

电流对钼青霉菌吸附和固定铅离子的响应机制

王明燊, 郝瑞霞, 丁 杨

(造山带与地壳演化教育部重点实验室, 北京大学 地球与空间科学学院, 北京 100871)

摘要: 重金属铅污染是一种主要的环境污染类型, 对生态以及人类健康存在着极大的威胁。如何修复铅污染是目前亟待解决的关键性问题。在众多的铅污染修复方法中, 微生物修复法具有独特的优势。本实验中所使用的钼青霉菌是已被验证的对铅具有高耐受度和高吸附率的优秀菌种。在此基础上, 本实验的主要研究目的在于进一步提高该菌种对铅的吸附、固定能力。实验采用双室电解池体系, 分组设置0.5 V至1.5 V的梯度槽压, 以观察不同电压下电流对钼青霉菌生长环境及对铅离子吸附作用的影响。实验结果表明, 电流既可能促进也可能抑制钼青霉菌对铅离子的吸附和固定作用, 其作用结果与外加电压的大小有关, 在1.0~1.25 V的最适电压区间下, 电流能增强钼青霉菌对铅离子的吸附和固定能力。

关键词: 铅; 钼青霉菌; 吸附; 电流

中图分类号: P579

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2017)06-0858-07

Response mechanism of electric current on adsorption and immobilization of lead by *Penicillium polonicum*

WANG Ming-can, HAO Rui-xia and DING Yang

(Key Laboratory of Orogenic Belts and Crustal Evolution, School of Earth and Space Science, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: Lead pollution is a kind of environmental pollution, which leads to serious problems to ecology and human health. In such a situation, how to repair lead pollution is a key issue that needs to be solved urgently. Compared with other lead pollution remediation methods, bioremediation has unique advantages. *Penicillium polonicum*, the fungi used in this experiment, is the strain with proven high tolerance and high adsorption rates to lead. On the basis of previous studies, the main purpose of this experiment is to improve the adsorption and immobilization capability of *Penicillium polonicum* to lead. Double chamber electrolytic cell was used in this experiment to observe the effect of the current on the growth environment and the adsorption of lead by fungi at different voltage ranges from 0.5 V to 1.5 V. The results show that the electric current could either promote or inhibit the adsorption and immobilization of lead ions by *Penicillium polonicum*. The effect of the current is related to the voltage. The current could enhance the adsorption and immobilization of lead by the strain under the most appropriate voltage range between 1.0 V and 1.25 V.

Key words: lead; *Penicillium polonicum*; adsorption; electric current

Fund support: National Basic Research Program of China ("973" Program) (2014CB846003); National Natural Science Foundation of China(41672332, 41230103)

收稿日期: 2017-08-31; 接受日期: 2017-10-10

基金项目: 国家重点基础研究规划项目“973”计划(2014CB846003); 国家自然科学基金资助项目(41672332, 41230103)

作者简介: 王明燊(1993-), 男, 汉族, 硕士研究生, 研究方向: 微生物地球化学, E-mail: wangmingcan@pku.edu.cn; 通讯作者: 郝瑞霞(1966-), 女, 汉族, 副教授, 研究方向: 微生物地球化学, E-mail: rxhao@pku.edu.cn.

重金属铅污染对人类的健康具有极大的危害性(Wang and Chen, 2006; Sari *et al.*, 2007; Brady *et al.*, 2008; Soodan *et al.*, 2014), 如何修复铅污染是全世界都关注的热点问题。目前铅污染修复技术主要有3类: 物理修复技术、化学修复技术以及生物修复技术。相较于物理修复法和化学修复法, 因微生物具有来源广泛, 繁殖速度快, 对环境适应能力强等特点, 微生物修复法具有独特的优势, 修复效果极佳, 拥有广阔的应用前景(Ahluwalia and Goyal, 2007; Uluozlu *et al.*, 2008)。

在微生物的正常代谢活动中, 电子的得失和转移是必不可少的过程。一般而言, 微生物的电子供体和受体是与代谢活动相关的物质, 然而对于某些微生物, 电极可以直接充当电子供体或受体(Lovley, 2011; Lovley and Nevin, 2011)。电流对于微生物既可能促进其生长和其他的代谢活动(Velasco-Alvarez *et al.*, 2011; Sánchez-Vázquez *et al.*, 2015), 也可能抑制菌体的生长, 甚至能够加速死亡(Wei *et al.*, 2011; Rego *et al.*, 2015)。电流对微生物的影响与所加电流的强度、环境条件以及微生物的种类等因素均有关系。

前人已经对铅污染的微生物修复进行了大量研究(Wang *et al.*, 2001; Dursun *et al.*, 2003; 潘蓉等, 2010; Iskandar *et al.*, 2011; Akar *et al.*, 2013; Din, 2014), 本课题中所使用的钋青霉菌是已被验证的对铅具有高耐受度和吸附率的真菌(郝瑞霞等, 2015)。在此研究基础上, 通过一系列实验, 着重研究电流对钋青霉菌生长特性以及吸附铅离子的影响, 以寻求一种高效修复铅污染的新方法。

1 实验材料与方法

1.1 实验仪器

主要的实验仪器为: CHI-1000C 多通道恒电位仪(上海辰华仪器有限公司), HZQ-F100 振荡培养箱(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司), AL204-IC 万分天平(梅特勒), LRH-150 生化培养箱(上海齐欣科学仪器有限公司), FE20 pH计(梅特勒-托利多), 2 mL 微量滴定管。

1.2 双室培养装置

实验采用双室系统作为菌体生长环境, 装置主体分为左右两室, 单侧室体为“T”型玻璃容器, 可用容积约为 100 mL, 安装完毕后的装置整体呈“H”型。

两室连接通道采用机械固定, 使用阳离子交换膜进行隔离, 目的在于观察不同电极极性下, 电流对于钋青霉菌生长以及吸附、固定铅离子的影响。

实验使用惰性石墨电极, 以防止电极对培养体系产生影响, 接口处采用橡胶粘合固定并密封。

1.3 培养基

微生物的代谢分为同化作用和异化作用。根据微生物同化作用的能量来源, 可分为自养型和异养型微生物2类; 而根据微生物异化过程中呼吸作用的电子受体与氧气的关系, 可分为好氧型、厌氧型和兼气性微生物3类。

实验所使用的钋青霉菌为异养好氧型真菌, 一般采用牛肉膏-蛋白胨型的富营养培养基进行培养。为测试不同电压和电极极性条件下钋青霉菌吸附固定铅离子的情况, 本实验采用的培养基为: 牛肉膏 1 g, 蛋白胨 3 g, 酵母 0.5 g, 葡萄糖 3 g, NaCl 2 g, NaNO₃ 0.5 g, MgSO₄·7 H₂O 5 × 10⁻³ g, NH₄Cl 0.1 g, Pb(NO₃)₂ 1.33 g(此条件下 Pb²⁺ 浓度为 4 mmol/L, 即 828 mg/L), 去离子水 1 L。经测定, 该配方所配制的培养基初始 pH=4.91, Eh=110 mV。

1.4 实验电路与监控

如图1所示, 本实验采用两电极电解池体系, 由电化学工作站提供外接电源并进行进行电流监控。

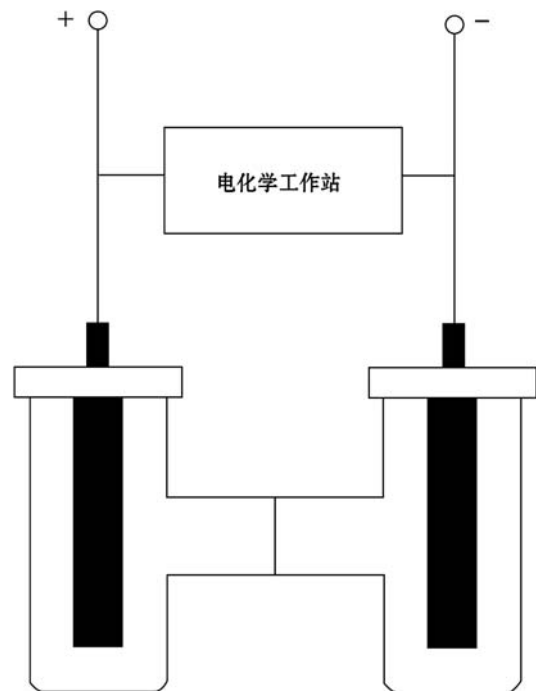


图1 实验电路

Fig. 1 Experimental circuit

1.5 对照组设置及测试参数

为研究电流对针青霉菌吸附和固定铅离子的影响,分别设置电解池槽压为 1.5 V、1.25 V、1.0 V、0.75 V、0.5 V 的实验组和未接通电源的原始对照组。在不同的电解池槽压下,针青霉菌接种于正极一侧的实验组为该电压条件下的正极组,接种于负极一侧的实验组为该电压下的负极组。

各组均每日测量接种一侧溶液的 pH 值与 Eh 值作为生长环境的监测指标,同时每日取样测量各组的铅离子浓度。

2 实验结果与讨论

2.1 电流对针青霉菌生长环境的影响

本实验结果表明,电流对针青霉菌生长环境的影响主要来自于电流对水的电解作用。标准状况下,水

的理论电解电压为 1.23 V,槽压超过电解电压则会发生电解,而在实际情况下,还存在超电势的影响。

如图 2 所示,各实验组中,1.5 V 槽压下的影响最为明显,由于 1.5 V 已超过水的理论电解电压,水发生电解,使得负极侧呈弱碱性、还原性环境,而正极侧酸性与氧化性加强,正负极的生长环境具有显著差距;而 1.25 V 槽压略高于水的电解电压,实验结果表明此条件下正极的酸性和氧化性会略强于负极一侧,说明此条件下水也会发生微弱的电解,但电解程度不足以使得负极一侧变为碱性、还原性的环境;1.0 V、0.75 V、0.50 V 各组的槽压均低于水的电解电压,不发生水的电解反应,各组内正负极两侧的 pH 值和 Eh 值差距不明显,且各组之间的 pH 值和 Eh 值也较为接近,但酸性和氧化性均较未接通电流的原始对照组有一定提升。

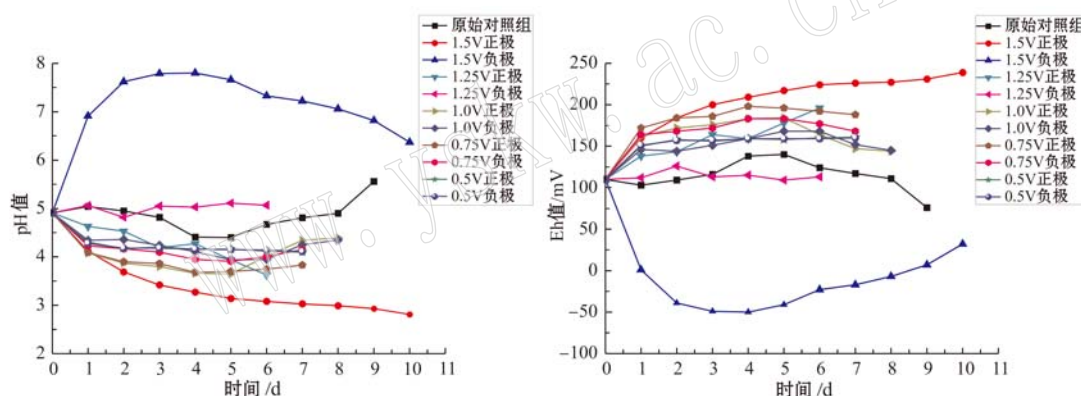


图 2 针青霉菌吸附铅离子过程的 pH 值和 Eh 值变化

Fig. 2 Change of pH and Eh during the adsorption of lead by *Pencillium polonicum*

以上结果表明,当槽压高于水的电解电压,水的电解会对针青霉菌的生长环境产生较大影响,尤其是在 1.5 V 的电压条件下,负极一侧变为碱性、还原性环境,针青霉菌的生长受到极大抑制;当槽压低于水的电解电压,电流对针青霉菌的生长环境影响有限,但在电流刺激下,针青霉菌的代谢活动有所增强,表现为生长环境的氧化性、酸性提升。

2.2 电流对针青霉菌吸附、固定铅离子的影响

如图 3 所示,实验结果表明电流对针青霉菌对铅离子的吸附存在影响,电解池槽压和电极极性决定了对铅离子吸附速率和最终吸附率的影响强弱和方向。1.5 V 槽压负极侧及 0.75 V、0.5 V 槽压下,针青霉菌的吸附作用受到抑制。其中,1.5 V 负极组由于槽压高于水的理论电解电压 1.23 V,发生明

显的水电解反应,使得负极一侧变为碱性、还原性的环境,显著抑制了针青霉菌的正常生长。0.75 V、0.5 V 槽压下,针青霉菌对铅离子的吸附作用均受到抑制,但是生长未受到影响,且生长环境未发生较大改变,推测在该槽压下电流仅对针青霉菌吸附铅离子产生抑制作用,而不影响其正常生长代谢活动。而 1.5 V 槽压正极侧及 1.0 V、1.25 V 槽压下,针青霉菌对铅离子的吸附效率得到提升。1.5 V 正极侧和 1.25 V 条件下针青霉菌吸附铅离子的速率相较于原始对照组具有显著提升,其中 1.5 V 正极侧的吸附速率最快,能够在第一天的时间内吸附超过 80% 的铅离子。但是 1.0 V 体系下的最终吸附率最高,能够达到 100%。

以上结果说明,在低于 1.0 V 的电解池槽压下,

电流会对钗青霉菌吸附、固定铅离子的作用产生抑制效果;而在电压高于 1.0 V 后,电压增大会提高钗青霉菌对铅离子的吸附速率;但当电压超过水的电解电压时,水的电解会改变菌体的生长环境,当水发生显著电解,负极一侧变为碱性、还原性的环境后,钗青霉菌的生长会受到严重的抑制,反而会使得其吸附铅离子的能力下降。

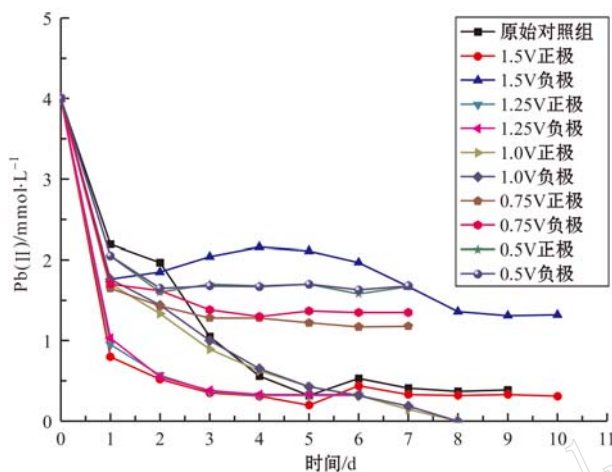


图3 钗青霉菌吸附铅过程中的铅离子浓度变化

Fig. 3 Pb(II) concentration change of adsorption to Pb(II) by *Penicillium polonicum*

2.3 不同电压下钗青霉菌所固定铅矿物的形貌特征

如图4所示,对实验菌体的微观观察发现,不同电解池槽压下,钗青霉菌所固定的铅矿物的微观形貌和空间分布具有一定的差别。其中,通过环境扫描电镜观察发现,1.5 V 负极组(图4a)所固定的铅矿物空间数密度较小,且在菌体表面分布不均,主要以无明显形态吸附于细胞表面的铅和呈细小颗粒状的铅矿物为主;1.5 V 正极组(图4b)和 1.25 V(图4c)电压下,细胞表面固定的铅矿物数密度极大,主要呈不规则的片状和粒状;1.0 V 电压下(图4d),正负两极接种的真菌在扫描电镜下无明显差别,值得注意的是,在此条件下,菌体表面所固定的铅矿物呈完好的晶形,单晶多为短柱状;而在 0.75 V(图4e)、0.5 V(图4f)的电压下,菌体表面固定的铅矿物的数密度较小,局部菌体固定的铅矿物较为集中,但仍然可以看见少量晶形较为完整的短柱状的晶体,固定的铅矿物主要形态为粒状。

钗青霉菌所固定铅矿物的形态差别,推测与结

晶速率有关。1.5 V 正极一侧和 1.25 V 的电压条件下,钗青霉菌对铅离子的吸附速率快,菌体固定的铅矿物结晶较快,因此晶形多成不规则的粒状或片状;1.0 V 体系下吸附速率较为平稳,体系内的铅离子浓度下降趋势接近线性,最终所固定的铅矿物结晶较好,出现了大量晶形完好的柱状单晶;而受到抑制的各组则由于吸附固定的铅离子有限,因此结晶较少,也难以形成晶形较好的晶体。

同时,如图5所示,对实验菌体的超薄切片使用透射电镜进行观察发现,菌体细胞内外均有铅矿物富集,且细胞内的部分铅矿物形貌明显与细胞外不同,细胞外的铅矿物多为晶形较为完好的柱状矿物,而细胞内的部分铅矿物的晶形并不完整,说明钗青霉菌能够将铅转运至细胞内进行固定和转化。

2.4 电流影响钗青霉菌吸附铅离子的作用机制

微生物对铅离子进行矿化固定的主要机制有:

① 在微生物新陈代谢过程中会产生一些能络合或沉淀 Pb^{2+} 的代谢产物,使 Pb^{2+} 通过含铅矿物晶体的形式固定在细胞外;② 微生物细胞壁组分中的一些化学基团,如羧基、羟基、氨基、巯基等与铅离子相互作用,通过离子交换、表面络合、静电吸附、氧化还原或无机微沉淀等形式将铅离子固定在细胞壁表面(王建龙等,2010);③ 活体细胞通过主动运输、胞吞等方式将铅离子运移到细胞内部固定或进一步转化,这是一个耗能的主动吸收作用。

根据目前的实验结果,推测电流对钗青霉菌吸附固定铅离子的影响机制如下:在合适的电解池槽压下,电流能够促进钗青霉菌的生长,并且电极能够充当钗青霉菌的电子供体和受体,促进钗青霉菌的能量代谢。一方面输入的电流增强了钗青霉菌的代谢活动,使得分泌至细胞外的代谢产物增多,加快了对细胞外铅离子的矿化固定;另一方面,钗青霉菌的能量代谢增强,促进了将铅离子转移至细胞内的主动运输过程,同时使得细胞外的铅离子矿化过程的化学平衡向矿化方向移动,进一步加快铅离子的固定,从而促进钗青霉菌对铅离子的吸附固定作用。

当电解池槽压过高,造成水明显电解使得负极一侧变为碱性环境之后,将不适合钗青霉菌生长,从而抑制钗青霉菌对铅离子的吸附;而在低的电解池槽压下,菌体的生长未受影响但其对铅离子的吸附、固定受到明显抑制,其机制还有待进一步的实验验证。

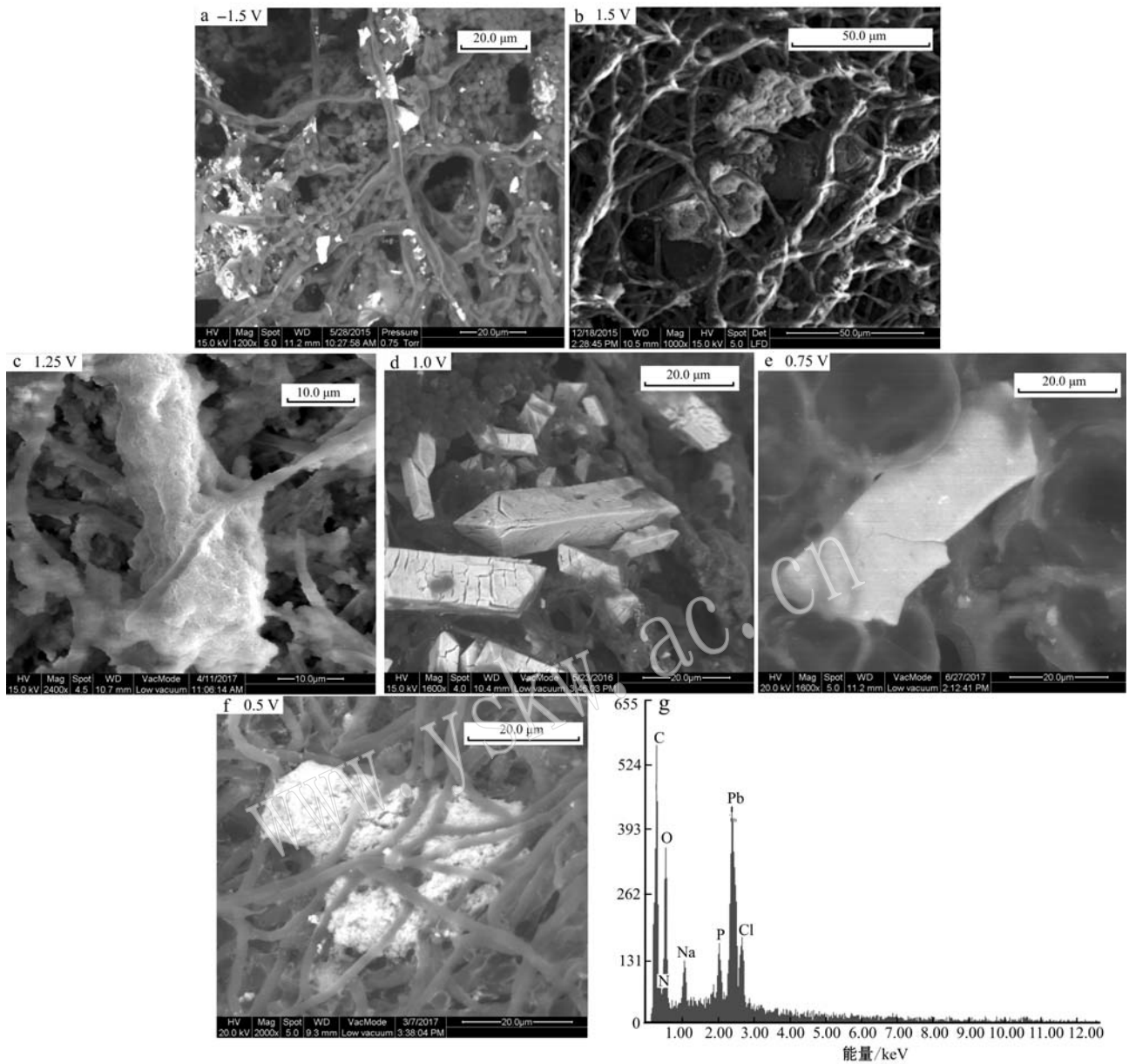


图 4 不同电压下针青霉菌所固定的铅矿物及能谱分析

Fig. 4 Lead minerals produced by *Pencillium polonicum* under different voltages

3 结论

(1) 在适宜的条件下, 电流对针青霉菌的生长具有较为显著的促进作用。同时, 电流对针青霉菌吸附铅离子的影响与电解池的槽压大小和菌体所处的电极极性关系密切, 在槽压为 1.0 V 的条件下, 针青霉菌对铅离子的最终吸附率最高。高于 1.0 V 的情况下, 电压的升高能较大地提高针青霉菌对铅离

子的吸附速率。各实验组中, 在 1.5 V 的条件下, 接种在正极一侧的针青霉菌对铅离子具有最快的吸附速率。

(2) 电流对针青霉菌吸附铅离子的速率影响能够直接的反映在菌体所固定的铅矿物的形态上。吸附速率较快的情况下, 菌体固定的铅矿物结晶较快, 因此晶形多成不规则的粒状或片状。而在 1.0 V 的条件下, 菌体对铅离子的吸附速率稳定, 体系内的铅离子浓度下降平稳, 最终所固定的铅矿物结晶较

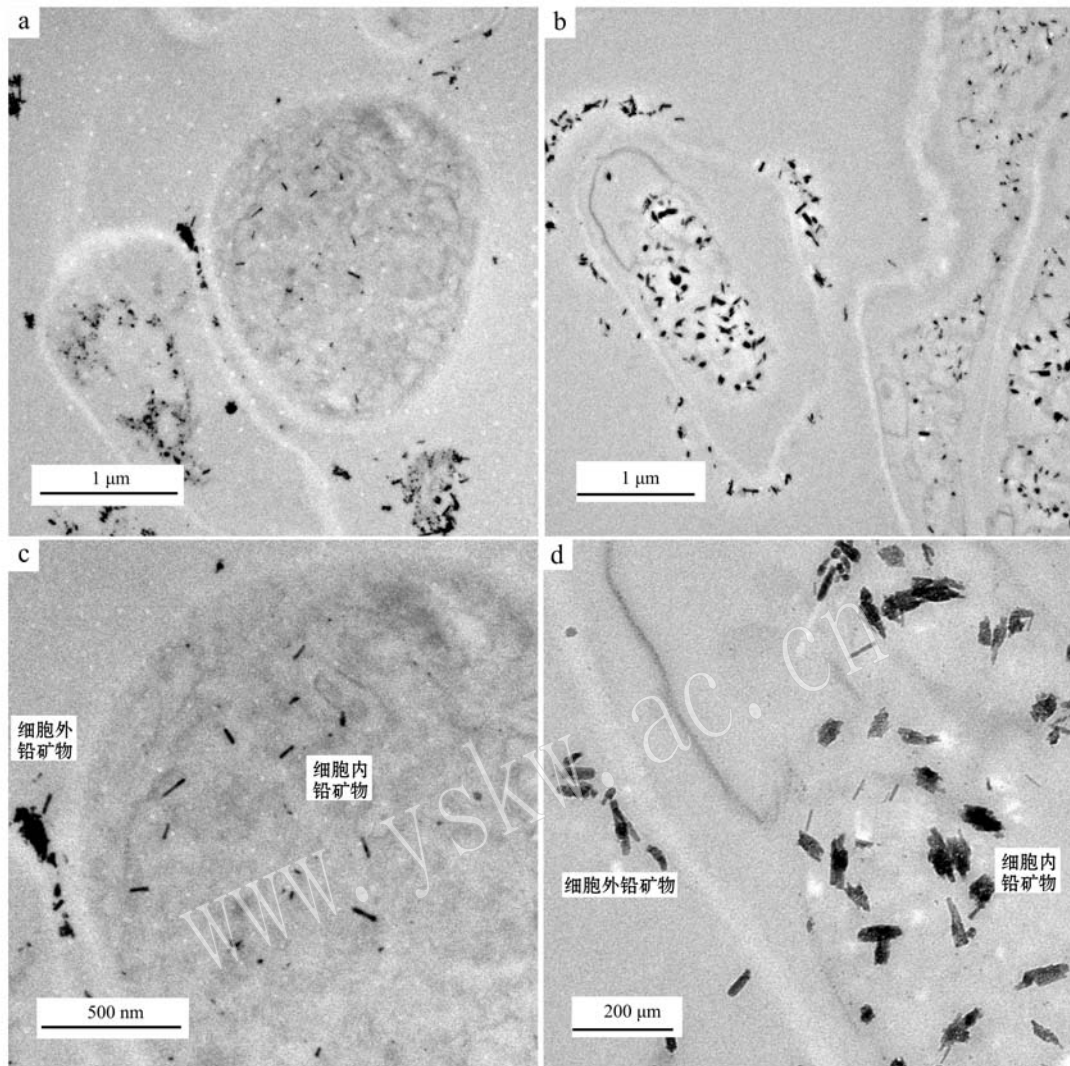


图5 链霉菌的透射模式电子显微照片

Fig. 5 TEM images of *Pencillium polonicum*

好,出现了大量晶形完好的柱状单晶。

(3) 电流作用对于链霉菌的生长与铅吸附效率有显著的影响,在一定条件下电流能够促进链霉菌生长,提高其对铅的吸附效率,具有改进提升现有菌种对铅污染修复的能力,可以作为铅污染的微生物修复法未来的一个重点研究方向。

References

- Ahluwalia S S and Goyal D. 2007. Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 98(12): 2 243~2 257.
- Akar T, Celik S, Ari A G, *et al.* 2013. Removal of Pb^{2+} ions from contaminated solutions by microbial composite: Combined action of a soilborne fungus *Mucor plumbeus* and alunite matrix[J]. *Chemical Engineering Journal*, s 215~216: 626~634.
- Brady D, Stoll A and Duncan J R. 2008. Biosorption of heavy metal cations by non-viable yeast biomass. *Environ Technol*[J]. *Environmental Technology*, 15(5): 429~438.
- Din M I, Hussain Z, Mirza M L, *et al.* 2014. Adsorption optimization of lead (II) using *saccharum bengalense* as a Non-Conventional low cost biosorbent: Isotherm and thermodynamics modeling[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 16(7~12): 889~908.
- Dursun A Y, Uslu G, Cuci Y, *et al.* 2003. Bioaccumulation of copper (II), lead (II) and chromium(VI) by growing *Aspergillus niger* [J]. *Process Biochemistry*, 38(12): 1 647~1 651.

- Hao Ruixia, Wu Feng, Jiang Yuan, *et al.* 2015. Effects on the adsorption and immobilization of lead ions by fungi[A]. Journal of Jilin University (Earth Science Direction)(in Chinese).
- Iskandar N L, Zainudin N A I M and Tan S G. 2011. Tolerance and biosorption of copper (Cu) and lead (Pb) by filamentous fungi isolated from a freshwater ecosystem[J]. Journal of Environmental Sciences, 23(5): 824~830.
- Lovley D R. 2011. Powering microbes with electricity: direct electron transfer from electrodes to microbes[J]. Environmental Microbiology Reports, 3(1): 27~35.
- Lovley D R and Nevin K P. 2011. A shift in the current: new applications and concepts for microbe-electrode electron exchange[J]. Current Opinion in Biotechnology, 22(3): 441~448.
- Pan Rong, Cao Lixiang and Zhang Renduo. 2010. Biosorption characteristics of heavy metals cadmium, copper, zinc, lead by *Penicillium* and *Fusarium* fungi[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 30(3): 477~484(in Chinese with English abstract).
- Rego D, Redondo L M, Geraldés V, *et al.* 2015. Control of predators in industrial scale microalgae cultures with Pulsed Electric Fields[J]. Bioelectrochemistry, 103: 60~64.
- Sánchez-Vázquez V, González I and Gutiérrez-Rojas M. 2015. Electric field as pretreatment to enhance the activity of a whole-cell biocatalyst for hydrocarbon degradation in contaminated water[J]. Chemical Engineering Journal, 260: 37~42.
- Sari A, Tuzen M, Özgür Doğan Uluözlü, *et al.* 2007. Biosorption of Pb(II) and Ni(II) from aqueous solution by lichen (*Cladonia furcata*) biomass[J]. Biochemical Engineering Journal, 37(2): 151~158.
- Soodan R K, Pakade Y B, Nagpal A, *et al.* 2014. Analytical techniques for estimation of heavy metals in soil ecosystem: A tabulated review [J]. Talanta, 125(11): 405~410.
- Uluozlu O D, Sari A, Tuzen M, *et al.* 2008. Biosorption of Pb(II) and Cr(III) from aqueous solution by lichen (*Parmelina tiliaceae*) biomass[J]. Bioresource Technology, 99(99): 2 972~2 980.
- Velasco-Alvarez N, González I, Damian-Matsumura P, *et al.* 2011. Enhanced hexadecane degradation and low biomass production by *Aspergillus niger* exposed to an electric current in a model system [J]. Bioresource Technology, 102(2): 1 509~1 515.
- Wang J and Chen C. 2006. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review[J]. Biotechnology Advances, 24(5): 427~451.
- Wang Jianlong and Chen Can. 2010. Research advances in heavy metal removal by biosorption[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 30(4): 673~701(in Chinese with English abstract).
- Wang J, Zhan X, Ding D, *et al.* 2001. Biosorption of lead(II) from aqueous solution by fungal biomass of *Aspergillus niger*[J]. Journal of Biotechnology, 87(3): 273~277.
- Wei V, Elektorowicz M and Oleszkiewicz J A. 2011. Influence of electric current on bacterial viability in wastewater treatment[J]. Water Research, 45(16): 5 058~5 062.

附中文参考文献

- 郝瑞霞, 吴 洋, 姜 源, 等. 2015. 真菌对铅离子的吸附和固定作用[A]. 中国矿物岩石地球化学学会第 15 届学术年会论文摘要集[C]. 吉林大学学报: 地球科学版.
- 潘 蓉, 曹理想, 张仁铎. 2010. 青霉菌和镰刀菌对重金属 Cd、Cu、Zn 和 Pb 的吸附特性[J]. 环境科学学报, 30(3): 477~484.
- 王建龙, 陈 灿. 2010. 生物吸附法去除重金属离子的研究进展[J]. 环境科学学报, 30(4): 673~701.