

巨大芽孢杆菌 D01 吸附金(Au^{3+})的研究*

刘月英¹ 傅锦坤² 陈 平³ 于新生² 阳鹏程**

(1 厦门大学 生物系 厦门 361005) (2 厦门大学 化学系 厦门 361005)

(3 厦门大学 分析测试中心 厦门 361005)

摘 要: 巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*) D01 菌体吸附 Au^{3+} 的最适 pH 值为 3.0, 其生物吸附作用是一种快速的过程, 最初 5min 的吸附量可达到最大吸附量的 95%, 温度不影响该吸附作用。在 pH3.0 和 30℃、起始金离子浓度与菌体浓度之比为 305mg/g 的条件下, 吸附 30min, 吸附率达 99.1%, 吸附量为 302.0mg/g 干菌体。D01 菌体能将溶液中的 Au^{3+} 还原成 Au^0 , 在细胞表面和溶液中的 Au^0 能形成不同形状的金晶体。浸渍在 SiO_2 和 $\alpha-Fe_2O_3$ 的 Au^{3+} 能被 D01 菌体还原成 Au^0 。从电化学反应表明, D01 菌体对 Au^{3+} 的还原具有较好的选择性。

关键词: 巨大芽孢杆菌, 金, 生物吸附, 生物还原

分类号: Q939.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 0001-6209(2000)04-0425-29

微生物富集金属已被人所知, 近年来因其在环境保护和在贵金属回收中的潜在应用前景而倍受重视。从溶液中回收金和银等贵金属的方法有活性炭吸附、离子交换、化学沉淀、电解和溶剂萃取法等^[1]。但当溶液中金属含量低于每升几百毫克时, 用上述回收方法是不经济的。利用微生物回收金国外已有一些报道, 国内则较少。该法具有原材料来源丰富、成本低、吸附速度快和选择性好等优点。为了用微生物还原法制备高分散度负载型金催化剂, 我们曾从不同来源的细菌菌株筛选获得一株吸附还原 Au^{3+} 较强的菌株 D01, 经鉴定为巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)^[2]。本文探讨菌株 D01 吸附还原 Au^{3+} 的一些特性, 以期利用微生物菌体回收金和为改进还原法制备高分散度负载型金催化剂提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 菌种

从金矿区土壤分离筛选获得, 经鉴定为巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*), 菌号为 D01^[2]。

1.2 培养基与培养条件

斜面培养(%)培养基为牛肉膏 0.5, 蛋白胨 1.5, NaCl 0.5, 琼脂 2, pH7.0, 30℃ 培养 24h。

* 国家自然科学基金资助项目(29743001 和 29876026)

** 厦门大学生物学系 99 届毕业生, 参加本工作的还有本校化学系的胡荣宗和生物系的姚炳新、翁绳周

作者简介: 刘月英(1942—), 女, 福建省云霄县人, 厦门大学生物系副教授, 主要从事微生物生理生化研究

收稿日期: 1999-07-26, 修回日期: 1999-10-18

液体种子培养 培养基除不加琼脂外,其他成份与斜面培养基相同,250mL 三角瓶装培养基 50mL,30℃ 下振荡培养 18h。

三角瓶扩大培养 培养基与液体种子培养基相同。500mL 三角瓶装培养基 100mL,接种子液 5%,30℃ 下振荡培养 24 h。

1.3 菌体的制备

培养物经离心(3500r/min,15min)弃培养基,然后用灭菌的重蒸水洗涤 2~3 次,湿菌体贮存于 4℃ 备用。

1.4 Au³⁺ 的生物吸附试验

5.0mL 菌体悬浮液与 5.0mL 的 Au³⁺ 水溶液接触,30℃ 下振荡至一定时间。然后用 0.22μm 孔径的滤膜过滤 Au³⁺—菌体接触液,滤液用 Baird S-4 型电感耦合等离子体原子发射光谱仪分析残留 Au³⁺ 浓度。按下式计算 Au³⁺ 离子生物吸附率和生物吸附量:

生物吸附率 = $(C_i - C_f) / C_i \times 100\%$ 生物吸附量 (mg/g 干重菌体) = $(C_i - C_f) V / 1000m$

式中 C_i 和 C_f 分别为 Au³⁺ 的起始浓度和最终浓度 (mg/L), V 为接触液的体积 (mL), m 为菌体的质量 (g)。

1.5 Au³⁺/SiO₂ 和 Au³⁺/α-Fe₂O₃ 的制备

按文献 [2] 的方法制备。所得的 Au³⁺/SiO₂ 和 Au³⁺/α-Fe₂O₃ 的 Au³⁺ 负载量分别为 2.4% 和 2.0%。

1.6 TEM 照片的制备

在加速电压 100KV 下用透射电子显微镜 (JEM,100CX II 型) 照相。

2 结果和讨论

2.1 菌体吸附 Au³⁺ 的条件试验

2.1.1 pH 的影响 溶液的 pH 值对溶液中金属的化学性质、生物体上官能团的活性,以及金属离子对结合位点的竞争都有影响。为了研究 pH 对 D01 菌体吸附金离子的影响,用 HCl 或 NaOH 将 Au³⁺—菌体接触液 (含 150mg Au³⁺/L 和 254mg 干重菌体/L) 调至不同的 pH 值,30℃ 下振荡 2h。结果 (表 1) 表明,该菌吸附金离子的最适 pH 为 3.0,在 pH3.0 吸附量达 425.8mg/g 干重菌体。随着 pH 值的升高,吸附量明显降低,在 pH2.0 时,吸附量也较低。在酸性条件下,氯金酸水解成不同的金属阴离子基因 (例如 AuCl₄⁻)^[3],而菌株 D01 菌体的功能基,例如氨基和羧基提供了正电荷的细胞表面^[4,5]。因此,菌株 D01 菌体和金的阴离子基因之间的静电作用是该菌体与金结合的主要原因。关于 D01 菌体吸附 Au³⁺ 的机制尚待进一步研究。以下试验选用 pH3.0。

表 1 pH 对菌株 D01 吸附 Au³⁺ 的影响

Table 1 Effect of pH on Au³⁺ biosorption by D01 biomass

pH	Au ³⁺	Biosorption
	Efficiency/%	Capacity/(mg/g)
2.0	67.3	397.6
3.0	72.1	425.8
4.0	62.8	371.1
5.0	62.2	367.1
6.0	54.9	324.4
7.0	45.1	266.5
8.0	23.7	139.8

2.1.2 吸附时间的影响:结果表明,菌体与 Au³⁺ 接触 5min 吸附量为 300.0mg/g,达到最

大吸附量(315.9mg/g)的95%。30min后吸附量不再增加。说明菌体吸附Au³⁺是一种快速的过程。

2.1.3 温度的影响:结果表明,在5、20、30、50和65℃下,吸附量分别为313.0、313.1、324.4、330.3和330.3(mg/g),未检测到明显的变化。说明菌体对金离子的吸附作用是非依赖温度的过程。其他研究者在金^[1]、铀^[6]和铅^[7]等的生物吸附研究中也得到类似的结果。为了达到较好的吸附效果和从实际应用考虑,选择30℃较为适宜。

2.1.4 菌体浓度的影响:用不同的菌体浓度(82~410mg/L)在Au³⁺起始浓度100mg/L、pH3.0和30℃下吸附作用30min。结果(图1)表明,菌体对金离子的吸附率随着菌浓度的提高而提高,吸附量则反之。当菌体浓度为328mg/L,即起始金离子浓度与菌体浓度之比为305mg/g干重时,吸附率可达99.1%,吸附量为302.0mg/g。与一些微生物吸附金属的能力比较^[1,6~8],菌株D01吸附金的能力比较强,且与藻类和丝状真菌比较,菌株D01有易培养、生长快等优点,因此具有良好的应用前景。

2.2 溶液中Au³⁺的生物还原

据报道,Au³⁺被藻类细胞^[9]、芽枝状枝孢^[1]吸附后,会被还原成Au⁰。在上述适宜的条件下进行试验,定时取样在TEM下观察。结果表明,菌体与金离子接触后,在细胞壁上和接触液中存在电子不透明的物质,即Au⁰颗粒,而且随着接触时间的延长,Au⁰颗粒增大(图2)并可结晶形成不同形状的金晶体(图3)。这些结果说明,菌体与金离子之间的作用不仅存在着静电作用,而且存在着金离子的还原作用。

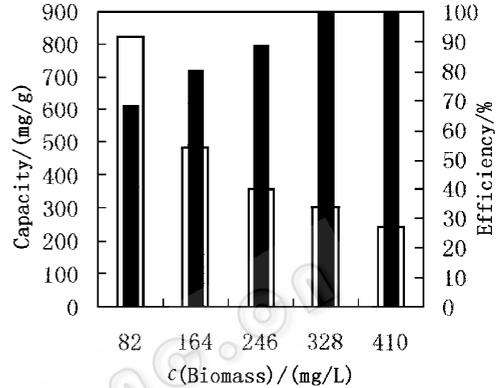


图1 菌体浓度对吸附Au³⁺的影响

Fig. 1 Effect of biomass concentration on Au³⁺ biosorption by strain D01
□ Biosorptive capacity; ■ Biosorptive efficiency.

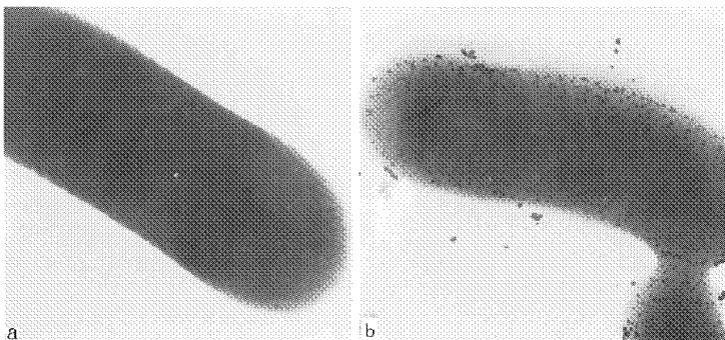


图2 D01菌体吸附Au³⁺后的TEM照片(20000×)

Fig. 2 Transmission electron micrographs of D01 cells exposed to Au³⁺ solution. The cells exposed to Au³⁺ for (a) 1h (b) 2h.

2.3 $\text{Au}^{3+}/\text{SiO}_2$ 、 $\text{Au}^{3+}/\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 的生物还原

在起始金离子浓度与菌体浓度之比为 300mg/g 干重、pH3.0 和 30℃ 下进行还原试验,定时取样用 TEM 观察。结果(图 4)表明,浸渍吸附在 SiO_2 和 $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 上的 Au^{3+} 可被原位还原成 Au^0 。这一结果说明 D01 菌体不仅具有从各种废液、矿坑水回收金的潜力,而且有可能用来从废渣、贫矿或尾矿的浸出液中回收金。

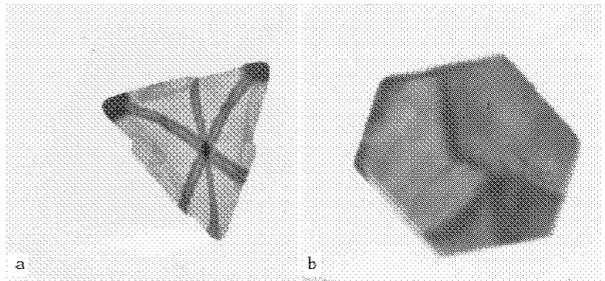


图 3 金晶体的 TEM 照片

Fig. 3 Transmission electron micrographs of the gold crystal (a) $50000\times$ (b) $108000\times$

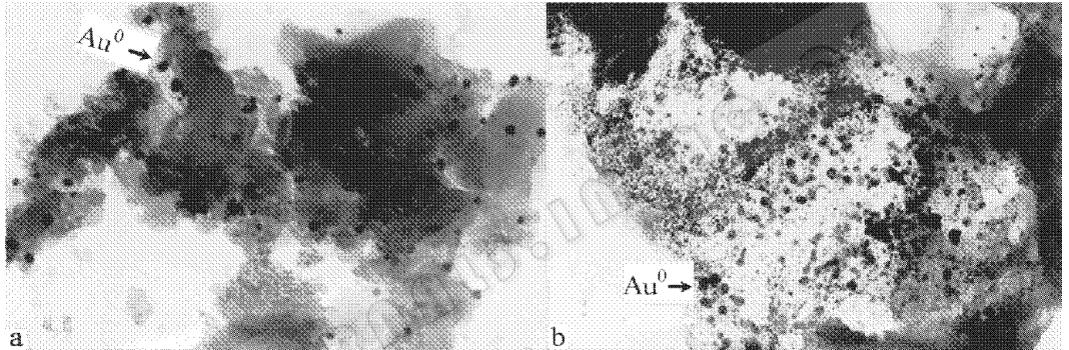


图 4 $\text{Au}^{3+}/\text{SiO}_2$ (a) 和 $\text{Au}^{3+}/\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (b) 与菌体接触后的 TEM 照片 (80000 \times)

Fig. 5 Transmission electron micrographs of $\text{Au}^{3+}/\text{SiO}_2$ (a) and $\text{Au}^{3+}/\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (b) contacted with D01 biomass for 2h

2.4 循环伏安法检测菌株的选择还原特性

为了探明菌株对金属的选择吸附特性。试验以 D01 菌体修饰的碳糊电极为工作电极、纯碳糊电极为对照在 84.70mg/L HAuCl_4 溶液中进行循环伏安曲线测定。结果表明,用菌体修饰的碳糊电极在 350mv 处出现尖锐的阴性还原峰,而且明显大于未用菌体修饰的碳糊电极的峰。当将菌体修饰电极置于铜、银等金属离子溶液中,在相同实验条件下进行伏安扫描时,结果无明显出现对应于该种离子的阴极还原电流峰。这些结果表明,菌体对金离子不仅具有强的还原性,而且具有较好的选择性。

致谢 本研究得到厦门大学电镜、等离子发射光谱等实验室的支持和帮助,在此表示衷心感谢。

参 考 文 献

- [1] 黄淑惠. 微生物学通报, 1991, 18(1): 11~14.
 [2] 刘月英, 付锦坤, 胡荣宗, 等. 微生物学报, 1999, 39(3): 260~263 研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

- [3] Kuyucak N ,Volesky B. *Biotechnol letters* ,1988 ,**10** (2) :137~142.
- [4] 付锦坤 ,于新生 林种玉 等. 厦门大学学报(自然科学版) **37** (3) 313~314.
- [5] 付锦坤 刘月英 胡荣宗 等. 物理化学学报 ,1998 ,**14** (9) :769~771.
- [6] Bengtsson L ,Johansson B ,Hackett T J *et al.* *Appl Microbiol Biotechnol* ,1995 **42** :807~811.
- [7] Merroun M L ,Ben Omar N ,Gonzalez-Munoz M T *et al.* *J Appl Microbiol* ,1998 **84** :63~67.
- [8] 吴 涓 李清彪 邓 旭 等. 微生物学报 **39** (1) 87~90.
- [9] Gee A R ,Dudeney A W L. *Biohydrometallurgy Proc Int Symp* ,1987 :437~451.

STUDIES ON BIOSORPTION OF Au³⁺ BY *BACILLUS MEGATERIUM* *

Liu Yueying¹ Fu Jinkun² Chen Ping³ Yu Xinsheng² Yang Pengcheng¹

(¹Department of Biology ²Department of Chemistry ³Centre of Analysis & Testing ,Xiamen University ,Xiamen 361005)

Abstract : Some characteristics of Au³⁺ biosorption and bioreduction by *Bacillus megaterium* D01 biomass were reported. The optimum pH value of Au³⁺ biosorption by strain D01 was 3.0. The biosorption was a rapid process ,reaching 95% of the maximal capacity within the first 5 min of contact. Temperature did not affect the biosorption. The biosorptive efficiency(99.1%)and capacity (302.0mg Au³⁺/g dry weight biomass)were achieved under the conditions of pH 3.0 and 30℃ , both concentration with an initial Au³⁺ /biomass ratio of 305 mg/g dry weight for 30 min of the contact. The D01 biomass could reduce Au³⁺ in the solution to Au⁰ ,Au⁰ on the cells surface and in the contact solution could be crystallized to different forms gold crystals ,Au³⁺ impregnated on SiO₂ and α-Fe₂O₃ could be reduced to Au⁰ by D01 biomass. The results of electrochemical reaction indicated that the strain D01 exhibited a high selectivity for Au³⁺

Key words : *Bacillus megaterium* ,Gold ,Biosorption ,Bioreduction