

生物吸附剂 ZL5-2 对六价铬离子吸附作用的红外光谱分析

李 强, 张玉臻*, 陈 明

山东大学微生物技术国家重点实验室, 山东 济南 250100

摘 要 研究了 *Agrobacterium. sp* 产生的具有吸附作用的蛋白聚糖类物质 ZL5-2 对 Cr(VI) 的吸附作用, 并对吸附 Cr(VI) 前后及解吸附后的 ZL5-2 进行了红外光谱分析。结果表明, ZL5-2 对 Cr(VI) 吸附的最佳 pH 为 0.5~1.5, 随着 pH 增大, 吸附作用减弱。60 min 时吸附达到平衡, 80 min 后所有的 Cr(VI) 都被吸附。被吸附的 Cr(VI) 可以被解吸附, 解吸率为 13.6%~67.9%。通过红外光谱分析, 发现吸附后 ZL5-2 在 3 400 cm^{-1} 附近 OH, NH 伸缩振动峰强度减弱, 并发生了约 8 cm^{-1} 的位移, 2 900 cm^{-1} 附近 C—H 伸缩振动减弱, 1 600 cm^{-1} 处的酰胺 I 带伸缩振动的相对强度减弱, 并发生约 13 cm^{-1} 的位移。解吸附后, OH, C—H 伸缩振动又恢复到原来水平, 而 NH、酰胺 I 带的伸缩振动未恢复到原来水平, 推测该吸附过程存在可逆吸附和不可逆吸附, 以可逆吸附为主。

主题词 生物吸附剂; 铬离子; 红外光谱分析; 解吸附

中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2005)05-0708-04

引 言

随着工业的发展, 水环境中的铬等重金属对人类健康和生态环境的危害越来越严重, 急需得到妥善治理。不同化学形态的铬毒性不同, Cr, Cr(II) 和 Cr(III) 毒性较低, Cr(VI) 以 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 形式存在, 其毒性最大, 具有致癌作用。目前广泛使用的传统处理方法存在的共同问题就是处理 1~100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的低浓度重金属废水^[1]时, 成本相对较高。而使用生物吸附剂则可以较好的解决这个问题, 现已有很多关于用生物体作为吸附剂吸附重金属的报道^[2-5], 如酵母菌、霉菌、细菌、藻类等。为了提高吸附效率和选择性, 鉴定能结合金属离子的官能团及判定吸附机理是非常重要的, 红外光谱在判定官能团的存在及物质结构的变化方面有其优越性, 藻类、浮萍^[6]等吸附金属离子后的红外光谱已有报道, 而用微生物发酵得到的胞外蛋白聚糖类物质作为吸附剂吸附重金属的红外光谱分析则未见报道。本文使用的 *Agrobacterium. sp* 发酵产生的胞外蛋白聚糖类生物吸附剂 ZL5-2 产量达 14 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 高于已有报道的最高产量。经组分测定 ZL5-2 含糖量达 90% 以上, 蛋白含量约 8%, 未检测出核酸类物质。本研究用 ZL5-2 吸附 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的含 Cr(VI) 水, 取得了良好的效果, 并用红外光谱法分析了 ZL5-2 吸附 Cr(VI) 前后及解吸附后的各种基团特征吸收峰的变化, 推测了可能存在的吸附机理。

1 实验部分

1.1 主要仪器和试剂

Nicolet Nexus 470 型傅里叶变换红外光谱仪, 722 型分光光度计(上海第三分析仪器厂), HZQ-Q 振荡器(哈尔滨东联电子技术开发有限公司), 高速冷冻离心机(Eppendorf), 重铬酸钾, 二苯碳酰二脲, 丙酮, 无水乙醇等。

1.2 生物吸附剂的制备

将细菌 *Agrobacterium. sp* 接种到产吸附剂培养基(葡萄糖 2%, 酵母膏 0.05%, 尿素 0.05%, NaCl 0.01%, K_2HPO_4 0.5%, KH_2PO_4 0.2%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.02%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02%, pH 7.0~7.5)中, 30 $^\circ\text{C}$ 振荡培养 60 h, 10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心去除菌体, 2 倍体积无水乙醇抽提离心后发酵液得到胞外高聚物, 80 $^\circ\text{C}$ 烘干得到生物吸附剂 ZL5-2, 然后将其配成 5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液。

1.3 生物吸附剂对 Cr(VI) 的吸附

取 10 mL 生物吸附剂溶液分别加入盛有 25 mL Cr(VI) 溶液的 200 mL 三角瓶中, 定容到 50 mL, 30 $^\circ\text{C}$ 振荡 1 h, 5 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取 1 mL 上清液用于测定吸附后溶液中 Cr(VI) 的浓度。

1.4 被吸附的 Cr(VI) 的解吸附^[6]

取上述 Cr(VI) 吸附完全并离心后的沉淀, 溶于蒸馏水中, 用 NaOH 调节 pH 至 7.0 以上, 定容到与沉淀前液体相

收稿日期: 2004-01-26, 修订日期: 2004-03-28

基金项目: 国家自然科学基金(30270046)资助项目

作者简介: 李 强, 1977 年生, 山东大学微生物技术国家重点实验室博士研究生 * 通讯联系人

同的体积, 30 °C 振荡 2 h, 取 1 mL 液体用于测定解吸附后溶液中的 Cr(VI) 的浓度。

1.5 Cr(VI) 的测定

用二苯碳酰二肼分光光度法^[7]测定 Cr(VI) 含量。

1.5.1 标准曲线的绘制

向一系列 50 mL 的比色管中分别加入 0, 0.20, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00, 10.00 mL 的 Cr(VI) 浓度为 $1.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的铬离子标准溶液, 用水稀释至标线, 加入 1:1(φ) 硫酸溶液 0.5 mL 和 1:1(φ) 磷酸溶液 0.5 mL, 摇匀, 加入 2 mL 显色剂(二苯碳酰二肼的丙酮溶液), 摇匀, 静置 5~10 min, 在 540 nm 波长处以水作为参比测定吸光度(OD)。作空白校正后, 以 540 nm 处吸光度为纵坐标, Cr(VI) 的含量(μg)为横坐标, 绘制标准曲线。

1.5.2 样品中 Cr(VI) 的测定

取 1 mL 本文 1.3 和 1.4 节所述样品分别置于 50 mL 比色管中, 用水稀释到标线, 使用 1.5.1 中的方法测定样品 540 nm 处的吸光度, 经过空白校正以后并从标准曲线上查得 Cr(VI) 含量, 标准曲线如图 1 所示。吸附率 $\eta = (\text{OD}_0 - \text{OD}) / \text{OD}_0 \times 100\%$, 其中 OD_0 是吸附前 Cr(VI) 溶液的吸光度, OD 是吸附后 Cr(VI) 溶液的吸光度。

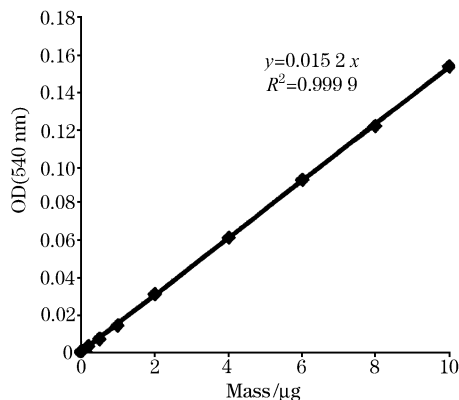


Fig. 1 Chromium cation standard curve

1.6 吸附 Cr(VI) 前后及解吸附后 ZL5-2 的红外光谱分析

分别称取吸附前后及解吸附后的 ZL5-2 1 mg, KBr 100 mg, 混匀, 压片, 在相同条件下以吸光度(Absorbance)为纵坐标, 用傅里叶变换红外光谱仪作 3 个样品的红外光谱图。

2 结果与讨论

2.1 pH 对吸附的影响

在不同 pH 条件下, 取 20 mL $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的生物吸附剂对 50 mL $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cr(VI) 进行吸附, 1 h 后测定溶液的吸光度, 结果如图 2 所示。在 pH 0.5~1.5 条件下, 吸附效果最好, 随着 pH 升高, 吸附效果下降, 在 pH 3.0~5.0 时, 吸附率不再下降而是保持一低水平平衡。

2.2 作用时间对吸附的影响

在 pH 1.0 条件下, 每隔 10 min 取样, 离心后测定上清液的吸光度, 结果如图 3 所示。吸附开始是一个极快的过程,

10 min 时吸附率已经达到 65.4%, 之后吸附率平稳上升, 60 min 达到吸附平衡, 到 80 min 时所有的 Cr(VI) 都被吸附, 显示出生物吸附剂 ZL5-2 具有良好的吸附效果。

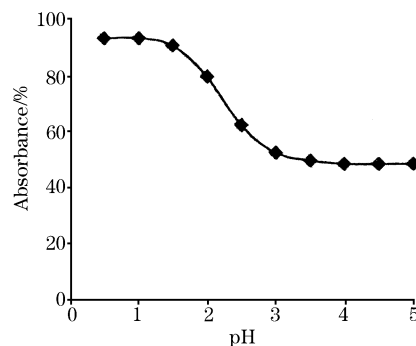


Fig. 2 Effect on absorbance by pH

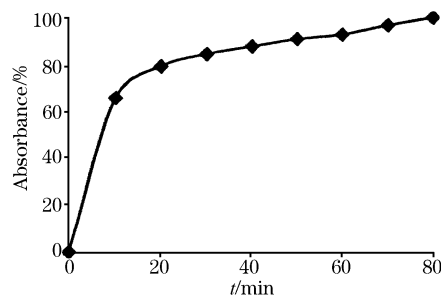


Fig. 3 Effect on absorbance by time

2.3 吸附后 Cr(VI) 的解吸附

在不同 pH 条件下解吸附后, 分别测定解吸附前后溶液中 Cr(VI) 的含量, 与被吸附的 Cr(VI) 的含量相比较, 计算解吸率。由于所有的 Cr(VI) 含量都是在等体积条件下测定的, 所以我们可以用 Cr(VI) 浓度代替其含量来计算解吸率, 如表 1 所示。

Table 1 The desorption of Cr(VI) by sodium hydroxide

pH	$c/\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	$c_{d_0}/\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	$c_d/\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	$\eta/\%$
7.0	10	0	0	0
8.0	10	0	0	0
9.0	10	0	1.36	13.6
10.0	10	0	2.52	35.2
11.0	10	0	5.71	57.1
12.0	10	0	6.79	67.9
13.0	10	0	6.73	67.3

$$\eta = (c_{d_0} - c_d) / c \times 100\%$$

其中, c_{d_0} 是解吸附前溶液中 Cr(VI) 的浓度, c_d 是解吸附后溶液中 Cr(VI) 的浓度, c 是被吸附的 Cr(VI) 的浓度, η 是解吸率。在 pH 9~12 时, 被吸附的 Cr(VI) 可被解吸附, 解吸率为 13.6%~67.9%。

2.4 吸附 Cr(VI) 前后及解吸附后 ZL5-2 的红外光谱分析^[8]

吸附 Cr(VI) 前的 ZL5-2 的红外光谱如图 4 所示, 3 417 cm^{-1} 处为 OH 的伸缩振动, 由于 ZL5-2 中含有蛋白类物质但含量低于糖类物质, 所以 NH 在该处的伸缩振动被羟基所掩

盖, $2\,928\text{ cm}^{-1}$ 处为 C—H 的伸缩振动, $1\,619\text{ cm}^{-1}$ 处为酰胺 I 基团的伸缩振动, $1\,400\text{ cm}^{-1}$ 处为 C—H 的弯曲振动, $1\,150$, $1\,079$, $1\,038\text{ cm}^{-1}$ 处为各种羟基中 C—O, C—OH 等的伸缩振动。

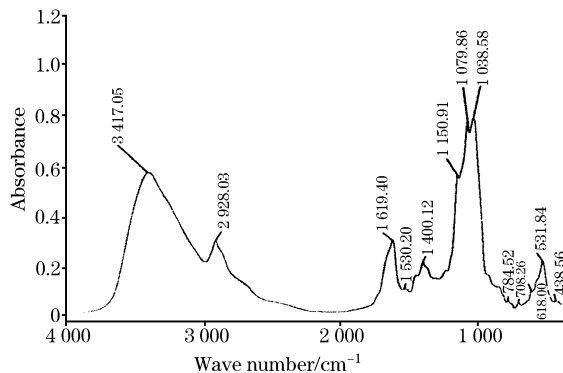


Fig. 4 Infrared spectrum of ZL5-2

吸附 Cr(VI) 后的 ZL5-2 红外光谱如图 5 所示, $3\,425\text{ cm}^{-1}$ 处为 OH 的伸缩振动, 羟基结合 Cr(VI) 后, ν_{OH} 相对强度减弱, 并发生约 8 cm^{-1} 的位移, 表明结合 Cr(VI) 后, 羟基的振动峰强减弱。同样, $2\,973$, $2\,930\text{ cm}^{-1}$ 处的 C—H 伸缩振动的相对强度减弱, $1\,606\text{ cm}^{-1}$ 处的酰胺 I 带相对强度减弱, 并发生约 13 cm^{-1} 的位移。羟基结合了 Cr(VI) 后, C—O,

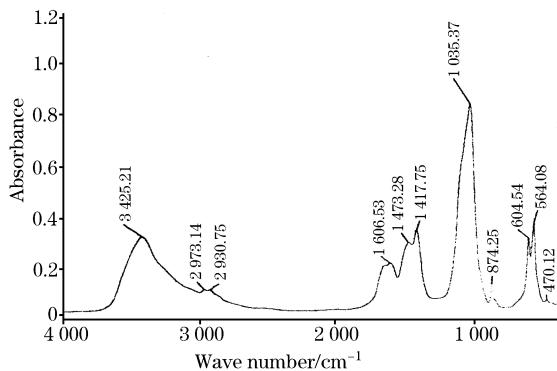


Fig. 5 Infrared spectrum of ZL5-2 which absorbed Cr(VI)

C—OH 等的伸缩振动发生位移, 只在 $1\,035\text{ cm}^{-1}$ 处有一个羟基中 C—O 的伸缩振动。

解吸附后的红外光谱如图 6 所示, Cr(VI) 被解吸附后, 原来与羟基结合的 Cr(VI) 与羟基分开, 所以 $3\,417\text{ cm}^{-1}$ 处 OH 的伸缩振动重又加强, $1\,154$, $1\,080$, $1\,023\text{ cm}^{-1}$ 处羟基 C—O, C—OH 等的伸缩振动重新出现, $2\,928\text{ cm}^{-1}$ 处 C—H 的伸缩振动也恢复到吸附前的水平, 而 $1\,642\text{ cm}^{-1}$ 处的酰胺 I 基团的伸缩振动未恢复到原来水平; 可能由于氨基与 Cr(VI) 结合后构象发生变化, 所以 $3\,417\text{ cm}^{-1}$ 处峰型变窄。

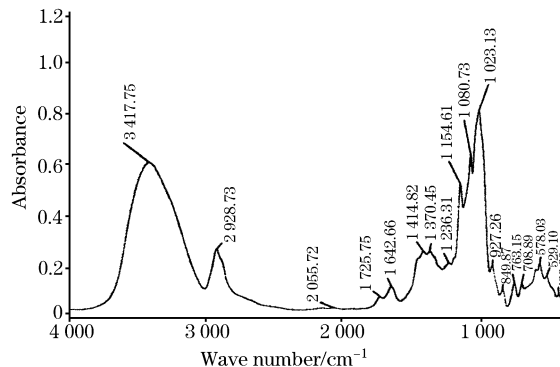


Fig. 6 Infrared spectrum of ZL5-2 which desorbed Cr(VI)

通过对以上吸附 Cr(VI) 前后及解吸附后 ZL5-2 的红外光谱分析, 羟基、氨基、酰胺 I 基团的红外光谱吸收发生了很大变化, 其中羟基的特征峰在解吸附后恢复到吸附前的水平, 而氨基、酰胺 I 基团的特征吸收峰则发生了较大变化。这说明, 聚糖类物质中的羟基在吸附中吸附 Cr(VI), 可能是一种可逆吸附, 改变条件, 被吸附的 Cr(VI) 可以解吸附; 而蛋白质类物质的氨基、酰胺 I 带在吸附中发生的吸附可能是一种不可逆吸附, 在解吸附的条件下, 被吸附的 Cr(VI) 没有被解吸附。分析其原因, 由于氨基、酰胺 I 基团是蛋白质结构中的特征性基团, 在吸附的过程中可能导致了蛋白质构象发生了改变, 从而导致了这种不可逆的吸附。所以 ZL5-2 对 Cr(VI) 的吸附既有可逆吸附又有不可逆吸附, 其中以可逆吸附为主。

参 考 文 献

- [1] WU Juan, LI Qing-biao, DENG Xu, LU Ying-hua(吴 涓, 李清彪, 邓 旭, 卢英华). Ion Exchange and Adsorption(离子交换与吸附), 1998, 14(2): 180.
- [2] HAN Rui-ping, YANG Guan-yu, WANG Miao-li, ZHAO Zhen-jiang(韩瑞平, 杨贯羽, 王妙丽, 赵振江). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(5): 739.
- [3] Dilek F B, Erbay A, Yetis U. Process Biochemistry, 2002, 37: 723.
- [4] Goyal N, Jain S C, Banerjee U C. Advances in Environmental Research, 2003, 7: 311.
- [5] Dvis T A, Volesky B, Mucci A. Water Research, 2003(37): 4311.
- [6] HAN Rui-ping, LI Jian-jun, YANG Guan-yu, BAO Gai-ling(韩瑞平, 李建军, 杨贯羽, 鲍改玲). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(4): 489.
- [7] Chinese Environmental Protection Bureau(国家环保局). Analytical Method for Monitoring Water and Water(水和废水监测分析方法). Beijing: China Environmental Science Press(北京:中国环境科学出版社), 1989.
- [8] ZHANG Shu-liang, YI Da-nian, WU Tian-ming(张叔良, 易大年, 吴天明). Infrared Spectroscopic Analysis and Technique(红外光谱分析与新技术). Beijing: Chinese Medicine Scientific and Technological Press(北京:中国医药科技出版社), 1993.

Infrared Spectra Analysis of Chromium Cation Biosorbed by Biosorbent ZL5-2

LI Qiang, ZHANG Yu-zhen*, CHEN Ming

State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, China

Abstract Biosorption of Cr(VI) by the novel biosorbent ZL5-2 produced by *Agrobacterium. sp* was studied, and infrared spectra of native, absorbing and desorbing ZL5-2 were compared. The initial pH was important for biosorption. The optimum effect on Cr(VI) biosorption was acquired within initial pH 0.5-1.5, then with the pH increasing, the effect on Cr⁶⁺ biosorption was reduced. The biosorption for Cr(VI) was a quick process, only within 10 min 65.4% Cr(VI) was biosorbed, and the biosorption was in equilibrium after 60 min, then all the Cr(VI) was biosorbed after 80 min. The absorbed Cr(VI) could be recovered by desorption, and the desorption rate reached 13.6%-67.9%. The absorbance peak around 3 400 cm⁻¹, which reflected OH stretching vibration, moved about 8 cm⁻¹, and its absorbance decreased; the absorbance peak around 2 900 cm⁻¹ decreased, which reflected C—H stretching vibration; and the absorbance peak around 1 600 cm⁻¹, which reflected amide I group stretching vibration, moved about 13 cm⁻¹, and its absorbance decreased. After desorption, the absorbance peaks which reflected OH and C—H were increased to the initial degree, and the absorbance peak which reflected NH and amide I group did not increase. Therefore, authors presumed that the process of biosorption was reversible adsorption and irreversible adsorption simultaneously, however the reversible adsorption was more important in the biosorption.

Keywords Biosorbent; Chromium cation; Infrared spectrum; Desorption

(Received Jan. 26, 2004; accepted Mar. 28, 2004)