90 min 后, O—H 的振动峰均向低波数偏移 $9\ cm^{-1}$, 说明在吸附 Pb^{2+} 的过程中, O 原子参与了对 Pb^{2+} 的络合, 使 O—H 的键长增加, 振动峰发生红移。作用 90 min 后 $2\ 927\ cm^{-1}$ 处峰强度明显降低。 Pb^{2+} 与蛋白质作用结果主要表现在蛋白质酰胺 I 带、II 带和 III 带处振动峰的变化情况, 作用 30 min 后 $1\ 643$ 和 $1\ 544\ cm^{-1}$ 处峰分别向高波数偏移了 3 和 $4\ cm^{-1}$, 而作用 90 min 后仅 $1\ 643\ cm^{-1}$ 向高波数偏移了 $3\ cm^{-1}$ 。图 4 显示 $1\ 042\ cm^{-1}$ 处峰相对增强, 使得在此区域峰形发生了明显变化, 对于 $1\ 544$ 和 $1\ 402\ cm^{-1}$ 两处峰相对强度变化关系为 $D_{1\ 544/1\ 402}(90\ min) > D_{1\ 544/1\ 402}(30\ min) = 1.0 > D_{1\ 544/1\ 402}(\text{对照})$ 。 $1\ 100$ 和 $1\ 080$

cm^{-1} 处峰强度在 30 和 90 min 处逐渐降低。

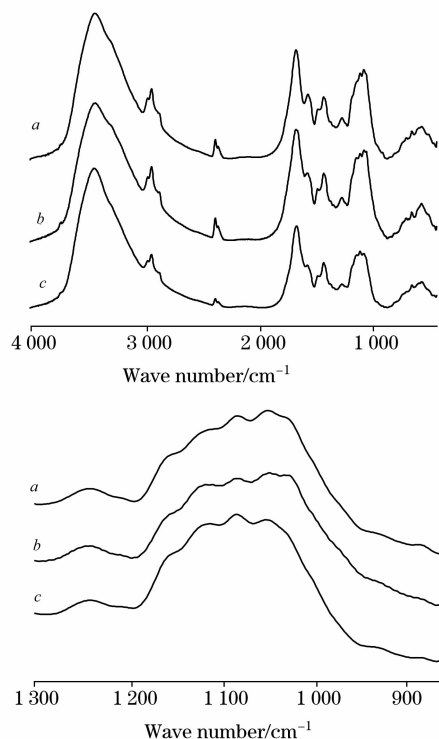


Fig. 4 FTIR spectra of lead-loaded yeast at different contact time

a: $t=90\ min$; b: $t=30\ min$; c: Control; Biosorption conditions: $c_0=1.0\ mmol \cdot L^{-1}$; pH 4.5; $T: 28\ ^\circ C$; $c_m: 4\ g \cdot L^{-1}$

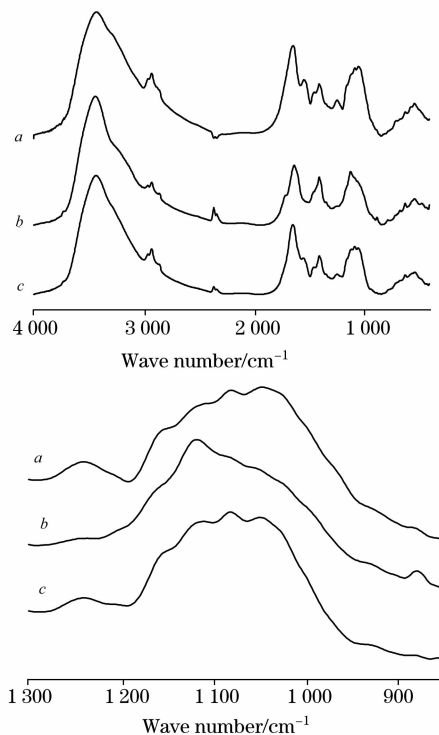


Fig. 5 FTIR spectra of lead-loaded yeast at different pH

a: pH=4.5; b: pH 3.5; c: Control; Biosorption conditions: $c_0=1.0\ mmol \cdot L^{-1}$; $t=90\ min$; $T: 28\ ^\circ C$; $c_m: 4\ g \cdot L^{-1}$

图5为不同起始pH下酵母菌主要的吸附 Pb^{2+} 后的FT-IR图。由图5可以看出,对于不同初始pH, pH4.5的试验组结果与前述90 min的初始条件一致,这与前面4中结果一致。对于pH 3.5试验组而言,存在几处明显峰形变化,1544和1253 cm^{-1} 两处峰消失,1643 cm^{-1} 处峰平移到1629 cm^{-1} ,在1116 cm^{-1} 处出现最高峰,而1042和1080 cm^{-1} 两处峰基本消失,其在1200~900 cm^{-1} 间的峰形相反。

综上所述,可以说明啤酒酵母菌吸附 Pb^{2+} 的过程的存在化学吸附过程,相对而言,细胞上的多糖、蛋白质酰胺成分更多地参与了对 Pb^{2+} 的吸附过程。

3 结 论

(1)实验条件下,啤酒酵母菌对 Pb^{2+} 的吸附是一个快速

过程,实验进行30 min时酵母菌的吸附量为 $47.6 mg \cdot g^{-1}$,吸附效率已达到91.6%,90 min时基本达到吸附平衡,此时酵母菌实验吸附量为 $48.8 mg \cdot g^{-1}$,吸附效率接近94.0%以上。

(2)SEM发现,啤酒酵母菌吸附 Pb^{2+} 后,菌体表面失去原来的光滑,并附着有大量细小颗粒;另外出现菌体细胞壁膜分离现象,使裸露的细胞内部物质与 Pb^{2+} 进一步发生作用。EDS分析进一步证明 Pb^{2+} 被吸附到酵母菌细胞上。

(3)FTIR分析发现,不同pH和不同吸附时间红外光谱图的部分峰形和峰位出现了变化,认为细胞上的多糖、蛋白质酰胺更多地参与了对 Pb^{2+} 的化学吸附过程。

参 考 文 献

- [1] Akar T, Cabuk A, Tunali S, et al. Journal of Environmental Science and Health Part A-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering, 2006, 41(11): 2587.
- [2] YUAN Hong-li, LI Zhi-jian, WANG Neng-fei, et al(袁红莉,李志建,王能飞,等). Science in China, Ser. D(中国科学D辑), 2005, 35: 219.
- [3] Selatnia A, Boukazoula A, Kechid N, et al. Biochemical Engineering Journal, 2004, 19 (2): 127.
- [4] Cabuk A, Akar T, Tunali S, et al. Journal of Hazardous Materials, 2006, 136(2): 317.
- [5] BKiran I, Akar T, Tunali S. Process Biochemistry, 2005, 40(11): 3550.
- [6] Dursun A Y. Biochemical Engineering Journal, 2006, 28(2): 187.
- [7] Bayramoglu G, Tuzun I, Celik G. International Journal of Mineral Processing, 2006 81(1): 35.
- [8] Vilar V J P, Botelho C M S, Boaventura R A R. Process Biochemistry, 2005, 40 (10): 3267.
- [9] Uzun H, Bayhan Y K, Kaya Y, et al. Desalination, 2003, 154(3): 233.
- [10] Liu Y W, Chang X J, Guo Y, et al. Journal of Hazardous Materials, 2006, 135(1-3): 389.
- [11] LI Zhi-dong, LI Na, QIU Feng, et al(李志东,李娜,邱峰,等). Chemistry & Bioengineering(化学与生物工程), 2006, 23(10): 37.
- [12] Han R P, Li H K, Li Y H, et al. Journal of Hazardous Materials, 2006, 137(3): 1569.
- [13] Goksungur Y, Uren S, Guvenc U. Bioresource Technology, 2005, 96(1): 103.
- [14] HAN Run-ping, YANG Guan-yu, ZHANG Jing-hua, et al(韩润平,杨贯羽,张敬华,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(12): 2334.
- [15] CI Yun-xiang, ZANG Kai-sai, GAO Ti-yu(慈云祥,臧凯赛,高体育). Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报), 2002, 23(6): 1047.

Biosorption of Lead Ions on Dried Waste Beer Yeast and the Analysis by FTIR

DAI Qun-wei^{1,2}, DONG Fa-qin^{1*}, ZHANG Wei¹

1. Key Laboratory of Solid Waste Treatment and the Resource Recycle (SWUST, Ministry of Education), Mianyang 621010, China

2. Institute of Environment and Resource, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China

Abstract The biosorption of lead ions on dried waste beer yeast was investigated with respect to the adsorption conditions and the biosorption mechanism was analyzed with the instruments of AAS, SEM/EDS and FTIR. The results show that the metal uptake value obtained was $47.6 mg \cdot g^{-1}$ and the adsorptive efficiency was above 90%. Under our experiment conditions, the biosorption of Pb^{2+} on dried waste beer yeast is a fast process. The biosorption quantity of Pb^{2+} on beer yeast cells was $47.6 mg$

$\cdot \text{g}^{-1}$ and the adsorption efficiency obtained was 91.6% in first 30 min, then the metal uptake value obtained was $48.8 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ and the adsorptive efficiency was above 94% at 90 min. The cells cracking and breaking off were seen after the biosorption of lead ions on beer yeast through SEM analysis, and the cytoplasm from yeast cell should be responsible for the last period biosorption of lead ions. EDS analysis also proved that lead ions were absorbed on the yeast cells. FTIR analysis showed that the infrared spectrograms are different at different pH and biosorption time, especially hydroxyl groups, carboxylate groups and amide groups have obviously changed. Amylase and amide of protein were considered as main components to participate the chemical absorption of lead ions on yeast cells. Consequently, dried waste beer yeast is an inexpensive, readily available adsorbent for metals and especially has a high adsorption capacity for lead ions.

Keywords Waste beer yeast; Biosorption; Lead ions; Biosorbent; FTIR

(Received Jun. 2, 2008; accepted Sep. 6, 2008)

* Corresponding author

《光谱学与光谱分析》2009 年征订启事

欢迎投稿 欢迎订阅

《光谱学与光谱分析》1981 年创刊，国内统一刊号：CN 11-2200/O4，国际标准刊号：ISSN 1000-0593，CODEN 码：GYGFED，国内外公开发行人，大 16 开本，288 页，月刊；是中国科协主管，中国光学学会主办，钢铁研究总院、中国科学院物理研究所、北京大学、清华大学共同承办的学术性刊物。北京大学出版社出版，每期售价 35.00 元，全年 420 元；国内邮发代码 82-68，国外发行代码 M905。刊登主要内容：激光光谱测量、红外、拉曼、紫外、可见光谱、发射光谱、吸收光谱、X 射线荧光光谱、激光显微光谱、光谱化学分析、国内外光谱化学分析领域内的最新研究成果、开创性研究论文、学科发展前沿和最新进展、综合评述、研究简报、问题讨论、书刊评述。

《光谱学与光谱分析》适用于冶金、地质、机械、环境保护、国防、天文、医药、农林、化学化工、商检等各领域的科学研究单位、高等院校、制造厂家、从事光谱学与光谱分析的研究人员、高校有关专业的师生、管理干部。

《光谱学与光谱分析》为我国首批自然科学核心期刊，中国科协优秀科技期刊，中国科协择优支持基础性、高科技学术期刊，中国科技论文统计源刊，“中国科学引文数据库”，“中国物理文摘”，“中国学术期刊文摘”，同时被国内外的 CSCD，SCI，AA，CA，Ei，PJK，MEDLINE 等文献机构收录。根据国家科技部信息研究所发布信息，中国科技期刊物理类影响因子及引文量《光谱学与光谱分析》都居前几位。欢迎国内外厂商在《光谱学与光谱分析》发布广告（广告经营许可证：京海工商广字第 8094 号）。

《光谱学与光谱分析》的主编为黄本立院士。

欢迎新老客户到全国各地邮局订阅，若有漏订者可直接与光谱学与光谱分析期刊社联系。

联系地址：北京市海淀区学院南路 76 号，光谱学与光谱分析期刊社 邮政编码：100081

联系电话：010-62181070，62182998

电子信箱：chngpxygpfx@vip.sina.com；修改稿专用邮箱：gp2008@vip.sina.com

网 址：http://www.gpxygpfx.com