

余雪梅,彭书明,王洪婷,等.耐镉芽孢杆菌对 Cd^{2+} 的吸附机制[J].江苏农业科学,2019,47(20):293-297.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.20.065

耐镉芽孢杆菌对 Cd^{2+} 的吸附机制

余雪梅,彭书明,王洪婷,伏媛,李璟,张山

(成都理工大学环境学院/国家环境保护水土污染协同控制与联合修复重点实验室,四川成都 611059)

摘要:从攀枝花矿区淤泥样品中通过逐级提高 Cd^{2+} 浓度进行驯化,获得 1 株高耐镉菌株 PFYN01,经 16S rDNA PCR 鉴定为芽孢杆菌(*Bacillus* sp.),最大耐 Cd^{2+} 浓度为 3 900 mg/L。研究初始 Cd^{2+} 浓度、pH 值、菌量对菌株吸附 Cd^{2+} 的影响,利用扫描电镜(SEM)和傅叶里红外光谱(FIR)探究菌株吸附机制。结果表明,PFYN01 在初始 Cd^{2+} 浓度为 75 mg/L、菌量为 1.0 g/L、pH 值为 5.0 时,对 Cd^{2+} 的吸附率达到 34.98%;吸附符合 Langmuir 模型,最大吸附量为 1.974 mg/g。对比分析 Cd^{2+} 吸附前后的细胞形态和红外光谱变化,证实了“细胞成分羟基(O—H)、酰胺基(N—H)、羟基(C—H)、羧基(C=O)、羰基(—COOH)参与了 Cd^{2+} 与 PFYN01 的相互作用”的结论。PFYN01 是一株对 Cd^{2+} 有较强吸附能力的细菌菌株,对其吸附 Cd^{2+} 影响因素及吸附机制研究的结果将为重金属污染微生物修复提供指导。

关键词:镉污染;耐镉细菌;驯化;生物吸附;吸附机理

中图分类号:X703.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)20-0293-05

随着工业的发展,尤其是采矿、冶炼、工业活动的大肆开展,越来越多重金属通过不同途径进入到土壤或水体环境中,对生态环境和人体健康产生严重威胁^[1-2]。镉是一种毒性很强的重金属,可降低酶活性,引起 DNA 断裂、细胞氧化损伤^[3-4]。由于镉具有难迁移、难降解和生物累积等特点,如何有效治理重金属镉污染问题已成为目前国内外研究热点之一^[5-6]。

微生物是生态系统中营养物质循环的关键,尤其可以在各种极端的 pH 值、温度甚至有毒金属条件下生存和生长,部分微生物群已对重金属形成了一定的耐性和抗性。研究表明,从市政废水中分离出能够耐受 1 000 mg/L Cd^{2+} 的芽孢杆菌,并对其他重金属 Cr^{6+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 也有一定抗性^[7];从韩

国重金属污染土壤中分离出 1 株能够耐镉浓度为 200 mg/L 的芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)菌株,该菌株也对其他单一重金属 Pb、Cu、Ni、Mn、Cr、Co、Zn 和混合重金属有较高的吸附性^[8]。通过 UV 照射获得枯草芽孢杆菌的突变种,该菌株能够耐受的镉浓度为 337.23 mg/L,对其他重金属 Cr、Hg、Pb 的耐受浓度分别为 208、100、932.4 mg/L,而野生型枯草芽孢杆菌只能耐受的镉浓度为 28 mg/L^[9]。从重金属镉污染土壤中筛选出 1 株能在镉浓度为 200 mg/L 的固体培养基上生长的蜡状芽孢杆菌,具有较高的抗性能力^[10]。然而,这些报道的芽孢杆菌属对 Cd^{2+} 耐受和抗性浓度主要集中在 1 000 mg/L 以下,而对其他有较高耐受的芽孢杆菌属的报道较少。

考虑到从矿堆的淤泥中筛选的微生物有很高的耐受性,可能存在多重吸附机制以及许多微生物能够同时降解或吸附多种污染物,有助于高效降低矿堆重金属浓度^[11-12]。因此,本研究从渣场堆淤泥中分离出 1 株高耐镉细菌菌株,研究影响菌株吸附 Cd^{2+} 的最佳条件,通过扫描电镜观察 Cd^{2+} 在吸附过程中微观形貌的变化,利用红外光谱,通过官能团吸收峰值的变化和位移,分析 Cd^{2+} 存在时细胞壁表面化学基团的变化情况,以期对 Cd^{2+} 的吸附行为有一个更加清晰的认识。本研究可为寻找具有高选择性和高吸附能力的吸附剂提供理论依据,为微生物在镉污染治理中的应用奠定基础。

收稿日期:2018-07-10

基金项目:四川省科技计划(编号:2017SZ0185);科技部国际科技合作计划(编号:2013DFA21690);国家自然科学基金面上项目(编号:3137070605)。

作者简介:余雪梅(1991—),女,四川成都人,硕士研究生,研究方向为矿山环境生态治理。E-mail:644483798@qq.com。

通信作者:彭书明,博士,副教授,研究方向为水土介质污染恢复与治理、退化生态系统恢复与治理研究。E-mail:pengshuming06@cdut.cn。

[15]邵一希,李满春,陈振杰,等.地理加权回归在区域土地利用格局模拟中的应用—以常州市孟河镇为例[J].地理科学,2010,30(1):92-97.

[16]Verburg P H,Soepboer W,Veldkamp A,et al. Modeling the spatial dynamics of regional land use: the CLUE - S model [J]. Environmental Management,2002,30(3):391-405.

[17]王丽艳,张学儒,张华,等. CLUE - S 模型原理与结构及其应用进展[J].地理与地理信息科学,2010,26(3):73-77.

[18]许小亮,李鑫,肖长江,等.基于 CLUE - S 模型的不同情景下

区域土地利用布局优化[J].生态学报,2016,36(17):5401-5410.

[19]杨俊,张永恒,葛全胜,等.基于 GA - MCE 算法的不规则邻域 CA 土地利用模拟[J].地理研究,2016,35(7):1288-1300.

[20]Ord K,Getis A. Local spatial autocorrelation statistics:distributional issues and an application[J]. Geographical Analysis,2010,27(4):286-306.

[21]Cohen J A. A coefficient of agreement for nominal scales[J]. Educational & Psychological Measurement,1960,20(1):37-46.

1 材料与方法

1.1 试验材料

以四川攀枝花巴关河西渣场堆渣区旁池塘淤泥为试验样品,随机选取3个样方,每个样方面积约1 m²。在每个样方中随机采集适量淤泥,淤泥样品采集完后立即密封保存,储存于实验室4℃冰箱。

LB 液体培养基:蛋白胨 10 g,酵母浸膏粉 5 g,NaCl 10 g,加纯水至 1 L,pH 值调至 5.5~5.7,121℃高压灭菌 20 min。LB 固体培养基须要另加入 1.5% 琼脂,121℃高压灭菌 20 min。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株驯化 从攀枝花矿渣淤泥样品中吸取 2 mL 上清液加入到 50 mL 液体培养基中,对耐受性菌种进行分离纯化。将筛选出的菌株接种至液体培养基上,置于 30℃、120 r/min 恒温摇床上培养;5 d 后吸取 0.5~2 mL 培养物在新配制的液体培养基中接种,恒温摇床培养继续 5 d,记录其生长曲线。

1.2.2 菌株抗镉能力 重复“1.2.1”节接种驯化 3~4 次,对驯化后的菌液采用稀释涂布平板法,取菌液并稀释成 10⁻³ 和 10⁻⁴ 的稀释液各 100 μL,分别在含 Cd²⁺ 浓度为 10、30、60、100、200、400、800、…、3 600 mg/L 的平板上涂布培养。不同镉浓度梯度各做 1 组平行,采用同样方法将菌液稀释液涂布于固体平板上进行培养,记录生长情况及菌落形态等。

1.3 耐镉菌株吸附 Cd²⁺ 的条件分析

挑取单菌落到 LB 液体培养基中,30℃、120 r/min 条件下培养至对数期(16~24 h);6 000 r/min 离心 7 min,弃上清,称其菌体鲜质量;将所收集菌体制成定量菌悬液。

将 100 μL 菌悬液接种到 20 mL 含有不同浓度 Cd²⁺ 的培养基中,在设置的各参数下吸附,6 000 r/min 离心 7 min,取上清,用原子吸收分光光度法测定 Cd²⁺ 浓度(每个浓度做 3 个平行),每组均以不加菌体组为对照,按以下公式计算菌体对 Cd²⁺ 的吸附率 A(%):

$$A = (C_1 - C_2) / C_1 \times 100\% \quad (1)$$

式中:C₁ 为吸附前溶液中的 Cd²⁺ 质量浓度,mg/L;C₂ 为吸附后溶液中的 Cd²⁺ 质量浓度,mg/L。

1.3.1 不同的 Cd²⁺ 浓度、时间、pH 值、菌量对吸附的影响 每个影响因素均设置 3 组平行试验,为测定吸附平衡最佳时间,调节 Cd²⁺ 浓度为 75 mg/L、菌量为 1.0 g/L,pH 值为 5.5,于 30℃、130 r/min 恒温培养箱中振荡培养,分别于 0、2、4、…、16、24、32、48 h 取样。为测定 Cd²⁺ 浓度对吸附效果的影响,Cd²⁺ 浓度分别为 10、25、50、75、100、125、150 mg/L,调节菌量为 1.0 g/L,pH 值为 5.5,于 30℃、130 r/min 恒温培养箱中振荡培养 8 h,吸附平衡后取样。为了确保菌量对吸附效果的影响,菌量分别为 0.01、0.1、0.5、1.0、2.0 g/L,调节 Cd²⁺ 浓度为 75 mg/L,pH 值为 5.5,于 30℃、130 r/min 恒温培养箱中振荡培养 8 h,吸附平衡后取样。为了测定 pH 值对吸附效果的影响,pH 值分别调节为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0,调节菌量为 1.0 g/L、Cd²⁺ 浓度为 75 mg/L,于 30℃、130 r/min 恒温培养箱中振荡培养 8 h,吸附平衡后取样。

1.3.2 等温吸附模型 分别采用 Langmuir 和 Freundlich 吸附等温式模拟吸附过程^[13-14]。Langmuir 模型中,吸附量 q_e

与平衡时 Cd²⁺ 浓度 C_e 的双倒数成直线关系,模型如下:

$$q_e = \frac{q_m b C_e}{1 + b C_e} \quad (2)$$

式中: q_e 为吸附量,mg/g; q_m 为最大吸附量,mg/g; b 为 Langmuir 吸附常数; C_e 为平衡时的 Cd²⁺ 浓度,mg/g。

Langmuir 方程式中 b 的值能反映吸附能力以及不同生物量大小的吸附率。

Freundlich 模型中, q_e 平衡时重金属浓度 C_e 的双对数成直线关系^[13-14]。Freundlich 吸附方程为:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (3)$$

式中: K_F 和 n 均为 Freundlich 吸附模型的吸附常数。

1.3.3 菌株 Cd²⁺ 吸附机制分析 用扫描电镜(SEM)分析观察,分别设置不添加 Cd²⁺(对照)和添加 20、300 mg/L Cd²⁺ 的 2 个处理,并按上述处理配制相应的 LB 液体培养基。将培养液以 2% 接种量分别接种到上述培养基中,30℃、130 r/min 振荡培养 24 h,将菌液分别用蒸馏水洗涤 3 遍。菌株细胞通过 2.5% 戊二醛固定、乙醇浓度梯度脱水、干燥和喷金等操作后,使用扫描电镜观察细胞表面形态。

菌株 PFYN01 分别于 Cd²⁺ 浓度为 0、75 mg/L 的液体培养基中培养 24 h,6 000 r/min 离心 7 min 收集菌体,用蒸馏水清洗 3 次,70℃烘干至恒质量,按 1:100 比例取菌体和烘干的 KBr 粉末混匀,在玛瑙研钵中充分研磨,压片制样后红外光谱仪测定。

1.4 数据处理与分析

采用 Excel 2016 处理试验数据并进行误差分析;采用 Origin 9.0 对数据进行拟合。

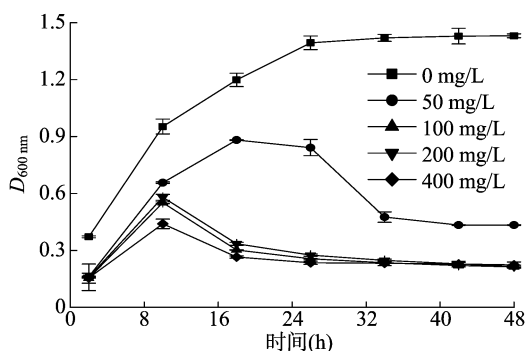
2 结果与分析

2.1 菌落形态观察及生长情况

2.1.1 耐镉菌株的驯化 采用微生物纯培养方法从攀枝花巴关河西渣场矿区淤泥样本中筛选出一批耐性菌株,通过逐级提高 Cd²⁺ 浓度的方法驯化获得 1 株高耐镉菌株 PFYN01。PFYN01 能够在 Cd²⁺ 浓度为 100 mg/L 的 LB 培养基中生长,进行传代培养 18 代后仍能在 3 600 mg/L Cd²⁺ 的 LB 固体培养基中生长,表明该菌株不但镉的耐受浓度高,且耐镉的遗传稳定性好。在 Cd²⁺ 浓度为 3 900 mg/L 时,菌株生长很少,结果表明 PFYN01 菌株对 Cd²⁺ 有较强的耐受性。

2.1.2 菌落形态观察 PFYN01 菌体生长较快,在 LB 培养基中培养 1 d 左右,菌落形态近似圆形,表面光滑湿润,边缘不整齐,质地软,乳白色,色素不扩散,较黏稠,易挑起(图 1)。该菌株能使淀粉水解,不能水解油脂和明胶,糖类发酵试验中显阳性。其生理生化特点与芽孢杆菌相似,16S rDNA 序列同源性比较发现,PFYN01 的 16S rDNA 与芽孢杆菌(*Bacillus* sp.) L25 亲缘关系较近,同源性为 99%。因此,可初步断定 PFYN01 为芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)。

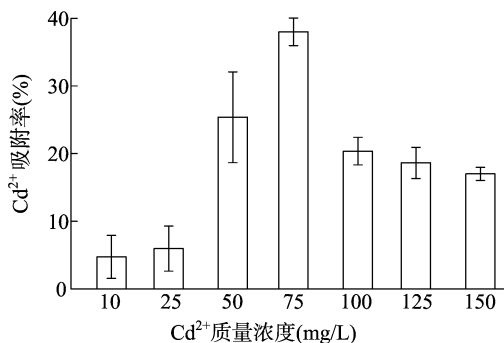
2.1.3 不同初始浓度下 PFYN01 的生长情况 图 2 为初始 Cd²⁺ 质量浓度分别在 0、50、100、200、400 mg/L 下培养 48 h 后的 PFYN01 生长曲线图。当镉浓度为 0 时,PFYN01 菌株 1 h 左右进入对数生长期,大约 24 h 后进入稳定期。当镉浓度为 50 mg/L 时,延长了对数期且生长量较低;当镉浓度超过 50 mg/L 时,重金属 Cd²⁺ 对菌株的生长有明显的抑制作用。

图1 耐 Cd^{2+} PFYN01 的菌落形态图2 不同 Cd^{2+} 浓度条件下菌株的生长曲线

但菌株能够在含镉 (100 mg/L 以下) 的液体培养基中正常生长,表明该菌株对 Cd^{2+} 有耐受性。

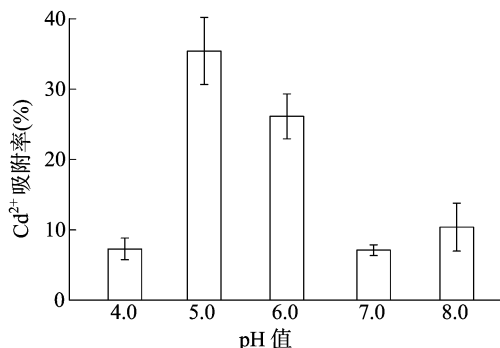
2.2 耐镉菌株吸附条件研究

2.2.1 初始 Cd^{2+} 质量浓度 由图 3 可知,当 Cd^{2+} 浓度为 10 ~ 25 mg/L 时,菌株 PFYN01 对 Cd^{2+} 的吸附率随浓度的增加而缓慢升高,在 Cd^{2+} 浓度相对较低的环境中,吸附 Cd^{2+} 可能以胞内吸附结合为主^[15];当 Cd^{2+} 浓度为 50 ~ 75 mg/L 时,菌株 PFYN01 对 Cd^{2+} 的吸附率迅速增高,在 Cd^{2+} 浓度为 75 mg/L 时达到最大值,为 34.98%。说明在一定初始 Cd^{2+} 质量浓度范围内,随着 Cd^{2+} 浓度增加有利于菌株对其的吸附,可能是因为细菌与 Cd^{2+} 在胞内结合,使得 Cd^{2+} 与菌株有效碰撞的概率增高,吸附位点增加,同时胞外吸附也起一定的作用;当 Cd^{2+} 浓度超过 75 mg/L 时,随着 Cd^{2+} 浓度增加,吸附率降低,可能是因为高浓度的 Cd^{2+} 会抑制微生物的生长代谢,使其结构发生变化,相应也会导致微生物表面吸附位点减少,从而减少其表面吸附量^[12]。

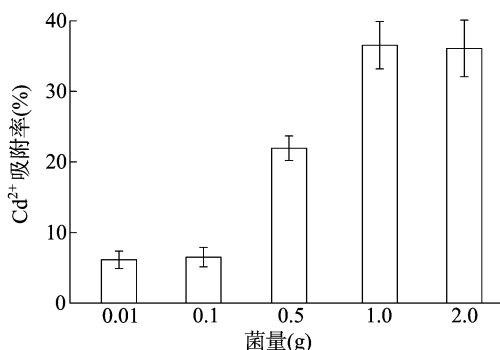
图3 初始 Cd^{2+} 浓度对 PFYN01 吸附 Cd^{2+} 的影响

2.2.2 pH 值 一般而言,pH 值是影响溶液中重金属含量和吸附剂吸附能力的重要因素之一,它会影响吸附剂的表面电

荷、官能团质子化程度^[16]。本研究的 pH 值范围为 4.0 ~ 8.0,结果如图 4 所示,随着 pH 值的升高, Cd^{2+} 吸附率呈先上升后下降的趋势,pH 值为 5.0 时, Cd^{2+} 的吸附率达到最高,为 33.98%。在 pH 值较低时,溶液中存在大量的 H_3O^+ ,占据菌体细胞壁的吸附活性位点,活性基团被质子化,从而增加了细胞表面的静电斥力,阻碍离子交换作用^[12]。当 pH 值达到 5.0 ~ 7.0 时,重金属离子形态发生改变,导致吸附量减少,吸附率依次降低。

图4 pH 值对 PFYN01 Cd^{2+} 吸附率的影响

2.2.3 菌量 由图 5 可知,随着接种量从 0.01 g/L 增加到 2.0 g/L 的加入,菌株对 Cd^{2+} 的吸附率从 6.26% 增加到 34.79%,吸附率在接种量为 1.0 g/L 时达到最高,可能是随着接种量的增加,细菌量增多,提供吸附位点也相应增加,总的生物吸附量也就变多,但吸附率并不完全随着接种量的增加而升高;当 PFYN01 的接种量从 1.0 g/L 增加到 2.0 g/L 时,其对 Cd^{2+} 的吸附率为 34.12%,说明此时细菌表面吸附位点达到饱和,当接种量超过 1.0 g/L 时,再继续增加,吸附率增加不明显^[6]。因此,为了提高吸附率并节约成本,接种量不宜过大。

图5 菌量对 PFYN01 吸附 Cd^{2+} 的影响

2.2.4 耐镉菌株吸附 Cd^{2+} 的等温模型 为了考察在最佳条件下 PFYN01 对 Cd^{2+} 的吸附能力、最大吸附量与溶液中 Cd^{2+} 浓度之间的平衡关系,采用的是 Langmuir 和 Freundlich 2 种模型来拟合吸附试验结果,模拟结果见图 6,相关参数见表 1。Langmuir 方程的决定系数 $R^2 = 0.927$,较 Freundlich 方程的 R^2 高,吸附温度为 30 °C, Cd^{2+} 浓度为 75 mg/L 时,能达到平衡参数。通过计算,芽孢杆菌 PFYN01 对 Cd^{2+} 的理论最大吸附力量为 $q_{\max} = 1.974$ mg/g,与实际测得的 1.902 mg/g 相接近。因此可以判定 Langmuir 更适合描述菌对 Cd^{2+} 的等温吸附过程,说明生长菌体 PFYN01 对 Cd^{2+} 吸附过程是一个单分子层吸附、吸附剂表面均匀。

表 1 PFYN01 菌株吸附 Cd²⁺ 的等温吸附参数

Langmuir 模型			Freundlich 模型		
q_{\max} (mg/g)	B [g/(mg·h)]	R^2	K_F	$1/n$	R^2
1.974	0.064	0.927	1.641 6	0.081	0.897

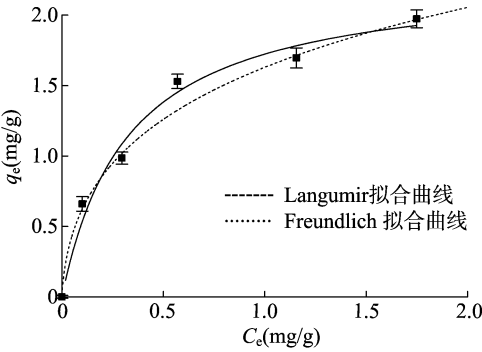
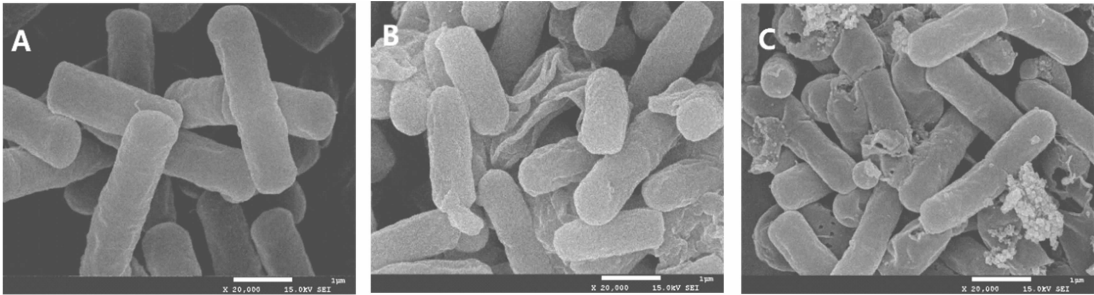


图6 Langmuir 和 Freundlich 吸附等温模型



A. 0 mg/L Cd²⁺ B. 20 mg/L Cd²⁺ C. 300 mg/L Cd²⁺
图7 在 3 种 Cd²⁺ 浓度下的 PFYN01 的 SEM 图示

2.4 菌株 PFYN01 吸附前后红外光谱图及分析结果

将吸附 Cd²⁺ 前后菌株样品进行红外光谱检测,光谱图如图 8 所示,在 500~4 000 cm⁻¹ 波数内均有吸收峰。根据文献 [17] 对谱带进行归属,菌体主要成分是碳水化合物和蛋白质。其中,3 330.3 cm⁻¹ 附近的吸收带是分子间氢键 O—H 和 N—H 的伸缩振动,吸收峰强而宽, Kim 等研究发现,蜡状芽孢杆菌从 3 200~3 600 cm⁻¹ 的宽带和强带可能由胺的羟基 (O—H) 和氨基 (N—H) 的重叠造成的;吸收峰是—COOH 中的 O—H 和 C—H;1 785.67、1 697 cm⁻¹ 处的吸收峰主要来自蛋白酰胺 I 带或脂类化合物的 C=O 伸缩振动^[18]。Sun 等的研究发现,地衣芽孢杆菌在波数为 1 734 cm⁻¹ 的吸收峰处,呈现出羰基 (C=O) 和酰胺基 (=CO—、CO—NH) 的变化;1 585 cm⁻¹ 处的吸收峰来自蛋白质酰胺 II 带 (N—H 弯曲与 C—N 伸缩振动) 吸收峰^[19]。Fang 等研究发现,苏云金芽孢杆菌在 1 653、1 540 cm⁻¹ 附近的主要谱带归属于酰胺 I 和酰胺 II,酰胺 II 可能是细胞壁的重要组分之一;1 284、1 298 cm⁻¹ 处吸收峰主要来自蛋白酰胺 III 带 C—N 伸缩振动吸收,N—H 变形振动相当于—CH₂ 的剪式振动方式^[20]。陈永华等研究发现,蜡状芽孢杆菌在波数位于 1 280.97~1 305.42 cm⁻¹ 之间是典型脂碳链 C—H 伸展振动吸收带^[21~22]。吸附后与对照组的红外光谱图相比,在 3 330.3 cm⁻¹ 处的吸收峰强,在初始浓度为 75 mg/L 的 Cd²⁺ 作用下波数偏移到 3 286 cm⁻¹,说明来自多聚糖、蛋白质和脂肪酸组分的 O—H 和 N—H 参与了 Cd²⁺ 吸附过程;在 1 785.67、1 697 cm⁻¹ 处吸附后波数偏移到 1 737、

2.3 扫描电镜分析

扫描电镜能从不同角度对样品细胞表面微观形态进行观察,对在空白对照 (0)、低浓度 (20 mg/L) 和高浓度 (300 mg/L) 的 Cd²⁺ 进行吸附后的细菌扫描,观察细胞的变化,分析 Cd²⁺ 对细胞的影响,并推测作用机制。

由图 7 可知,PFYN01 为革兰氏阳性长杆菌,菌株在 0 mg/L Cd²⁺ 浓度下,细胞结构完整,表面光滑饱满;在 20 mg/L Cd²⁺ 浓度下,细胞结构完整,但表面出现大量褶皱,无细胞破碎,有些细胞出现大小不等的空泡,细胞内可能发生变性反应,这说明一定浓度的 Cd²⁺ 会给细胞带来损伤,使细菌出现凋亡特征;在 300 mg/L Cd²⁺ 浓度下,PFYN01 细胞表面褶皱更加明显,部分细胞穿孔现象,胞内物质表面有细小颗粒堆积在细胞表面,表明胞内物质完全流失并与 Cd²⁺ 形成络合物,推测是由于 Cd²⁺ 浓度过高,胞内外渗透压差距较大,更多高毒性的 Cd²⁺ 进入到细胞内部,胞内物质迅速从孔中溢出。

1 656.8 cm⁻¹,强度有所下降,表明酰胺 I 带的 C=O 键伸缩振动参与了 Cd²⁺ 的吸附。FIRT 分析表明,细胞参与镉吸附的官能团主要有酰胺基 (N—H)、羧基 (COOH)、羟基 (O—H)、烃基 (C—H)、羰基 (C=O)。

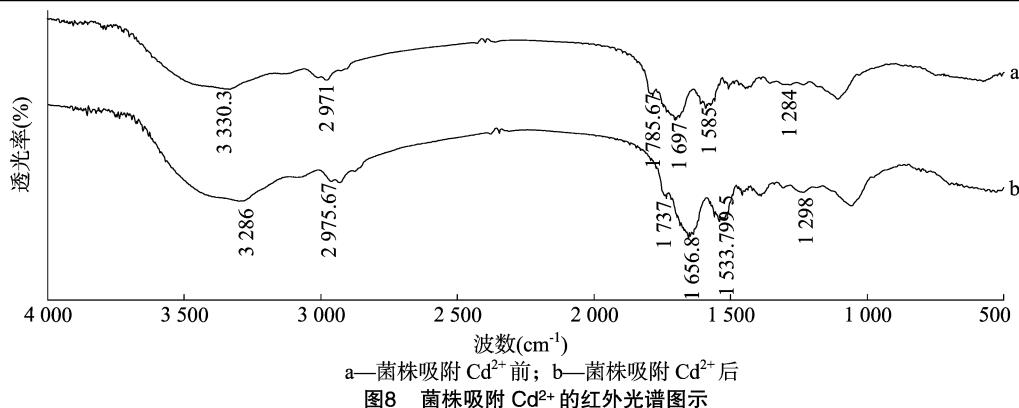
3 结论

本研究从攀枝花矿渣淤泥中分离筛选获得一批耐性菌株,通过逐级提高 Cd²⁺ 浓度,驯化出 1 株在液体培养基、固体培养基中分别能够耐受 700、3 900 mg/L Cd²⁺ 的革兰氏阳性细菌,经鉴定为芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.),命名为 PFYN01;芽孢杆菌菌株 PFYN01 对 Cd²⁺ 耐受和抗性浓度相比其他报道的芽孢杆菌属高。

菌株 PFYN01 对 Cd²⁺ 有较好的吸附效果,在 Cd²⁺ 初始浓度为 75 mg/L、投菌量为 1.0 g/L、pH 值 5.0 时,对 Cd²⁺ 的吸附率可达到 34.98%。运用吸附等温模型拟合菌株吸附 Cd²⁺ 过程,发现菌株 PFYN01 符合 Langmuir 模型,最大吸附量为 1.974 mg/g,表明菌株 PFYN01 在吸附过程中是单分子层吸附,属于物理吸附。

菌株 SEM 检测发现 PFYN01 为长杆状,Cd²⁺ 浓度在 0~300 mg/L 之间,PFYN01 可生长繁殖。Cd²⁺ 浓度超过 20 mg/L 时,菌体部分细胞发生形变,细胞质严重收缩,胞内物质释放,随着 Cd²⁺ 浓度增加对 PFYN01 抑制作用增强。

通过 FTIR 分析 PFYN01 表面官能团对 Cd²⁺ 的螯合作用,结果表明,菌株 PFYN01 表面与 Cd²⁺ 结合的官能团有—OH、N—H、C—H 和 C=O 等,其中—OH 和 C=O 是优



先吸附点。此外,在高浓度 Cd^{2+} 吸附过程中,酰胺 I、II、III 谱带发生了明显的变化,表明在高浓度下,蛋白质中酰胺基可能起着重要的作用,其次可能是脂类或糖类物质。

参考文献:

- [1] Klimek B. Effect of long-term zinc pollution on soil microbial community resistance to repeated contamination[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2012, 88(4): 617-622.
- [2] Kumar N, Kumari V, Ram C, et al. Bio-prospecting of cadmium bioadsorption by lactic acid bacteria to mitigate health and environmental impacts[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(4): 1599-1615.
- [3] Nies D H. Microbial heavy-metal resistance[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 1999, 51(6): 730-750.
- [4] 林晓燕, 牟仁祥, 曹赵云, 等. 耐镉细菌菌株的分离及其吸附镉机理研究[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(9): 1700-1706.
- [5] Amoozgar M A, Ghazanfari N, Didari M. Lead and cadmium bioremoval by *Halomonas* sp. an exopolysaccharide-producing Halophilic bacterium[J]. Progress in Biological Sciences, 2012, 2(1): 1-11.
- [6] 廖佳, 冯冲凌, 李科林, 等. 耐性真菌 HA 吸附铅、锌的影响因素及吸附机理研究[J]. 微生物学通报, 2015, 42(2): 254-263.
- [7] Samanta A, Bera P, Khatun M, et al. An investigation on heavy metal tolerance and antibiotic resistance properties of bacterial strain *Bacillus* sp. isolated from municipal waste[J]. Journal of Microbiology & Biotechnology Research, 2017, 2(1): 178-189.
- [8] Kim S U, Cheong Y H, Seo D C, et al. Characterisation of heavy metal tolerance and biosorption capacity of bacterium strain CPB4 (*Bacillus* spp.) [J]. Water Science and Technology, 2007, 55(1/2): 105-111.
- [9] Wang T, Sun H W, Mao H J, et al. The immobilization of heavy metals in soil by bioaugmentation of a UV-mutant *Bacillus subtilis* 38 assisted by NovoGro biostimulation and changes of soil microbial community[J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, 278: 483-490.
- [10] 刘红娟, 党志, 张慧, 等. 蜡状芽孢杆菌抗重金属性能及对镉的累积[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(1): 25-29.
- [11] Tripathi M, Vikram S, Jain R K, et al. Isolation and growth characteristics of chromium (VI) and pentachlorophenol tolerant bacterial isolate from treated tannery effluent for its possible use in simultaneous bioremediation[J]. Indian Journal of Microbiology, 2011, 51(1): 61-69.
- [12] 沈秋悦, 曹志强, 朱月芳, 等. 一株耐镉细菌的分离鉴定及其吸附条件的优化[J]. 土壤, 2016, 48(3): 615-620.
- [13] Gabr R M, Hassan S H A, Shoreit A A M. Biosorption of lead and nickel by living and non-living cells of *Pseudomonas aeruginosa* ASU 6a[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2008, 62(2): 195-203.
- [14] Yang Y T, Wei X Z, Wan J M, et al. Equilibrium and kinetic characteristic of adsorption of Cu^{2+} , Pb^{2+} on a novel anionic starch microspheres[J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2011, 219(1/2/3/4): 103-112.
- [15] 周赓, 杨辉, 潘虎, 等. 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.
- [16] 李新琦, 温沁雪, 王琼, 等. 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.
- [17] 卢涌泉, 邓振华. 实用红外光谱解析[M]. 北京: 电子工业出版社, 1989: 203-207.
- [18] Kim S Y, Jin M R, Chung C H, et al. Biosorption of cationic basic dye and cadmium by the novel biosorbent *Bacillus catenulatus* JB-022 strain[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2015, 119(4): 433-439.
- [19] Sun J, Li Y, Liu L G, et al. Bioaccumulation capacity and mechanisms of cadmium by *Bacillus Licheniformis* [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2013, 27(11): 1644-1651.
- [20] Fang L C, Cai P, Chen W L, et al. Impact of cell wall structure on the behavior of bacterial cells in the binding of copper and cadmium[J]. Colloids and Surfaces (A: Physicochemical and Engineering Aspects), 2009, 347(1/2/3): 50-55.
- [21] 陈永华, 向捷, 吴晓芙, 等. 三株耐铅锌菌的分离、鉴定及其吸附能力[J]. 生态学杂志, 2015, 34(9): 2665-2672.
- [22] 黄飞. 蜡状芽孢杆菌对水体中镉的吸附特性与机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013: 117-118.