

酿酒酵母对Cu²⁺的生物吸附研究

马歌丽,杜聪聪,路红娜,闫三义,杨粉粉,郑晓静

(郑州轻工业学院食品与生物工程学院,河南郑州 450002)

摘要:对酿酒酵母吸附Cu²⁺的生物吸附规律进行了模拟研究。结果表明,酵母添加量、溶液pH、初始Cu²⁺浓度和吸附时间对酿酒酵母吸附Cu²⁺均有较大影响。各影响因素的最优组合为:pH4.5、吸附时间150 min,初始Cu²⁺浓度38.10 mg/L、酵母添加量0.45 g,在此最优吸附条件下,酿酒酵母吸附Cu²⁺的吸附量为2.44 mg/g,吸附率达到96.2%。

关键词:酿酒酵母,生物吸附,重金属废水

The research on the biosorption of Cu²⁺ by *Saccharomyces cerevisiae*

MA Ge-li, DU Cong-cong, LU Hong-na, YAN San-yi, YANG Fen-fen, ZHENG Xiao-jing

(College of Food and Biology Eng., Zhengzhou Univ. of Light Ind., Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The biosorption process of Cu²⁺ by *Saccharomyces cerevisiae* was researched. The results showed that the pH, the concentration of Cu²⁺, the adsorption time and the amount of *Saccharomyces cerevisiae* had significant effects on the adsorption of Cu²⁺. Result showed that the optimal conditions were as follows: the pH 4.5, the concentration of Cu²⁺ 38.10 mg/L, adsorption time 150 min, the amount of *Saccharomyces cerevisiae* 0.45 g. Under such an optimal condition, the adsorption rate of Cu²⁺ by *Saccharomyces cerevisiae* reached at 96.2% and the adsorption capacity was 2.44 mg/g.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*; biosorption; waste water with heavy metals

中图分类号:TS261.1¹

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2015)24-0186-04

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.24.031

水体重金属污染不仅成为全球性的环境污染问题,还严重影响着儿童和成人的身体健康乃至危及生命^[1-2]。目前,人们对水体重金属污染问题已有相对深入的研究,并且采取了多种措施对重金属污染的水体进行处理和修复。传统处理废水中重金属离子的方法主要有化学沉淀法、氧化还原法、离子交换法、共沉淀法、反渗透法、电解法和膜分离法等。这些处理含重金属废水的传统方法不仅成本高、易产生二次污染,而且对于重金属含量较低的废水处理效果不佳^[3-4]。目前生物吸附法成为处理废水中重金属离子新型的方法之一,该法是利用生物体及其衍生物吸附分离废水中的重金属离子。生物吸附法因吸附材料来源广泛、操作成本低、对环境毒害小以及适用于含低浓度重金属的废水等优点受到研究者的关注^[5-9]。酵母菌具有易生长、对重金属离子和低pH环境耐受能力强等特点成为生物吸附剂的首选材料^[10-13]。利用啤酒等发酵工业的副产品——废弃酵母吸附废水中的重金属离子,不仅获得吸附原料方便,价格低廉,还能达到“以废治废”的目的^[14]。

本文选取安琪活性干酵母为实验材料,模拟酿酒酵母对溶液中Cu²⁺的吸附规律。首先考察了溶液

pH、Cu²⁺浓度、吸附时间以及酿酒酵母添加量对Cu²⁺吸附效果的影响,然后通过正交实验对酿酒酵母吸附Cu²⁺的条件进行了优化,以期得到酿酒酵母吸附Cu²⁺的最佳条件,为生物吸附法处理含重金属的废水提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

活性干酵母 购自安琪酵母股份有限公司;五水合硫酸铜 分析纯,购自北京红星化工厂。

AA240FS型火焰原子吸收分光光度计 购自美国瓦里安Varian; DKY-II恒温调速回转式摇床 购自上海杜科自动化设备有限公司; TG16-WS台式高速离心机 购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; PB-10酸度计 购自北京赛多利斯科学仪器有限公司; DGX-9053B电热鼓风干燥箱 购自上海福玛实验设备有限公司; CP214分析天平 购自奥豪斯仪器(上海)有限公司; HH-S4数显恒温水浴锅 购自金坛市医疗仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 Cu²⁺溶液的配制 称取2.495 g CuSO₄·5H₂O,用去离子水溶解并定容至1 L,得635 mg/L CuSO₄溶

收稿日期:2015-04-02

作者简介:马歌丽(1963-),女,硕士,教授,研究方向:食品与生物工程,E-mail:mageli@zzuli.edu.cn。

基金项目:2014年国家级大学生创新创业训练计划项目201410462055。

液,4℃冰箱保存。后续操作中所需Cu²⁺溶液均由该储备液稀释。

1.2.2 酿酒酵母吸附Cu²⁺具体操作 在锥形瓶中分别加入30 mL一定浓度的Cu²⁺溶液,调整溶液pH,准确称取一定质量活性干酵母粉于实验组中,以不添加活性干酵母粉的溶液为对照组,将锥形瓶置于28℃恒温摇床中,150 r/min进行吸附。每组实验平行三次。

1.2.3 吸附量及吸附率的计算 采用原子吸收分光光谱法测定溶液中残余Cu²⁺浓度,结果取平均值。酿酒酵母对Cu²⁺的吸附量,定义为单位质量的酿酒酵母吸附Cu²⁺的质量,吸附量的计算方法如式(1)所示。

$$q = \frac{m(\text{离子})}{m_d} = \frac{(C_0 - C_t)V}{m_d} \quad \text{式(1)}$$

式(1)中,q—吸附量,mg/g;m(离子)—溶液中Cu²⁺的质量,mg;m_d—酿酒酵母的干重,g;C₀—吸附前溶液中Cu²⁺的浓度,mg/L;C_t—吸附t时间后溶液中Cu²⁺的浓度,mg/L;V—Cu²⁺溶液的体积,L。

酿酒酵母对Cu²⁺的吸附率Q的计算方法如式(2)所示。

$$Q = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100\% \quad \text{式(2)}$$

式(2)中,Q—酵母对Cu²⁺的吸附率,%;C₀—吸附前溶液中Cu²⁺的浓度,mg/L;C_t—吸附t时间后溶液中Cu²⁺的浓度,mg/L。

1.2.4 酿酒酵母吸附Cu²⁺的单因素实验 本文考察了溶液pH、吸附时间、初始Cu²⁺浓度和酵母添加量四个因素对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附率和吸附量的影响,实验平行三次,结果取其平均值。

1.2.4.1 溶液pH对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响 吸附时间为180 min,初始Cu²⁺浓度为63.5 mg/L,酵母添加量为0.2 g,分别调整溶液pH为1.5、2.5、3.5、4.5、5.5、6.5和7.5,进行吸附实验,考察不同pH条件对其吸附量和吸附率的影响。

1.2.4.2 吸附时间对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附率和吸附量的影响 溶液pH为5.5,初始Cu²⁺浓度为63.5 mg/L,酵母添加量为0.2 g,分别设置吸附时间为5、10、30、60、120、150、180、240、270 min,进行吸附实验,考察不同吸附时间对其吸附量和吸附率的影响。

1.2.4.3 初始Cu²⁺浓度对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附率和吸附量的影响 溶液pH为5.5,吸附时间为120 min,酵母添加量为0.2 g,分别设置初始Cu²⁺浓度为19.05、25.40、31.75、63.50、88.90 mg/L,进行吸附实验,考察不同初始Cu²⁺浓度对其吸附量和吸附率的影响。

1.2.4.4 酵母添加量对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附率和吸附量的影响 溶液pH为5.5,吸附时间为120 min,初始Cu²⁺浓度为31.75 mg/L,分别设置酵母添加量为0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35 g,进行吸附实验,考察不同酵母添加量对其吸附量和吸附率的影响。

1.2.5 酿酒酵母吸附Cu²⁺的正交实验 在单因素实验结果的基础上,以溶液pH、吸附时间、初始Cu²⁺浓度和酵母添加量四个因素为影响因素,各取3个水平,采用L₉(3⁴)正交表进行正交实验设计,以酿酒酵

母对Cu²⁺的吸附量和吸附率为指标,确定其最佳吸附条件。因素水平表如表1所示。

表1 因素水平表L₉(3⁴)

Table 1 Sheet of L₉(3⁴) factor levels

水平	因素			
	A pH	B 吸附时间(min)	C Cu ²⁺ 浓度(mg/L)	D 酵母添加量(g)
1	4.5	90	25.40	0.25
2	5.5	120	31.75	0.35
3	6.5	150	38.10	0.45

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 pH对酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响 pH对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响结果如图1所示。

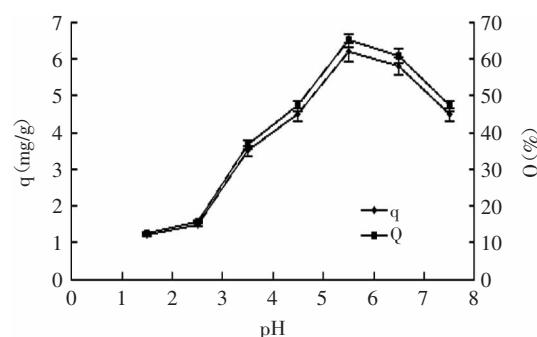


图1 pH对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响

Fig.1 Effect of pH on the adsorption quantity and the adsorption rate of Cu²⁺ by *S.cerevisiae*

由图1可知,pH对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响较大。当pH低于2.5时,酿酒酵母对Cu²⁺的吸附作用较弱;当pH从2.5增至5.5时,吸附量和吸附率都急剧增加,吸附量由1.5 mg/g增至6.2 mg/g,吸附率由18.5%增至65.1%,且pH为5.5时,吸附量和吸附率均达到最大值;当pH高于5.5时,吸附量和吸附率均呈现下降趋势。

出现以上吸附规律可以解释为:一方面,溶液的pH对酿酒酵母细胞表面吸附位点和重金属离子的化学存在状态都有很大影响。当pH较低时,大量的水合氢离子和Cu²⁺竞争细胞表面的活性吸附位点,导致吸附量和吸附率降低;随着pH的升高,细胞表面的质子化官能团解离下来,细胞表面暴露出更多带负电荷的吸附位点,这样有利于其与Cu²⁺的吸附结合,吸附率和吸附量提高;当pH高于7.0后,溶液中Cu²⁺容易形成不溶解的氧化物、氢氧化物等沉淀微粒,这样不利于被细胞表面吸附,进而使吸附率和吸附量下降。另一方面,酵母最适生长pH为3.0~7.5,当溶液pH低于3.0时,强酸环境造成菌体溶解,也是导致吸附率和吸附量较低的重要原因。因此,初步确定酿酒酵母吸附Cu²⁺ pH为5.5。

2.1.2 吸附时间对酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的

影响 吸附时间对酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响如图2所示。

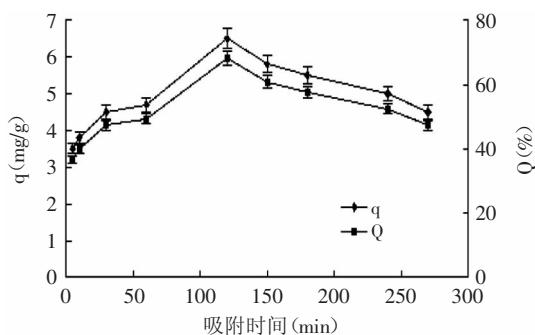


图2 吸附时间对酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响

Fig.2 The adsorption quantity and the adsorption rate of Cu²⁺ at different adsorption time by *S.cerevisiae*

由图2可知,酿酒酵母吸附Cu²⁺是一个快速吸附过程。当吸附进行5~10 min,酵母对Cu²⁺的吸附率已达到40%;随着吸附时间的延长,酵母对Cu²⁺的吸附量和吸附率均有所提高;当吸附进行120 min时,酵母对Cu²⁺的吸附量和吸附率达到最大值,分别为5.8 mg/g和68.2%;进一步延长吸附时间,吸附量和吸附率均呈现下降趋势。

吸附时间对酿酒酵母吸附Cu²⁺的影响原因可能是:一方面,酿酒酵母吸附Cu²⁺的过程是一个动态的吸附和解吸过程,当达到吸附平衡后,随着吸附时间的延长,已经被酵母细胞吸附的Cu²⁺可能发生解吸现象,最终导致酵母对重金属离子的吸附量和吸附率下降。另一方面,吸附开始一段时间,酵母自身的生长繁殖引起吸附量和吸附率的提高,吸附进行后期,部分酵母细胞可能会出现衰老或自身解体,进而导致吸附率和吸附量的下降。因此,初步确定酵母吸附Cu²⁺的吸附时间为120 min。

2.1.3 初始Cu²⁺浓度对酿酒废酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响 Cu²⁺浓度对酿酒废酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响如图3所示。

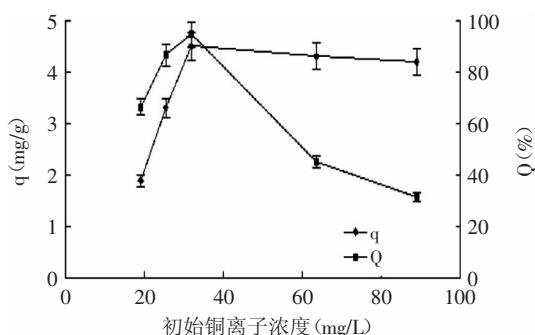


图3 初始Cu²⁺浓度对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响

Fig.3 Effect of the concentration of Cu²⁺ on the adsorption quantity and the adsorption rate of Cu²⁺ by *S.cerevisiae*

由图3可知,当Cu²⁺浓度低于31.75 mg/L时,随着Cu²⁺浓度的增大,酿酒废酵母对Cu²⁺的吸附量和吸附率均呈现升高趋势;当Cu²⁺浓度为31.75 mg/L时,吸附

量和吸附率分别为4.5 mg/g和94.5%;当Cu²⁺浓度高于31.75 mg/L时,吸附量基本趋于稳定,而吸附率则呈下降趋势。

Cu²⁺浓度对酵母吸附效果的影响原因可能为:一方面,从酵母细胞表面的活性吸附位点数目一定角度分析,当酵母的添加量一定时,Cu²⁺浓度越高,Cu²⁺与酿酒酵母细胞表面吸附位点的接触几率越大,吸附量增大;当Cu²⁺浓度过高时,酵母细胞表面活性吸附位点达到饱和,从而不能吸附更多的Cu²⁺,导致吸附率下降。另一方面,从高浓度重金属离子对细胞生长抑制角度分析,当溶液中Cu²⁺浓度过高,可能会抑制酵母的增殖,进而导致吸附率的下降。此外,由公式(1)和公式(2)可知,当酵母添加量、溶液体积一定时,吸附率与初始Cu²⁺浓度呈反比,所以随着Cu²⁺浓度的升高,吸附率呈现下降趋势。因此,初步确定为31.75 mg/L。

2.1.4 酵母添加量对酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响 酵母添加量对酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响如图4所示。

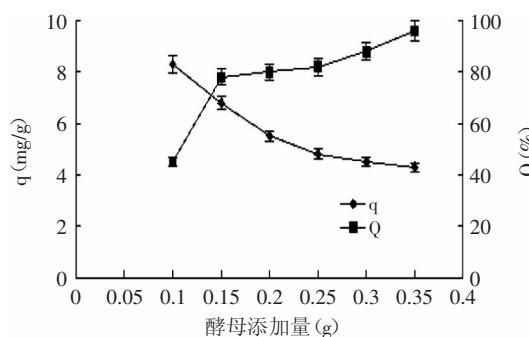


图4 酵母添加量对酵母吸附Cu²⁺吸附量和吸附率的影响

Fig.4 Effect of the biomass addition on the adsorption quantity and the adsorption rate of Cu²⁺ by *S.cerevisiae*

由图4可知,在Cu²⁺浓度一定的条件下,随着酵母添加量的增加,吸附量呈递减趋势,而吸附率呈递增趋势。当酵母添加量为0.35 g时,吸附量为4.3 mg/g,吸附率达到96%,吸附率接近100%。

出现这种现象的原因分析为:酵母细胞表面的有效吸附位点之间存在相互作用,当体系中的酵母浓度增加时,将增强酵母表面吸附位点之间的相互作用,吸附位点上的基团互相结合,因此降低了酵母表面有效吸附位点的数目,从而导致吸附量下降。因此,确定酵母添加量为0.35 g。

2.2 正交实验结果与分析

正交实验结果与分析如表2所示。

由表2的极差分析结果可知:对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附量的影响各因素的主次顺序是C>B>A>D,即初始Cu²⁺浓度是影响酵母吸附Cu²⁺吸附量的主要因素,其次是吸附时间、pH、酵母添加量,各因素水平最佳组合为A₂B₂C₃D₁,即pH为5.5、最佳吸附时间为120 min,初始Cu²⁺浓度38.10 mg/L、酵母添加量0.25 g。

对酿酒酵母吸附Cu²⁺吸附率的影响各因素的主次顺序是D>B>A>C,即酵母添加量是影响酵母吸附

表2 正交实验结果与分析

Table 2 Result and analysis of orthogonal test

实验号	A	B	C	D	吸附量(mg/g)	吸附率(%)
1	1	1	1	1	1.35	44.3
2	1	2	2	2	1.77	65.0
3	1	3	3	3	2.45	96.5
4	2	1	2	3	1.69	79.8
5	2	2	3	1	3.55	77.6
6	2	3	1	2	2.03	93.2
7	3	1	3	2	2.15	65.8
8	3	2	1	3	1.58	93.3
9	3	3	2	1	1.98	52.0
K ₁ *	5.57	5.19	4.96	6.88		
K ₂ *	7.27	6.90	5.44	5.95		
K ₃ *	5.71	6.46	8.15	5.72		
R*	1.70	1.71	3.19	1.16	C>B>A>D	A ₂ B ₂ C ₃ D ₁
K ₁	205.8	189.9	230.8	173.9		
K ₂	250.6	235.9	196.8	224.0		
K ₃	211.1	241.7	239.7	270.6		
R	44.8	51.8	42.9	96.7	D>B>A>C	A ₂ B ₃ C ₃ D ₃

Cu²⁺吸附率的主要因素,其次是吸附时间、pH、初始Cu²⁺浓度,最佳组合为A₂B₃C₃D₃,即pH为5.5、最佳吸附时间为150 min,初始Cu²⁺浓度38.10 mg/L、酵母添加量0.45 g。

在酿酒废酵母吸附处理废水中重金属离子的实际应用中,提高酿酒废酵母对重金属离子的吸附率和“以废治废”是对吸附条件进行不断优化的根本目的;且当重金属离子浓度过高,可能对酿酒废酵母自身生长进行抑制。因此,综合考虑,确定最佳吸附条件为pH5.5、吸附时间150 min,初始Cu²⁺浓度38.10 mg/L、酵母添加量0.45 g。

2.3 吸附条件的验证实验

验证实验结果如表3所示。由表3可知,在正交实验得到的最佳组合条件下,酿酒酵母吸附Cu²⁺的吸附量为2.44 mg/g,吸附率达到96.2%,小于L₉(3⁴)正交实验中的实验3,因此确定最优组合为A₁B₃C₃D₃,即pH4.5、吸附时间150 min,初步Cu²⁺浓度38.10 mg/L,酵母添

表3 验证实验结果

Table 3 Results of verification tests

实验号	1	2	3	平均值
吸附量(mg/g)	2.44	2.38	2.51	2.44
吸附率(%)	96.1	93.7	98.8	96.2

(上接第185页)

- [11] 昌友权.玉米肽抗疲劳作用的实验研究[J].食品科学,2004,25(9):173-178.
- [12] 游丽君.泥鳅蛋白抗氧化肽的分离纯化及抗疲劳、抗癌功效研究[D].广州:华南理工大学,2010.
- [13] 叶欣,冉旭.人工饲养大鲵皮胶原蛋白肽提取工艺研究[J].肉类工业,2014(4):29-33.

加量0.45 g。

3 结论

本文通过单因素实验和正交实验对酿酒废酵母对Cu²⁺的吸附规律进行了模拟,结果表明:酵母添加量是影响酵母吸附Cu²⁺吸附率的主要因素,其次是吸附时间、pH和初始Cu²⁺浓度。酿酒酵母吸附Cu²⁺的最优条件为:pH4.5、吸附时间150 min,初始Cu²⁺浓度38.10 mg/L,酵母添加量0.45 g,在此最优吸附条件下,酿酒酵母吸附Cu²⁺的吸附量为2.44 mg/g,吸附率达到96.2%。实验中不能忽视废酵母自身生长这一重要因素,因此后续实验应对重金属废水中酿酒废酵母的生长进行重点考虑。

参考文献

- [1] 戴伟.水生动物重金属污染生物标志物的研究进展[J].水生态学杂志,2010,3(6):116-119.
- [2] 朱参胜,梁晓聪.砷的毒理及其对人体健康的影响[J].环境与健康杂志,2009,26(6):561-563.
- [3] 吴昊,张盼月,蒋剑虹.反渗透技术在重金属废水处理与回用中的应用[J].工业水处理,2007,6(4):6-9.
- [4] 罗志勇,张胜涛,郑泽根.电化学法处理重金属废水的研究进展[J].中国给水排水,2009,25(16):6-10.
- [5] 林华山,黄伟,邱杨.霉菌吸附污水中重金属的研究进展[J].现代食品科技,2013,29(6):1447-1454.
- [6] Yu Q, Matheickal J T, Yin P, et al. Heavy Metal Uptake Capacities of Common Marine Macro Algal Biomass [J]. Water Research, 1999, 33(6):1534-1537.
- [7] 王建龙,韩英健,钱易.微生物吸附金属离子的研究进展[J].微生物学通报,2000,27(6):449-452.
- [8] Puranik P R, Paknikar K M. Biosorption of lead, cadmium, and zinc by Citrobacter strai MCMB-181: characterization studies[J]. Biotechnol Prog, 1999, 15(7):228-237.
- [9] 朱一民,周东琴,魏德州.啤酒酵母菌对汞离子(Ⅱ)的生物吸附[J].东北大学学报,2004,25(1):89-91.
- [10] 徐莹,刘文磊,姜凯元,等.耐盐鲁氏酵母Zygoaccharomyces rouxii CICC1379吸附水中重金属Cu²⁺研究[J].微生物学通报,2010,30(10):1985-1991.
- [11] 李志东,李娜,邱峰.啤酒酵母菌对铜离子的吸附研究[J].食品工业科技,2007,28(2):99-101.
- [12] 张利祥,孙志武,吴宁,等.废弃啤酒酵母对重金属离子的吸附特性研究[J].中国环保产业,2011,44(5):44-47.
- [13] 徐慧娟,龙敏南,许建宾.啤酒酵母生物吸附镉的研究[J].工业微生物,2004,34(2):10-13.
- [14] 贾成国,丁力,彭帅,等.酵母废水预处理的研究探讨[J].现代食品科技,2011,27(1):77-79.
- [15] 方佳茂,刘偲琪,庄楚周,等.复合酶水解蚕蛹蛋白制备功能性寡肽的工艺研究[J].现代食品科技,2012,28(3):323-328.
- [16] 赵新淮,冯志彪.大豆蛋白水解物水解度测定的研究[J].东北农业大学学报,1995(2):178-181.
- [17] 鲁伟,任国谱,宋俊梅.蛋白水解液中多肽含量的测定方法[J].食品科学,2005,26(7):169-171.