



出芽短梗霉菌 JB16 铅镉吸附特性的研究

刘博, 解琳, 李春月, 刘宇恒, 苑新悦, 金忠民*

齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

刘博, 解琳, 李春月, 刘宇恒, 苑新悦, 金忠民. 出芽短梗霉菌 JB16 铅镉吸附特性的研究[J]. 微生物学报, 2023, 63(1): 181-193.

LIU Bo, XIE Lin, LI Chunyue, LIU Yuheng, YUAN Xinyue, JIN Zhongmin. Adsorption properties of lead and cadmium by *Aureobasidium pullulans* JB16[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(1): 181-193.

摘要: 【目的】本文对污染土壤中的耐重金属菌株进行分离鉴定, 研究菌株在不同条件下对吸附铅镉的影响因素。【方法】通过生理生化特征及 ITS 序列分析确定菌株种属, 采用平板划线法确定最大耐铅镉浓度并探究菌株吸附的最佳条件; 通过准二级动力学、Langmuir 和 Freundlich 等温吸附的模型及红外光谱探究吸附过程。【结果】菌落形态和 ITS 序列分析鉴定表明, 筛选分离的 JB16 为出芽短梗霉菌(*Aureobasidium pullulans*), 最大耐铅浓度达 1 500 mg/L, 最大耐镉浓度达 750 mg/L, 最大耐铅镉混合浓度达 1 500 mg/L 和 300 mg/L。通过单因素实验(温度、时间、菌龄、pH、湿菌体浓度和初始重金属浓度)得出结论, 在温度 30 °C、时间 2 h、菌龄 72 h、pH 6、湿菌体浓度 5 g/L 和初始铅浓度 150 mg/L 的最佳条件下, 菌体对铅的吸附率为 88.5%; 在温度 30 °C、时间 1 h、菌龄 96 h、pH 6、湿菌体浓度 5 g/L 和初始镉浓度 20 mg/L 的最佳条件下, 菌体对镉的吸附率为 59.4%。菌株吸附铅镉过程符合 Langmuir 吸附模型和准二级动力学模型, 为表面单分子层吸附。扫描电镜和红外光谱分析表明, 重金属离子对菌体造成影响, 吸附前后形态发生变化, 细胞表面的羟基、羧基、饱和 C-H 键和酰胺基等基团参与了吸附过程。【结论】菌株 JB16 具有一定的铅镉吸附效果, 为修复重金属铅镉污染的水体和土壤提供宝贵的菌种资源和数据支持。

关键词: 耐铅镉菌株; 吸附特性; 扫描电镜; 红外光谱

资助项目: 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(135509131)

This work was supported by the Basic Scientific Research Funds of Universities in Heilongjiang Province (135509131).

*Corresponding author. E-mail: yyy6768@163.com

Received: 2022-04-11; Accepted: 2022-06-14; Published online: 2022-07-21

Adsorption properties of lead and cadmium by *Aureobasidium pullulans* JB16

LIU Bo, XIE Lin, LI Chunyue, LIU Yuheng, YUAN Xinyue, JIN Zhongmin*

College of Life Sciences, Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China

Abstract: [Objective] To isolate and identify a heavy metal-resistant strain in the polluted soil and explore the factors influencing the adsorption of the strain for lead and cadmium under different conditions. **[Methods]** The strain was identified based on physiological and biochemical characteristics and ITS sequence. The streak plate method was employed to determine the maximum lead and cadmium tolerance of the strain and to explore the optimal conditions for the adsorption of lead and cadmium. The adsorption process was studied by pseudo-second-order kinetics, Langmuir and Freundlich models, and infrared spectroscopy. **[Results]** Strain JB16 was isolated and identified as *Aureobasidium pullulans*, which can tolerate the maximum lead concentration of 1 500 mg/L, the maximum cadmium concentration of 750 mg/L, and the maximum lead-cadmium mixture concentration of 1 500 mg/L and 300 mg/L, respectively. The single factor experiments (temperature, time, cell age, pH, wet mycelial concentration, and initial heavy metal concentration) optimized the lead adsorption conditions as follows: 30 °C, 2 h, cell age of 72 h, pH 6, wet mycelial concentration of 5 g/L, and initial lead concentration of 150 mg/L, under which the adsorption rate of lead was 88.5%. The optimum conditions for cadmium adsorption: 30 °C, 1 h, cell age of 96 h, pH 6, wet mycelial concentration of 5 g/L, and initial cadmium concentration of 20 mg/L, under which the adsorption rate of cadmium was 59.4%. The adsorption process of lead and cadmium by the strain conformed to the Langmuir model and the pseudo-second-order kinetic model, which indicated surface monolayer adsorption. The results of scanning electron microscopy and infrared spectroscopy demonstrated that the heavy metal ions changed the morphology of the strain, and the hydroxyl, carboxyl, saturated C–H bonds, and amide groups on the cell surface participated in the adsorption. **[Conclusion]** Strain JB16 can adsorb lead and cadmium, which enriches the strain resources and provides data support for the remediation of water and soil contaminated by lead and cadmium. **Keywords:** lead and cadmium tolerant strain; adsorption properties; scanning electron microscopy; infrared spectroscopy

重金属是土壤^[1]、大气^[2]和水域^[3]等环境中主要的污染因素。土壤中的重金属不但导致农作物产量降低,还可以通过食物链危害人类健康^[4-5]。重金属铅和镉具有毒性大、不易降解和环境中滞留时间长等特点^[6]。因此,如何有效治理重金属铅镉污染成为国内外学者的研究热点^[7-8]。土壤重

金属铅镉污染的修复方法包括物理修复、化学修复和生物修复等^[9]。物理化学修复方法易造成二次污染、效率低下和破坏土壤结构等问题^[10-11]。因此,生物修复技术中的微生物吸附法因其成本效益和生态友好的解决方式而备受关注^[12-13]。

早期 Ruchhoft 提出了使用微生物吸附废

水中的 Pu_{239} (钷 239), 从此生物吸附在处理低浓度重金属废水的方面中受到了广泛的研究^[14]。IlyaS 等^[15]分离筛选出了热带假丝酵母 (*Candida tropicalis*), 可以去除介质中 78% 的镉和 87% 的铅。李丽杰等^[16]从重金属污染区的土壤中分离筛选出耐铅菌株异常威客汉姆酵母 (*Wickerhamomyces anomalus*), 耐受浓度可达 6 000 mg/L, 铅去除率可达 91.67%。徐韶足等^[17]研究拉乌尔菌 (*Raoultella* sp.) 对镉的吸附特性, 发现生物吸附过程受溶液 pH、初始重金属浓度和接触时间的影响。Wang 等^[18]筛选出具有较高耐铅能力的平菇 (*Pleurotus ostreatus*), 红外光谱分析表明, 羟基、酰胺、羧基和巯基为铅提供了结合位点。丁翰林^[19]的研究发现黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 细胞表面上有许多的活性羟基、氨基等官能团, 可以发生络合反应, 从而达到吸附富集铀(U)的效果。此外, 一些研究人员发现霉菌和酵母均能够有效地吸附重金属离子^[20], 包括以代谢为目的的主动金属离子吸附和细胞引起的被动吸附和结合^[21]。张旭辉等^[22]初步探究发现, 耐镉细菌无色杆菌属 (*Achromobacter* sp.) 生物量的增加和可溶性多糖的分泌是吸附镉的主要机理, 而假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 吸附镉的主要机理可能是表面吸附以及分泌不可溶性多糖。

本研究从湿地污染土壤中分离鉴定耐铅镉菌株 JB16, 确定了 JB16 的铅镉吸附最佳条件。通过扫描电镜和红外光谱分析探明菌株对铅镉的吸附特性, 为修复重金属铅镉污染提供实验基础和微生物资源。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

本实验菌株从扎龙湿地重金属污染土壤中筛选获得, 马铃薯葡萄糖琼脂 (potato dextrose

agar, PDA) 培养基参照文献^[23]。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株筛选

将样品土壤放入灭菌的蒸馏水中制备土壤菌悬液, 涂布在 Pb^{2+} 和 Cd^{2+} 的 PDA 培养基中, 在恒温培养箱中 30 °C 培养 3–5 d。挑选长势较好的单菌落, 继续增加培养基中铅、镉浓度, 至菌株不再生长为止。分离纯化后的菌株甘油保藏后放入 -80 °C 冰箱中备用。

1.2.2 菌株的形态观察

在 PDA 培养基中观察菌落特征, 包括生长速度、形态、颜色、边缘和表面光滑程度等。

1.2.3 菌株的生理生化试验

菌株的甲基红试验、明胶液化试验、麦芽糖或纤维素利用实验、纤维素水解试验和淀粉水解试验参照文献^[24]。

1.2.4 菌株的分子生物学鉴定

将筛选后的菌株送至上海美吉生物医药科技有限公司进行测序, 内源转录间隔区 (internally transcribed spacer, ITS) 基因 PCR 扩增引物为 ITS1 (SEQ ID NO.2): 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'; ITS4 (SEQ ID NO.3): 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'。扩增程序为: 预变性 95 °C 5 min; 变性 95 °C 30 s, 退火 56 °C 30 s, 延伸 72 °C 90 s, 重复 25 次; 修复延伸 72 °C 10 min, 终止反应 4 °C。将所得序列与 GenBank 中已有的 ITS 序列进行 BLAST 同源性分析并构建进化树。

1.2.5 不同条件下耐铅镉菌株对铅镉吸附能力的研究

本试验在含有 Pb^{2+} 和 Cd^{2+} 的 PDA 培养基中以吸附温度、吸附时间、菌龄、溶液 pH、接种量和铅镉初始浓度为单因素, 确定菌株的最佳吸附条件。设置条件: 吸附温度为 15、20、25、30、35 °C, 吸附时间为 10、20、30、60、120、240、360 min, 菌龄为 18、36、48、72、96 h, 溶液 pH 为 3、4、5、6、7, 湿菌体浓度为 2.5、

5、7.5、10、15 g/L, 铅初始浓度为 50、100、150、200、250 mg/L, 镉初始浓度为 10、20、30、40、50 mg/L, 180 r/min 振荡培养, 吸附后 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液。采用原子吸收分光光度法测定铅镉浓度, 确定最佳吸附条件。吸附率 p 和吸附量 q 的计算方法见参考文献[25]。

1.2.6 等温吸附模型

配制铅浓度为 50、100、150、200、250 mg/L, 镉浓度为 10、20、30、40、50 mg/L, 温度为 30 °C, 自然 pH, 接菌量为 5.0 g/L, 在 150 r/min 下振荡培养至吸附平衡, 离心后测上清中铅镉浓度, 将试验数据进行 Langmuir 和 Freundlich 模型拟合^[26-27]。

1.2.7 吸附动力学

配制铅浓度为 100 mg/L、镉浓度为 20 mg/L 的溶液、在温度为 30 °C、自然 pH、接菌量为 5.0 g/L、150 r/min 的条件下振荡吸附。在时间为 10、20、30、60、120、240、360 min 时, 离心后测上清液铅镉含量, 将实验数据进行吸附动力学模型拟合^[28]。

1.2.8 扫描电镜分析

收集吸附铅镉前后的菌体, 逐级吸取 10、20、30、40 μ L 涂抹在锡纸上, 自然晾干, 2.5%

戊二醛固定 12 h, 分别用 50%、60%、70%、80%、90%和 95%酒精脱水, 每个浓度浸泡 20 min, 晾干后进行扫描电镜观察。

1.2.9 红外光谱分析

收集吸附铅镉前后的菌体, 用无菌水清洗 3 遍, 真空干燥, 用红外光谱仪测定并记录数据, 依据光谱中的特征吸收峰的变化程度, 判断样品中的官能团^[29]。

1.2.10 数据统计

采用 Excel 2021 进行数据处理, GraphPad Prism 9.3.0 进行图表处理和 MEGA 5 构建系统发育树。

2 结果与讨论

2.1 菌种的鉴定

通过平板划线和逐级驯化, 得到 1 株能在铅浓度 1 500 mg/L、镉浓度 750 mg/L, 以及铅镉混合浓度 1 500 mg/L 和 300 mg/L 下生长的菌株。菌株初期呈白色, 表面有小突起, 有细小绒毛, 培养 3 d 时, 直径为 1–2 cm。在光学显微镜(40 倍)和扫描电镜(20.0 kV \times 2.0 K, 20 μ m)下呈椭圆形, 表面较光滑(图 1)。经 ITS 序列鉴定, 该菌株与出芽短梗霉菌(*Aureobasidium pullulans*)相似性较高, 编号为 JB16, GenBank

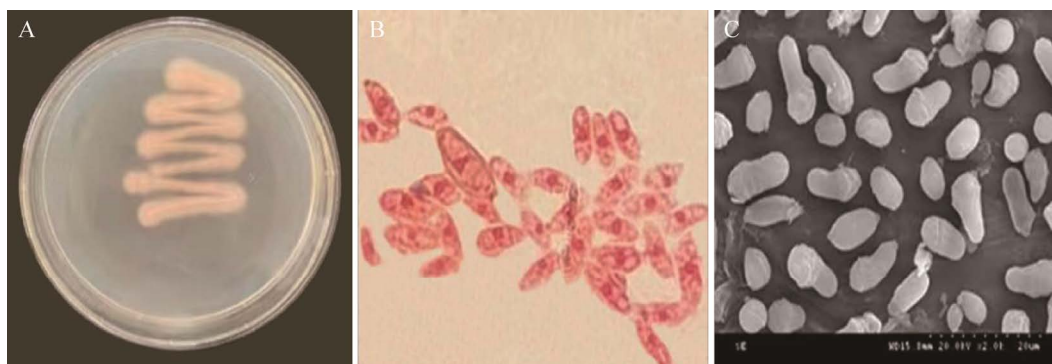


图1 耐铅镉真菌的形态特征

Figure 1 Morphological characteristics of lead and cadmium-tolerant fungi. A: Colony morphology. B: Morphology under the light microscope. C: Morphology under scanning electron microscope.

登录号 MN209899, 可以利用蔗糖、果糖和葡萄糖等碳源^[30]以及硫酸铵和硝酸铵等氮源^[31]。将获得的序列在 NCBI 上进行 BLAST 同源性比对并构建系统发育树(图 2)。菌株的淀粉水解和麦芽糖利用实验结果为阳性, 甲基红、明胶液化、纤维素水解和纤维素利用实验结果为阴性。

2.2 不同条件下耐铅镉菌株对铅镉吸附能力的研究

2.2.1 温度

适当的温度有助于金属离子与菌株相互作用, 而过高的温度会破坏菌株的内部结构和表面吸附位点, 导致吸附率下降^[32]。如图 3A 所示, 随着温度的升高, 菌株 JB16 铅镉吸附率呈先增大后减少的趋势。在温度为 30 °C 时, 吸附率达到最大, 分别为 84.1% 和 59.0%。当温度达到 35 °C 时, 吸附率均有不同程度的下降, 分别为 67.0% 和 36.2%。故菌株吸附铅镉的最佳温度为 30 °C。

2.2.2 时间

吸附时间在生物吸附过程中具有重要意义^[33]。如图 3B 所示, 菌株 JB16 吸附铅镉的吸附率呈先下降后上升, 最后趋向平衡的趋势。在吸附时间 10 min 之内是快速吸附过程, 在 10–30 min 内, 铅镉吸附率逐渐下降, 出现脱附现象。在 30–120 min 内, 铅镉吸附率逐渐上升, 可能是由于前一阶段出现了脱附, 菌体暴露了与镉的结合位点, 使镉又重新与位点结合。在 120 min 后, 菌株吸附铅的吸附率逐渐达到平衡, 可能出现相对较慢的胞内积累^[34], 而镉的吸附率逐渐增加。综上考虑实际操作, 菌株吸附铅镉的最佳时间分别为 2 h 和 1 h。

2.2.3 菌龄

如图 3C 所示, 随着菌株 JB16 菌龄的增加, 铅吸附率先增加后减少。培养 72 h 后所得的菌体吸附铅的效果最好, 铅吸附率达到了 84.5%。而镉吸附率呈逐渐增加的趋势, 菌龄为 96 h 的镉吸附率最大, 为 38.8%。说明菌体细胞表面的

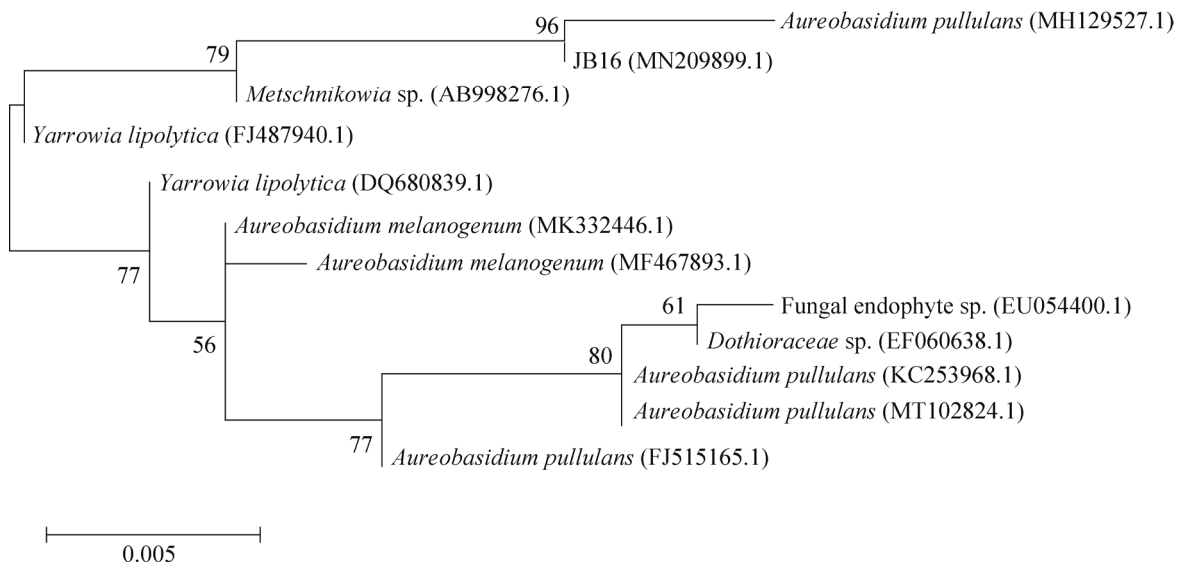


图2 菌株JB16的系统发育树

Figure 2 The phylogenetic tree of strain JB16. Numbers at each branch point indicated the percentage supported by bootstrap values based on 1 000 replications. The numbers of GenBank were shown in parentheses. Bar 0.005 at the bottom is the sequence divergence.

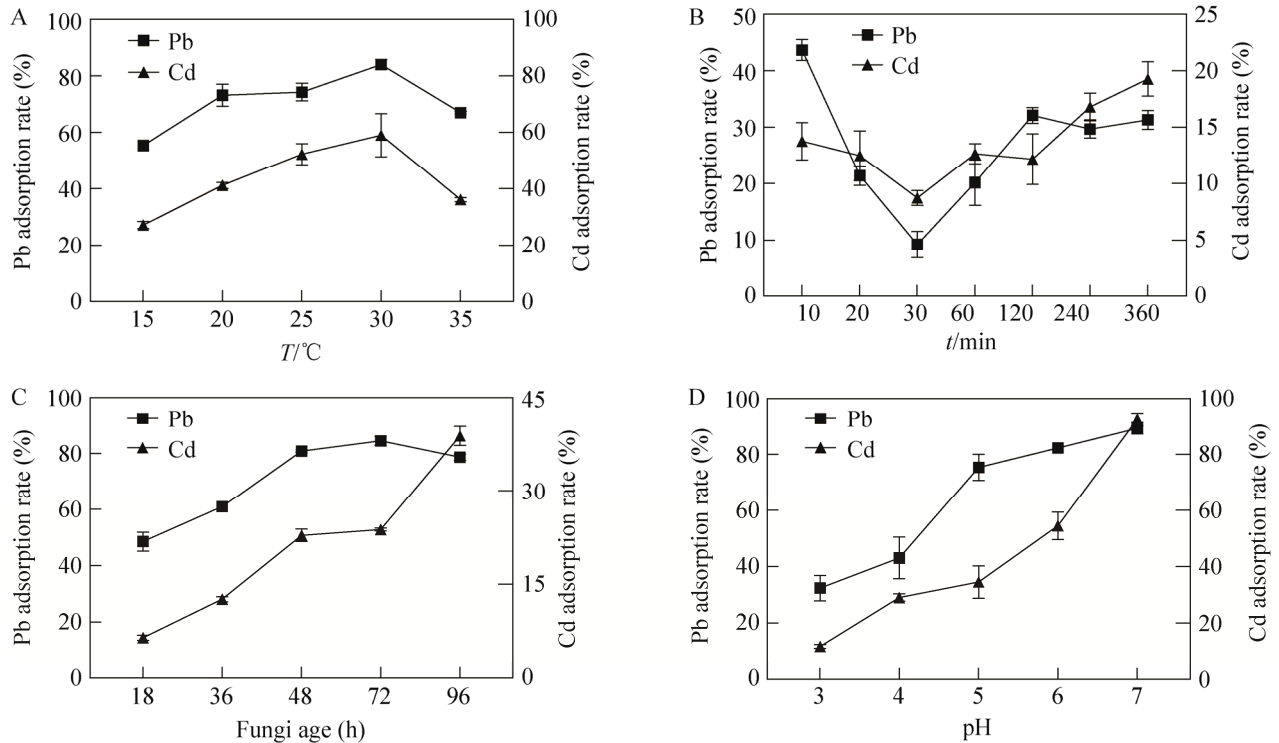


图3 温度、时间、菌龄和 pH 对菌株吸附铅镉的影响

Figure 3 Effects of temperature, time, bacterial age and pH on the adsorption of lead and cadmium by strains. A: Effect of temperature on the adsorption of lead and cadmium by the strain. B: Effect of time on the adsorption of lead and cadmium by the strain. C: Effect of fungi age on the adsorption of lead and cadmium by the strain. D: Effect of pH on the adsorption of lead and cadmium by the strain. Shown are arithmetic means and standard deviations from three independent experiments conducted in triplicate.

某些成分与含量随菌株的生长而变化。陈志英等^[35]发现不同时期恶臭假单胞菌的细胞壁膜中磷脂和脂多糖的含量随菌龄而变化,从而影响了菌株吸附铜离子的能力。综上所述,菌株吸附铅的最佳菌龄为 72 h,菌株吸附镉的最佳菌龄为 96 h。

2.2.4 pH

菌株 JB16 在吸附铅镉的过程中, pH 的变化会影响溶液中重金属离子与吸附剂的结合及吸附剂表面的电荷和表面官能团^[36]。如图 3D 所示,菌体吸附铅镉的吸附率随着 pH 的增加而增加。在 pH 为 3 时,菌体表面的吸附活性位点被 H_3O^+ 占据,影响离子交换作用^[37]。当 pH 在 5–7 的范围时,铅镉吸附率逐渐缓慢地增

加。在 pH 为 7 时,虽然铅镉吸附率均达到最大,但是可能由于反应溶液体系中 OH^- 过多,形成 $Pb(OH)_2$ 和 $Cd(OH)_2$ 沉淀,进而影响吸附率。综上所述,菌株吸附铅镉的最佳 pH 均为 6。

2.2.5 湿菌体浓度

从图 4 可知,随着菌株 JB16 浓度的增加,铅吸附率变化不明显,铅吸附量逐渐减少。在湿菌体浓度为 2.5 g/L 时,吸附量为 19.6 mg/g,吸附率为 81.7%,与其他湿菌体浓度下的吸附量相比差异显著,但吸附率较低。镉吸附率随着湿菌体浓度的增加而增加,而镉吸附量逐渐减少。在湿菌体浓度为 2.5 g/L 和 5.0 g/L 时,吸附量差异不显著,但吸附率变化幅度达到 1.9 倍。在湿菌体浓度为 15.0 g/L 时,吸附量降

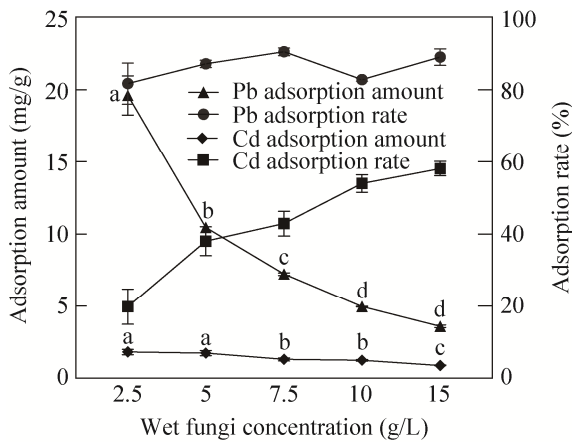


图 4 不同湿菌体浓度对菌株吸附铅镉的影响
 Figure 4 Effect of different wet fungi concentration on lead and cadmium adsorption of strains. Shown are arithmetic means and standard deviations from three independent experiments conducted in triplicate. Different letters represent significant difference, $P < 0.05$.

低到 0.9 mg/g, 与其他湿菌体浓度下的吸附量相比差异显著。当接菌量增加时, 菌体表面与镉离子结合的活性位点增加, 吸附率增加, 但当接菌量过大时, 菌体易聚集, 菌体表面的活性位点无法充分利用, 从而吸附量降低^[38]。最后, 综合实际利用考虑, 选择 5 g/L 的湿菌体浓度吸附铅镉。

2.2.6 铅镉离子浓度

如图 5 所示, 随铅镉浓度的增加, JB16 吸附铅镉的吸附率先增加后减少。铅离子浓度 150 mg/L 时吸附率最高, 达到 87.5%。当铅离子浓度在 150–250 mg/L 时, 吸附率逐渐降低, 在镉浓度为 20 mg/L 时镉吸附率最大, 为 59.8%。Rizvi 等^[39]发现菌株在某些重金属的高浓度胁迫下也能持续去除, 但随着重金属浓度的增加, 生物吸附重金属能力下降。铅镉浓度较高时, 铅镉离子会破坏菌体的表面活性位点和内部结构, 也可能是菌体表面的结合位点数目不变, 多余的铅镉离子无法与位点结合^[40]。故在铅初

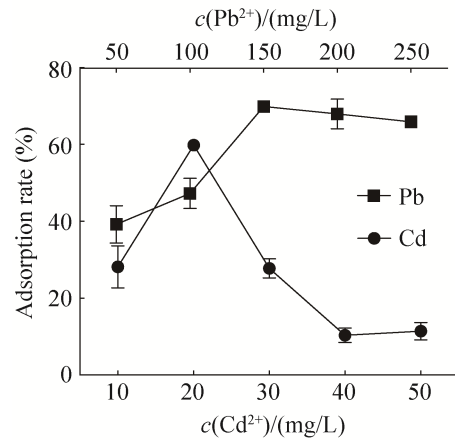


图 5 不同镉离子浓度对菌株吸附铅镉的影响
 Figure 5 Effect of different Cd^{2+} concentration on lead and cadmium adsorption of strains. Shown are arithmetic means and standard deviations from three independent experiments conducted in triplicate.

始浓度为 150 mg/L, 镉初始浓度为 20 mg/L 时吸附效果最佳。

2.3 等温吸附方程分析

如图 6、7 所示, JB16 吸附铅镉 Langmuir 等温吸附模型拟合的相关系数 R^2 分别为 0.867 6、0.979 5, 拟合度高; JB16 吸附铅镉 Freundlich 等温吸附模型拟合的相关系数 R^2 分别为 0.239 4、0.007 4, 拟合度差。因此 JB16 吸附铅镉的过程均符合 Langmuir 等温吸附模型, 说明 JB16 吸附铅镉是单分子层吸附, 与 Tu 等^[41]研究真菌 NT-1 的结果一致。

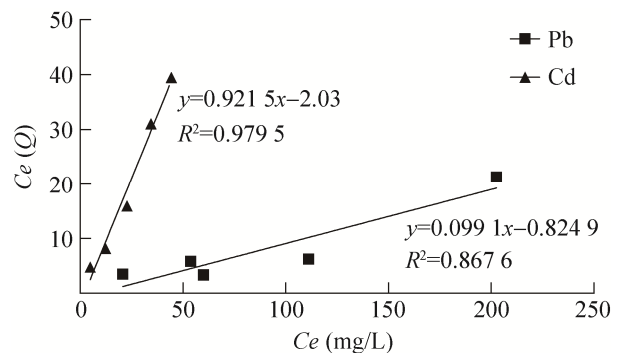


图 6 Langmuir 吸附模型
 Figure 6 Langmuir adsorption model.

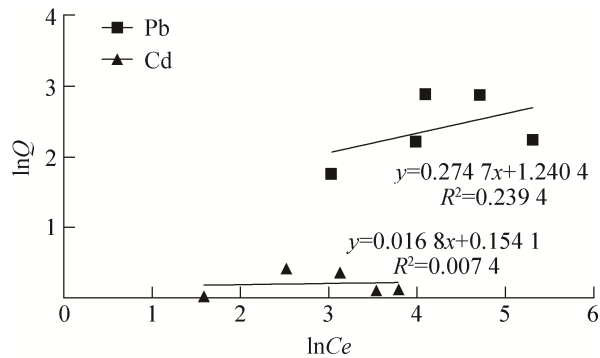


图7 Freundlich 吸附模型

Figure 7 Freundlich adsorption model.

2.4 吸附动力学分析

从图8观察可知,菌株JB16吸附铅镉拟合方程的相关系数 R^2 分别为0.9590、0.9665,拟合度较高。理论最大吸附量分别为6.739 mg/g、0.789 mg/g,与实际值6.422 mg/g、0.771 mg/g相接近。因此准二级动力学模型可以较好描述菌株吸附铅镉的吸附过程,存在差值可能与胞内吸附方式有关^[42]。

2.5 扫描电镜分析

图9为不同铅镉浓度下菌株JB16的扫描电镜图。A为无铅镉浓度培养,细胞呈卵圆形,轮廓较为清晰,细胞表面光滑,无颗粒,细胞相互没有粘连。B为100 mg/L铅处理后图像,与A相比,部分菌体出现凹陷,发生变形,有褶皱产生,细胞之间有轻微连接。可能铅浓

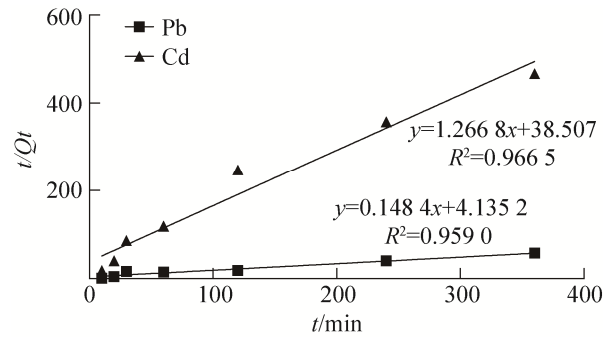


图8 JB16的准二级吸附动力学模型

Figure 8 Pseudo-second-order fitting plots of JB16.

度低,吸附铅后的细胞与对照相比差别不大,但是部分细胞出现了以上明显特征。C为20 mg/L镉处理后图像,与A和B相比,细胞严重变形,边缘模糊,表面凹凸不平且破裂,细胞内一些水溶性物质流出,细胞之间出现了粘连现象,几乎没有完整形状的细胞。可能是菌株JB16向胞外分泌某种有机物并与金属离子结合形成沉淀的结果^[43]。

2.6 红外光谱分析

通过红外光谱分析,菌株JB16吸附铅镉前后的红外光谱图在峰型上基本保持一致,没有出现明显的新峰,表明吸附过程中铅镉并未对菌体细胞壁造成破坏(图10)。菌株JB16吸附铅镉主要利用细胞表面的羟基、羧基、饱和C-H

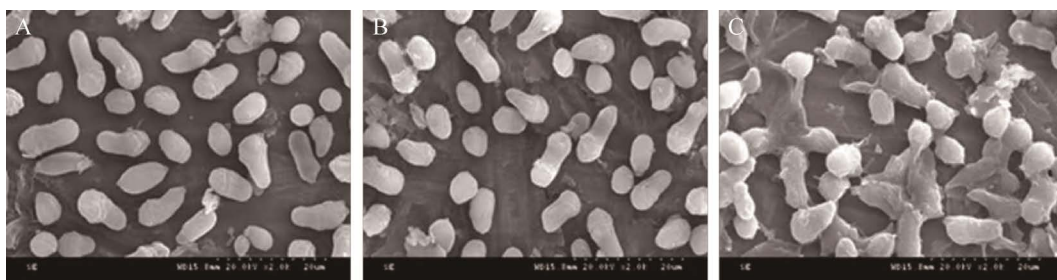


图9 不同铅镉浓度下菌株JB16的扫描电镜图

Figure 9 Scanning electron microscopy of strain JB16 under different lead and cadmium concentrations. A: Untreated. B: After lead treatment (100 mg/L). C: After cadmium treatment (20 mg/L).

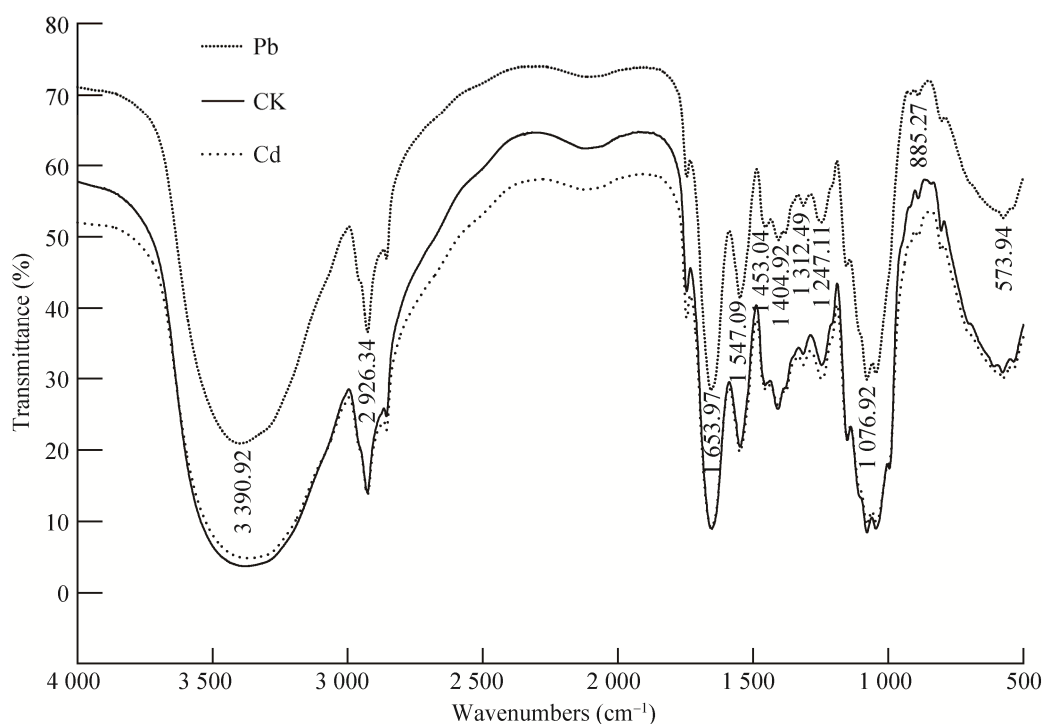


图 10 JB16 吸附铅镉前后的红外光谱图

Figure 10 Infrared spectra of JB16 before and after lead and cadmium adsorption. CK: Untreated; Pb: After lead treatment (100 mg/L); Cd: After cadmium treatment (20 mg/L).

键、酰胺基等基团^[44]。这些官能团与铅镉相互作用，与存在于细胞表面的多糖和蛋白质相关^[45]。Wang 等^[46]研究傅里叶变换红外光谱(fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)发现 GQ-9 细胞壁上的羟基、羧基、氨基、腈基和巯基以及酰胺 I、酰胺 II 带参与铅离子的络合。通过对高铅镉耐受性的西地西菌(*Cedecea* sp.) FTIR 分析表明，生物吸附过程主要发生在细胞上，并且细胞表面的活性物质可以螯合铅镉离子^[47]。Choinska-Pulit 等^[48]从重金属污染的土壤和水体中筛选出产氮假单胞(*P. azotoformans*)，分析发现细胞-金属离子可能存在相互作用，存在聚合集团可能是金属离子键合的原因，金属的积累可能发生在细胞表面。Jin 等^[20]研究一株耐铅镉的真菌 QD10 时发现，该菌株吸附镉归因于细胞表面形成与镉的螯合物，而铅主要被胞外

聚合物吸附。这也进一步证明，菌株 JB16 对铅镉的富集过程为表面吸附。

3 结论

本研究分离筛选的抗性菌株 JB16，其最大耐铅性达 1 500 mg/L，最大耐镉性达 750 mg/L，铅镉混合浓度达 1 500 mg/L 和 300 mg/L。JB16 的最佳铅吸附条件为温度 30 °C、吸附时间 2 h、菌龄 72 h、pH 6、湿菌体浓度 5 g/L 和初始铅浓度 150 mg/L，JB16 对铅的吸附率为 88.5%。菌株 JB16 的最佳镉吸附条件为温度 30 °C、吸附时间 1 h、菌龄 96 h、pH 6、湿菌体浓度 5 g/L 和初始镉浓度 20 mg/L，JB16 对镉的吸附率为 59.4%。通过扫描电镜观察，JB16 吸附铅镉后均出现凹陷变形，有褶皱产生，铅镉对 JB16 细胞有毒害作用，而吸附镉

后出现部分水溶性物质流出, 镉对 JB16 细胞的毒害作用比铅对 JB16 的毒害作用强。JB16 吸附铅镉的过程符合 Langmuir 等温吸附模型, 以单层吸附为主, 通过红外光谱进一步证明是表面吸附。

通过对分离筛选出的耐铅镉菌株进行吸附特性及吸附机理研究, JB16 对铅镉有较好的吸附效果, 可为微生物修复重金属污染的土壤和水体提供帮助, 但在实际应用中还需进一步研究。

参考文献

- [1] MEHARG AA, MEHARG C. The pedosphere as a sink, source, and record of anthropogenic and natural arsenic atmospheric deposition[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(12): 7757-7769.
- [2] REN YX, LUO Q, ZHUO SJ, HU YA, SHEN GF, CHENG HF, TAO S. Bioaccessibility and public health risk of heavy Metal(loid)s in the airborne particulate matter of four cities in Northern China[J]. *Chemosphere*, 2021, 277: 130312.
- [3] SIMMATIS B, RÜHLAND KM, EVANS M, MEYER-JACOB C, KIRK J, MUIR DCG, SMOL JP. Metal contamination in alkaline Phantom Lake (Flin Flon, Manitoba, Canada) generates strong responses in multiple paleolimnological proxies[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 811: 152299.
- [4] MITRA S, CHAKRABORTY AJ, TAREQ AM, EMRAN TB, NAINU F, Khusro A, Idris AM, Khandaker MU, Osman H, Alhumaydhi FA, Simal-Gandara J. Impact of heavy metals on the environment and human health: novel therapeutic insights to counter the toxicity[J]. *Journal of King Saud University - Science*, 2022, 34(3): 101865.
- [5] QIN GW, NIU ZD, YU JD, LI ZH, MA JY, XIANG P. Soil heavy metal pollution and food safety in China: effects, sources and removing technology[J]. *Chemosphere*, 2021, 267: 129205.
- [6] LI CF, ZHOU KH, QIN WQ, TIAN CJ, QI M, YAN XM, HAN WB. A review on heavy metals contamination in soil: effects, sources, and remediation techniques[J]. *Soil and Sediment Contamination: an International Journal*, 2019, 28(4): 380-394.
- [7] HOU DY, O'CONNOR D, IGALAVITHANA AD, ALESSI DS, LUO J, TSANG DCW, SPARKS DL, YAMAUCHI Y, RINKLEBE J, OK YS. Metal contamination and bioremediation of agricultural soils for food safety and sustainability[J]. *Nature Reviews Earth & Environment*, 2020, 1(7): 366-381.
- [8] RAJENDRAN S, PRIYA TAK, KHOO KS, HOANG TKA, NG HS, MUNAWAROH HSH, KARAMAN C, OROOJI Y, SHOW PL. A critical review on various remediation approaches for heavy metal contaminants removal from contaminated soils[J]. *Chemosphere*, 2022, 287: 132369.
- [9] 张力, 袁婷婷, 汪溪远, 吴维, 马玉. 生物表面活性剂修复重金属污染土壤的研究进展[J]. *新疆大学学报(自然科学版)*, 2019, 36(2): 198-202.
ZHANG L, Yuan TT, Wang XY, Wu W, Ma Y. Research progress on biosurfactants for repairing heavy metal contaminated soil[J]. *Journal of Xinjiang University: Natural Science Edition*, 2019, 36(2): 198-202 (in Chinese).
- [10] 武越. 土壤重金属污染修复技术的研究进展[J]. *化工管理*, 2020(31): 51-52.
WU Y. Research progress of remediation technology of heavy metal pollution in soil[J]. *Chemical Enterprise Management*, 2020(31): 51-52 (in Chinese).
- [11] WUANA RA, OKIEIMEN FE. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation[J]. *ISRN Ecology*, 2011, 2011: 1-20.
- [12] TAYANG A, SONGACHAN LS. Microbial bioremediation of heavy metals[J]. *Current Science*, 2021, 120(6): 1013.
- [13] RAHMAN Z, SINGH VP. Bioremediation of toxic heavy metals (THMs) contaminated sites: Concepts, applications and challenges[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(22): 27563-27581.
- [14] 尹敬群, 田君. 微生物吸附金属离子研究与发展[J]. *生物化工*, 2016, 2(1): 65-68.
YIN JQ, TIAN J. Research and development on biosorption of metal ions[J]. *Biological Chemical Engineering*, 2016, 2(1): 65-68 (in Chinese).
- [15] Ilyas S, Rehman A, Ilyas Q. Heavy metals induced oxidative stress in multi-metal tolerant yeast, *Candida* sp. PS33 and its capability to uptake heavy metals from wastewater[J]. *Pakistan Journal of Zoology*, 2017,

- 49(3): 769-775.
- [16] 李丽杰, 贺银凤. 高吸附 Pb^{2+} 的异常威客汉姆酵母 QF-1-1 吸附 Pb^{2+} 特性及机理[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 152-158.
LI LJ, HE YF. Adsorption characteristics and mechanism of Pb^{2+} by *Wickerhamomyces anomalous* QF-1-1, with high Pb^{2+} adsorption capacity[J]. Food Science, 2020, 41(10): 152-158 (in Chinese).
- [17] 徐韶足, 王瑶, 毕文龙, 周珺, 陈雯莉. 一种改性微生物吸附剂的制备及其对镉离子的吸附特性[J]. 环境科学学报, 2021, 41(4): 1342-1350.
XU SZ, WANG Y, BI WL, ZHOU J, CHEN WL. Preparation of a modified microbial adsorbent and its adsorption characteristics for Cd^{2+} [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2021, 41(4): 1342-1350 (in Chinese).
- [18] WANG YJ, YI BZ, SUN XW, YU L, WU LH, LIU WX, WANG DC, LI YL, JIA R, YU H, LI XZ. Removal and tolerance mechanism of Pb by a filamentous fungus: a case study[J]. Chemosphere, 2019, 225: 200-208.
- [19] 丁翰林. 真菌黑曲霉(*Aspergillus niger*)对 U(VI)的吸附富集与机理研究[D]. 绵阳: 西南科技大学硕士学位论文, 2019.
DING HL. Study on adsorption and enrichment mechanism of U(VI) by *Aspergillus niger*[D]. Mianyang: Master's Thesis of Southwest University of Science and Technology, 2019 (in Chinese)
- [20] JIN ZM, DENG SQ, WEN YC, JIN YF, PAN L, ZHANG YF, BLACK T, JONES KC, ZHANG H, ZHANG DY. Application of *Simplicillium chinense* for Cd and Pb biosorption and enhancing heavy metal phytoremediation of soils[J]. The Science of the Total Environment, 2019, 697: 134148.
- [21] 姜敏. 啤酒酵母和胶质芽孢杆菌对 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 吸附特性及机理的研究[D]. 沈阳: 东北大学硕士学位论文, 2009.
JIANG M. Study on biosorption characteristics and mechanism of Cd^{2+} , Zn^{2+} by *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus glial*[D]. Shenyang: Master's Thesis of Northeastern University, 2009 (in Chinese)
- [22] 张旭辉, 孙斌, 魏志敏, 赵晨雨, 徐源洲, 张力浩, 徐莉. 2 株耐镉微生物的筛选及其对镉的吸附钝化差异机制[J]. 南京农业大学学报, 2019, 42(5): 869-876.
ZHANG XH, SUN B, WEI ZM, ZHAO CY, XU YZ, ZHANG LH, XU L. Screening of two cadmium tolerant microorganisms and their differences in adsorption and immobilization of cadmium[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2019, 42(5): 869-876 (in Chinese).
- [23] 李丹. 耐铅、镉真菌的筛选鉴定及促进芦苇修复污染土壤的效果分析[D]. 齐齐哈尔: 齐齐哈尔大学硕士学位论文, 2016.
LI D. Isolation of lead-and cadmium-resistant fungus and analysis the effects in promoting the remediation of contaminated soil with *Phragmites australis*[D]. Qiqihaer: Master's Thesis of Qiqihar University, 2016 (in Chinese)
- [24] 杜连祥, 路福平. 微生物学实验技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
DU LX, LU FP. Microbiology Experimental Technology[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2005 (in Chinese).
- [25] 解琳, 郝宇, 齐欣, 刘本松, 温昱晨, 刘丽杰, 杨晓杰, 金忠民. 一株耐铅镉真菌的分离鉴定及其吸附特性的研究[J]. 微生物学报, 2020, 60(4): 780-788.
XIE L, HAO Y, QI X, LIU BS, WEN YC, LIU LJ, YANG XJ, JIN ZM. Isolation, identification and biosorption characteristics of a lead and cadmium resistant fungus[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(4): 780-788 (in Chinese).
- [26] 车驰, 张秀芳, 赵兴敏, 李明堂. 拉恩氏菌 LRP3 对 Cu^{2+} 的吸附特征[J]. 吉林农业大学学报, 2022, 44(3): 352-358.
CHE C, ZHANG XF, ZHAO XM, LI MT. Adsorption characteristics of Cu^{2+} by *Rahnella* sp. LRP3[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2022, 44(3): 352-358 (in Chinese).
- [27] 江澜, 闵燕, 叶便达, 贾朝刚, 李越, 陈浩然, 常海军. 利用潜在生物吸附剂从水体系统中去除有毒重金属[J]. 应用化工, 2021, 50(1): 194-199, 203.
JIANG L, MIN Y, YE BD, JIA CG, LI Y, CHEN HR, CHANG HJ. Elimination of toxic heavy metals from aqueous systems using potential biosorbents[J]. Applied Chemical Industry, 2021, 50(1): 194-199, 203 (in Chinese).
- [28] 甘雨. 乳杆菌吸附重金属镉的特性分析[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2020.
GAN Y. Characteristic analysis of *Lactobacillus* adsorbing cadmium[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2020 (in Chinese)
- [29] 袁梦, 沈宗泽, 封磊, 宋萍, 韩晓刚, 游凯, 苏丹, 李航. 一株耐锌细菌 *Sphingobacterium caeni* S3 的 Zn^{2+} 吸附特征[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),

- 2019, 48(5): 656-663.
- YUAN M, SHEN ZZ, FENG L, SONG P, HAN XG, YOU K, SU D, LI H. Zinc adsorption characteristics of a zinc-resistant bacterium *Sphingobacterium caeni* S3[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition*, 2019, 48(5): 656-663 (in Chinese).
- [30] 章雨卉, 吕磊磊, 陈林杰, 魏培莲. 培养基成分和培养条件对出芽短梗霉 ZUST-I13 产聚苹果酸的影响[J]. *发酵科技通讯*, 2020, 49(1): 7-10.
- ZHANG YH, LYU LL, CHEN LJ, WEI PL. Effects of medium ingredients and culture conditions on the production of poly-malic acid by *Aureobasidium pullulans* ZUST-I13[J]. *Bulletin of Fermentation Science and Technology*, 2020, 49(1): 7-10 (in Chinese).
- [31] WEI PL, CHENG C, LIN M, ZHOU YP, YANG ST. Production of poly(malic acid) from sugarcane juice in fermentation by *Aureobasidium pullulans*: kinetics and process economics[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 224: 581-589.
- [32] REN YY, ZHU ZY, DONG FY, SONG QY. Screening, characteristics and mechanism of Cd-tolerance *Cunninghamella bertholletiae*[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 191: 480-489.
- [33] PUGAZHENDHI A, RANGANATHAN K, KALIANNAN T. Biosorptive removal of copper(II) by *Bacillus cereus* isolated from contaminated soil of electroplating industry in India[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2018, 229(3): 76.
- [34] 赵晓峰. 耐铅乳酸菌分离鉴定、吸附特性及机理的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学博士学位论文, 2019.
- ZHAO XF. Study on isolation, identification, adsorption characteristics and mechanism of lead-resistant lactic acid bacteria[D]. Hohhot: Doctoral Dissertation of Inner Mongolia Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [35] 陈志英, 王磊, 周琪. 菌龄对恶臭假单胞菌吸附铜离子能力的影响[J]. *中国环境科学*, 2006, 26(S1): 97-101.
- CHEN ZY, WANG L, ZHOU Q. Studies on the Cu²⁺ adsorption capacity of *Pseudomonas putida* 5-x membranes with different cell ages[J]. *China Environmental Science*, 2006, 26(S1): 97-101 (in Chinese).
- [36] 李新琦, 温沁雪, 王琼, 王进, 陈志强. 处理电镀废水的耐铜功能菌的筛选及吸附性能[J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2016, 48(8): 108-114.
- LI XQ, WEN QX, WANG Q, WANG J, CHEN ZQ. Isolation of Cu²⁺ tolerant bacteria used in electroplating wastewater treatment and their biosorption performance[J]. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2016, 48(8): 108-114 (in Chinese).
- [37] 周赓, 杨辉, 潘虎, 王翀, 付复华, 卢向阳, 田云. 一株耐镉链霉菌的筛选、鉴定与基本特性分析[J]. *环境科学学报*, 2017, 37(6): 2076-2084.
- ZHOU G, YANG H, PAN H, WANG C, FU FH, LU XY, TIAN Y. Isolation, identification and characteristics of a cadmium tolerant *Streptomyces* strain[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37(6): 2076-2084 (in Chinese).
- [38] HALTTUNEN T, COLLADO MC, EL-NEZAMI H, MERILUOTO J, SALMINEN S. Combining strains of lactic acid bacteria may reduce their toxin and heavy metal removal efficiency from aqueous solution[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2008, 46(2): 160-165.
- [39] RIZVI A, AHMED B, ZAIDI A, KHAN MS. Biosorption of heavy metals by dry biomass of metal tolerant bacterial biosorbents: an efficient metal clean-up strategy[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2020, 192(12): 801.
- [40] 余雪梅. 耐镉芽孢杆菌对 Cd²⁺的吸附特性及其机理研究[D]. 成都: 成都理工大学硕士学位论文, 2019.
- YU XM. Characterization and mechanism of Cd²⁺ adsorption by cadmium-tolerant *Bacillus* sp. strain PFYN₀₁[D]. Chengdu: Master's Thesis of Chengdu University of Technology, 2019 (in Chinese).
- [41] TU C, LIU Y, WEI J, LI LZ, SCHECKEL KG, LUO YM. Characterization and mechanism of copper biosorption by a highly copper-resistant fungal strain isolated from copper-polluted acidic orchard soil[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(25): 24965-24974.
- [42] 任志彤. *Penicillium* sp. PC1 去除重金属铅镉的研究[D]. 北京: 中国地质大学(北京)硕士学位论文, 2021.
- REN ZT. Study on removal of heavy metal lead and cadmium by *Penicillium* sp. PC1[D]. Beijing: Master's Thesis of China University of Geosciences, 2021 (in Chinese).
- [43] 燕传明. 重金属抗性细菌对水体中铅镉的吸附特性和机理研究[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文,

- 2018.
- Yan CM. The adsorption characteristics of lead and cadmium by two heavy metal resistant bacteria strains and their mechanism in aqueous solutions[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2018 (in Chinese)
- [44] 罗鹏林, 张然然, 师莉升, 郑进, 康薇. 黑曲霉菌株 TLSF₂ 对水中 Cu、Cd 的吸附机理探讨[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(13): 2429-2433, 2579.
- LUO PL, ZHANG RR, SHI LS, ZHENG J, KANG W. Discussion on the absorption mechanism of *Aspergillus niger* TLSF₂ strain to copper and cadmium in water[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2017, 56(13): 2429-2433, 2579 (in Chinese).
- [45] RAHMAN Z, THOMAS L, SINGH VP. Biosorption of heavy metals by a lead (Pb) resistant bacterium, *Staphylococcus hominis* strain AMB-2[J]. Journal of Basic Microbiology, 2019, 59(5): 477-486.
- [46] WANG TQ, YAO J, YUAN ZM, ZHAO Y, WANG F, CHEN HL. Isolation of lead-resistant *Arthrobacter* strain GQ-9 and its biosorption mechanism[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25(4): 3527-3538.
- [47] 王建才, 刘兴华, 王怀中, 呼红梅, 庞丽丽, 黄保华, 朱荣生. 耐铅镉菌株的分离鉴定及其吸附能力[J]. 生物工程学报, 2020, 36(8): 1600-1609.
- WANG JC, LIU XH, WANG HZ, HU HM, PANG LL, HUANG BH, ZHU RS. Isolation, identification and heavy metals biosorption of a lead and cadmium-tolerant strain[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(8): 1600-1609 (in Chinese).
- [48] CHOIŃSKA-PULIT A, SOBOLCZYK-BEDNAREK J, ŁABA W. Optimization of copper, lead and cadmium biosorption onto newly isolated bacterium using a Box-Behnken design[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 149: 275-283.