

酿酒酵母对铯离子的生物吸附研究

张凯 张建国 杨翊方 马丽 任鑫

(海军医学研究所 上海 200433)

摘要 以酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*) CGMCC 2.1188 为出发菌株,通过麦芽汁培养基进行培养,采用 ^{60}Co 源进行辐照,研究其在辐照下的生长存活情况和对酸碱环境的适应能力,并且初步考察了溶液的 pH 值、温度和吸附时间等因素对酿酒酵母菌生物吸附效果的影响。结果表明:辐照对酿酒酵母生长的影响很小,酿酒酵母最适合的生长 pH 值为 7;在 pH 值为 7、作用温度为 30℃、作用时间为 120 min 的条件下,酿酒酵母对铯离子吸附的效果较好。利用酿酒酵母作为吸附剂处理含铯离子的废水具有应用潜力。

关键词 酿酒酵母,铯离子,生物吸附

中图分类号 TL941⁺.19

物质通过共价、静电或分子力的作用吸附在生物体表面的现象被称为生物吸附。吸附能力与表面积有关,细菌、藻类等相对面积较大,其吸附能力较强。由于生物材料较为便宜,购买方便,对金属离子的选择性好,对大量存在的金属离子如 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 不吸附或弱吸附。因此,在处理工业废液方面有广阔的应用前景^[1]。

核电厂运行过程中会产生一定量的放射性废液,其中就含有放射性铯。目前,国外已有人研究用酵母菌来吸附水体中的 $^{137}\text{Cs}^{+}$ ^[2]。酿酒酵母是一类重要的工业微生物,广泛应用于食品和饮料工业。本文就影响酿酒酵母存活的主要因素(包括环境 pH 值,吸收剂量)以及酿酒酵母对 Cs^+ 吸附的作用条件(包括溶液 pH 值,作用时间,作用温度)进行了研究。这些研究将为开发处理核设施放射性废水的生物吸附剂提供理论参考。

1 实验材料和方法

1.1 实验菌株

酿酒酵母菌,购自中国普通微生物菌种保藏管理中心,编号为 2.1188。

酿酒酵母菌用麦芽汁液体培养基培养 24 h, 6000 r·min⁻¹ 离心 10 min,去上清液,用去离子水洗涤 2-3 次,收集菌体备用。

1.2 试剂及仪器

麦芽汁培养基, BR (阿拉丁试剂);美蓝,分析纯(上海远航化工厂);铯标准溶液: 1000 mg·L⁻¹, GSB G62045-90 (国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院);氢氧化钾、乙醇、氯化钾、硝酸,以上均为分析纯(上海国药集团化学试剂有限公司);水为重蒸二次水。

SP-3520AAPC 原子吸收分光光度计(上海光谱仪器有限公司);C-MAG HP7 控温加热板(德国 IKA 公司);XW-80A 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂);85-2 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂);HS-2102 恒温摇床(上海和呈仪器厂);Allegra 64R 离心机(BECKMAN COULTER 公司)。

1.3 耐酸碱实验

取定量酿酒酵母菌体置于 pH 值不同的溶液中进行培养,用美蓝染色法^[3]测定酿酒酵母存活率。

1.4 耐辐照实验

对于中低放废水,酿酒酵母在吸附废水中放射性铯离子的过程中,酿酒酵母受到的辐照强度将随着它对铯离子不断富集而增大^[4]。因此,在对酿酒酵母进行耐辐照实验时应选取辐照强度较大的放射源。

取定量酿酒酵母菌体用 ^{60}Co 源进行照射(距离 ^{60}Co 源 0.62 m,空气吸收剂量率为 1 Gy·h⁻¹),测定

第一作者:张凯,男,1984年10月出生,2009年于海军工程大学获得硕士学位,现为海军医学研究所防护医学研究室助理研究员,主要从事核技术及应用研究

通讯作者:张建国, Email: jgzhang@gmail.com

收稿日期:初稿 2013-06-04,修回 2013-08-29

酿酒酵母的存活率。

1.5 吸附实验

用移液枪定量吸取已知 Cs^+ 质量浓度的溶液于 250 mL 锥形瓶中, 加入定量的菌体, 在控温磁力搅拌器上进行吸附实验, 测定吸附前后溶液中 Cs^+ 质量浓度的变化^[5]。

1.6 测定及计算

铯离子浓度用原子吸收分光光度计测定。实验设计为: 检测标准设为 5 个, 各标准中铯的浓度依次为 0、0.5、1、2 和 3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。除某些放射性元素外, 铯的电离电位最低。为了消除物理干扰^[6], 本研究在各标准中加入 9.534 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的氯化钾作为电离抑制剂。因为在火焰中, 如果一个电离电位高的元素也发生电离, 那么铯的电离电子就要用来平衡另外一种元素的电离, 随着铯电离幅度的增大, 相应检测到的铯原子数将会降低, 形成的误差就会增大^[7]。吸附率^[8] (%) 的计算方法见下式。

$$\text{吸附率} = \frac{\text{Cs}^+\text{初始浓度} - \text{吸附平衡时 Cs}^+\text{的浓度}}{\text{Cs}^+\text{初始浓度}} \times 100\%$$

吸附平衡指的是酿酒酵母在吸附 Cs^+ 的同时发生脱附, 吸附速度和脱附速度相等, 表现为吸附速

度为零, Cs^+ 在溶液中的浓度和酿酒酵母上的浓度都不再发生改变时的一种状态。

2 结果与讨论

2.1 pH 值对酿酒酵母存活率的影响

在溶液 pH 值为 2、5、7 和 9 条件下按照 1.3 节方法重复实验 3 次。具体存活率情况如表 1。

由表 1 可知, 酿酒酵母菌在中性环境中存活率最高, 平均存活率达到 72%, 酸性环境中存活率较低, 碱性环境中酿酒酵母极不易存活。分析原因, 酿酒酵母基因中不含有热稳定碱性多肽和热稳定酸性多肽, 它对酸碱的耐受性较差。

2.2 酿酒酵母的耐辐照研究

在照射时间为 8、24 和 48 h 条件下按照 1.4 节方法重复实验 3 次。具体情况如表 2。

由表 2 可知, 该种辐照对酿酒酵母存活的影响较小。当辐照强度足够大时, 酿酒酵母菌体表面蛋白质可能发生变性而凋亡, 但是中低放废水的辐照强度远未达到此水平。在实际应用过程中, 无论是通过在废水传输管道中加装包含酿酒酵母的过滤装置还是通过在废水池中投放酿酒酵母, 辐照因素都可忽略不计。

表 1 不同溶液中酿酒酵母的存活率
Table 1 Livability of *Saccharomyces cerevisiae* in different solutions

	pH=2	pH=5	pH=7	pH=9
存活率/ %	59	68	71	10
Livability	57	64	71	15
	56	67	74	17

表 2 辐照后酿酒酵母的存活率
Table 2 Livability of *Saccharomyces cerevisiae* after irradiations

	8 h		24 h		48 h	
	辐照	未辐照	辐照	未辐照	辐照	未辐照
	Irradiation	Unirradiation	Irradiation	Unirradiation	Irradiation	Unirradiation
存活率/ %	83	87	82	86	83	79
Livability	84	89	84	87	82	83
	84	90	84	86	80	82

2.3 溶液 pH 值对吸附效果的影响

在作用温度为 30℃, Cs^+ 初始浓度 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,

酿酒酵母添加量 6.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下, 考察溶液 pH 值对吸附效果的影响。实验结果如图 1 所示。

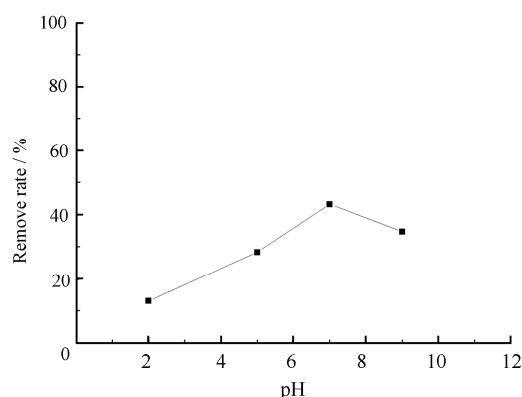


图1 在 pH 值不同的溶液中铯离子的去除率
Fig.1 Removal rate of Cs^+ in different solutions

由图 1 可知，随着溶液 pH 值的增大，酿酒酵母对铯离子的去除率逐渐升高，当 pH 值等于 7 时，酿酒酵母对铯离子的去除率较大，此后，去除率又随着溶液 pH 的增大而有所降低。酿酒酵母菌体对 Cs^+ 的吸附首先是菌体微粒与 Cs^+ 间静电吸引^[9]，然后细胞表面有机基团与 Cs^+ 发生离子交换。在酿酒酵母菌体对 Cs^+ 的吸附过程中，溶液的 pH 值不仅影响细胞表面的电荷，而且影响溶液中细胞表面的有机基团的状态，因为对吸附过程影响较大。当 pH=2 时，溶液中大量的水合氢离子可能会与 Cs^+ 发生竞争吸附，并使菌体细胞壁质子化，增加细胞表面的静电斥力，因而造成 Cs^+ 的去除率低。随着 pH 值的升高，体系 pH 超过细菌表面的等电点，细胞表面负电荷量增加，当 pH=5 时， Cs^+ 去除率较高。当 pH 继续增加到 7 时， Cs^+ 去除率进一步增大。但是 pH 值过高时会使金属 Cs^+ 生成极强的一种碱即氢氧化铯造成酿酒酵母细胞壁上的基团失去活性，不利于吸附的进行。

2.4 吸附时间对吸附效果的影响

在溶液 pH 值为 7，作用温度为 20℃， Cs^+ 初始浓度 $2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，酿酒酵母添加量 $6.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下，考察不同吸附时间对吸附效果的影响，实验结果如图 2 所示。

由图 2 可见，吸附过程分成两个阶段：第一阶段是开始吸附快速且吸附量较高阶段；在 30 min 时 Cs^+ 去除率增大至 25%，在吸附时间达到 120 min 时， Cs^+ 去除率增加幅度不大，此时细胞上被吸附的离子与溶液中的 Cs^+ 达到平衡；第二阶段是吸附量增速变缓的阶段，反应进行到 120 min 以后， Cs^+ 去除率反而略有下降并趋于不变。由此可见，菌体对 Cs^+

的吸附过程是一个快速过程，随着时间的增加，出现脱附现象^[10]，因而导致 Cs^+ 去除率略有下降。吸附速度快及解吸现象的存在，表明酿酒酵母菌体细胞与 Cs^+ 之间的物理吸附在吸附机理中占一定的地位。

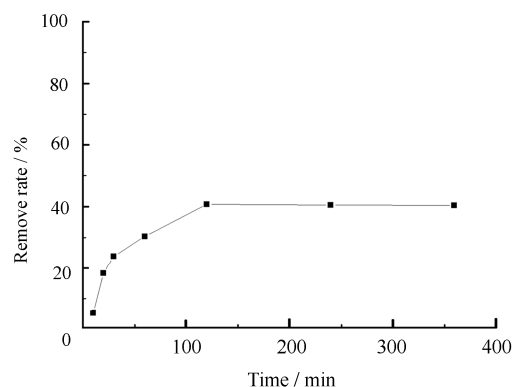


图2 在不同的吸附时间内铯离子的去除率
Fig.2 Removal rate of Cs^+ at different adsorption times

2.5 作用温度对吸附效果的影响

在溶液 pH 值为 7，吸附时间为 120 min， Cs^+ 初始浓度为 $2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，酿酒酵母添加量为 $6.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下，考察作用温度对吸附效果的影响，实验结果如图 3 所示。

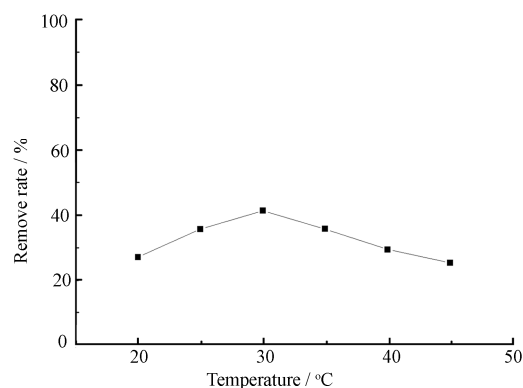


图3 在不同的作用温度下铯离子的去除率
Fig.3 Removal rate of Cs^+ at different operative temperatures

从图 3 可以看出，在温度为 20℃–45℃ 内， Cs^+ 去除率变化较大。当作用温度为 30℃ 时，酿酒酵母对铯离子的去除率达最大，在此温度范围内，温度高于或低于 30℃ 时， Cs^+ 去除率均有所降低。

3 结论

酿酒酵母对 Cs^+ 具有较好的吸附作用。其吸附能力受到废水 pH 值、作用时间、作用温度等条件

的影响。中性条件下有利于酿酒酵母对金属 Cs^+ 的吸附。

含铯放射性废水的处理应向处理效率高、设备简单、费用低、方法安全可靠的方向发展。目前,采用化学沉淀法除铯时,四苯硼钠是最佳沉淀剂之一,但会产生有害气体,安全性存在潜在风险^[11]。蒸发法的设备复杂,运行维护费用高^[12]。萃取法使用的萃取剂多数是毒性高、结构复杂的有机物,对环境破坏大^[13]。而利用酿酒酵母作吸附剂处理含 Cs^+ 废水具有高效、经济、简便的优点,特别是处理传统方法不能处理的低浓度重金属废水具有独特的应用价值。此项研究刚刚起步,用于处理实际放射性废水还需深入研究。

参考文献

- 1 王战勇, 张晶, 苏婷婷. 啤酒废酵母对镉离子的吸附研究[J]. 生物学杂志, 2007, **24**(2): 37–40
WANG Zhanyong, ZHANG Jing, SU Tingting. The biosorption of cadmium(II) by discarded brewers yeast [J]. Journal of Biology, 2007, **24**(2): 37–40
- 2 Radar L, Ghafouriana H, Asefa Y, *et al.* Biosorption of cesium by native and chemically modified biomass of marine algae: introduce the new biosorbents for biotechnology applications [J]. Journal of Hazardous Materials, 2004, **116**: 125–134
- 3 任道群, 唐玉明, 姚万春. 一株优良酿酒酵母 S2.101 的最适生长条件研究 [J]. 酿酒科技, 2007, **159**(9): 32–37
REN Daoqun, TANG Yuming, YAO Wanchun. Research on the optimum growth conditions of *Saccharomyces Cerevisiae* strain S2.101 [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2007, **159**(9): 32–37
- 4 王宝娥, 徐伟昌, 郭杨斌. 利用灭活啤酒酵母菌吸附溶液中铀的影响因素探讨 [J]. 南华大学学报(理工版), 2003, **17**(3): 33–39
WANG Baobe, XU Weichang, GUO Yangbin. Studies on the effect of virous of facts on biosorption of uranium by *Saccharomyces Cerevisiae* [J]. Journal of Nanhua University (Science and Engineering Edition), 2003, **17**(3): 33–39
- 5 Anita I, Kalpana M, Bhavanath J, *et al.* Biosorption of heavy metals by a marine bacterium [J]. Marine Pollution Bulletin, 2005, **50**: 340–343
- 6 张善营, 董亚萍, 李海军, 等. 火焰原子吸收光谱法测定卤水中铯的方法的优化 [J]. 稀有金属, 2007, **31**(6): 54–58
ZHANG Shanying, DONG Yaping, LI Haijun, *et al.* Optimization of determination method of cesium in bittern water by FAAS [J]. Chin J Rare Metals, 2007, **31**(6): 54–58
- 7 何金兰, 肖文钦, 万卉芳. 火焰原子吸收采用钠钾非灵敏线测定人体细胞内高含量钠钾 [J]. 光谱学与光谱分析, 1994, **8**(5): 56–58
HE Jinlan, XIAO Wenqing, WAN Huifang. Direct Determination of Na and K in red blood cells of human body by zeeman FAAS [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 1994, **8**(5): 56–58
- 8 Noriko T, Kaori T, Hiroo U, *et al.* Recovery of ^{137}Cs by a bioaccumulation system using *Rhodococcus erythropolis* CS98 [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1998, **85**(6): 604–608
- 9 Ngwenya N, Chirwa E M N. Single and binary component sorption of the fission products Sr^{2+} , Cs^+ and Co^{2+} from aqueous solutions onto sulphate reducing bacteria [J]. Minerals Engineering, 2010, **23**(6): 463–470
- 10 Suh J, Kim D, Yun J, *et al.* Process of Pb^{2+} accumulation in *Saccharomyces Cerevisiae*. Biotechnology Letters, 1998, **20**(2): 153–156
- 11 Hsu C W, White T L. Development of high-performance liquid chromatographic methods for measuring tetraphenylborate decomposition products in radioactive alkaline solutions [J]. Journal of Chromatography A, 1998, **828**(1/2): 461–467
- 12 International Atomic Energy Agency. Handling and processing of radioactive waste from nuclear applications: technical report series No.402 [R]. Vienna, 2001
- 13 Mohapatra P K, Bhattacharyya A, Manchanda V K. Selective separation of radio-cesium from acidic solutions using supported liquid membrane containing chlorinated cobalt dicarbollide (CCD) in phenyltrifluoromethyl sulphone (PTMS) [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, **181**(1/2/3): 679–685

Study on biosorption of cesium ion by *Saccharomyces cerevisiae*

ZHANG Kai ZHANG Jianguo YANG Yifang MA Li REN Xin

(Naval Medical Research Institute, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT The original strains, *Saccharomyces cerevisiae* CGMCC 2.1188, cultivated by malt extract were irradiated by ^{60}Co source and the growth characteristics including the radiation resistance and the acid alkali-resistance were studied. The effects of pH value, temperature and time on the biosorption were studied. The results show that the radiation hardly influences the growth of the strain and the optimum growth pH value is 7.0. With pH value of 7.0, temperature at 30°C, and soaking time for 120 minutes, the cesium ions biosorption reaches the maximum. This study reveals that *Saccharomyces cerevisiae* can be applied to the treatment of wastewater with low concentration of cesium ions.

KEYWORDS *Saccharomyces cerevisiae*, Cesium ion, Biosorption

CLC TL941⁺.19