文章编号：1000-8608(2012)02-0167-08

高效 Ni^{2+} 吸附菌株分离鉴定及特性研究

曲媛媛*，王　腾，李　慧，张　强，周集体

（大连理工大学 工业生态与环境工程教育部重点实验室，辽宁 大连　116024）

摘要： 采用浓度梯度筛选的方法，从活性污泥中筛选到一株能耐受并吸附 Ni^{2+} 的菌株，命名为 Ni-1. 采用单因素法对菌株 Ni-1 的最适培养条件进行了考察，确定培养条件为 $t=30$ ℃，pH=7.0，1.0% 的 NaCl. 考察了菌株 Ni-1 对 Cu^{2+} 和 Ni^{2+} 的吸附性能，并用表面响应法优化了吸附条件. 菌株 Ni-1 吸附 Cu^{2+} 的最优条件为 Cu^{2+} 100 mg/L、投加菌量（湿重）0.85 g、溶液 pH=6.0，在此条件下对 Cu^{2+} 的最大吸附率为 87.13%. 菌株 Ni-1 吸附 Ni^{2+} 的最优条件为 Ni^{2+} 50 mg/L、投加菌量（湿重）0.85 g、溶液 pH=6.0，在此条件下对 Ni^{2+} 的最大吸附率为 84.32%. 实验结果表明该细菌对较低浓度的 Cu^{2+} 和 Ni^{2+} 有较好的吸附性能.

关键词： 耐镍菌株；生物吸附；重金属离子；表面响应法

中图分类号： X172　　**文献标志码：** A

0　引　言

经济发展所造成的环境污染已经成为 21 世纪最重要的问题之一. 电镀、制革、防腐、燃料采矿等工业中的废水中含有大量重金属离子，它们一旦进入环境将会给生态环境和人体健康造成极大的危害. 因此，如何有效地处理含有害金属离子的废水已成为人类共同关注的问题.

传统处理废水中重金属离子的方法有化学沉淀法、离子交换法、电解法等. 但这些方法均存在一定的不足，如：在处理高浓度金属离子废水时运行费用和原料成本相对较高，容易造成二次污染等. 随着生物技术的发展与应用，生物吸附法处理重金属废水以其原料来源丰富、操作简单、成本低、吸附速率快、不造成二次污染等优点而备受关注. 近年来，许多学者研究了藻类、酵母菌、细菌、霉菌[1~3]等对重金属离子的吸附作用，对微生物吸附重金属离子的现象和机理也进行了大量的研究[4~9]，研究表明微生物吸附重金属离子存在静电吸引、络合、沉积和主动运输等作用. 但是这些研究大多以死菌体为研究对象，而对于活菌体的研究报道较少. 本实验室从二沉池污泥中分离出一株对 Ni^{2+} 有较强耐性的菌株，并研究活的菌株对 Ni^{2+} 和 Cu^{2+} 的吸附特性，以期为重金属废水的治理开辟一条新的途径.

1　材料和方法

1.1　材　料

1.1.1　主要仪器　实验所用仪器有 JASCO V-560 型紫外-可见分光光度计（日本）、PB-20 型 pH 计（德国赛多利斯）、ZHWY-2102C 型恒温摇床（上海智城分析仪器制造有限公司）、920-Ⅱ型洁净工作台（上海净化厂）、Avanti™ J-30 Ⅰ型高速低温冷冻离心机（美国 Beckman 公司）、Analyst 700 型原子吸收光谱仪（美国 PerkinElmer 公司）.

1.1.2　试　剂

（1）Ni^{2+} 标准储备液的配制

在 500 mL 去离子水中加入 2.48 g 的 $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$（分析纯），配制成 Ni^{2+} 浓度 1 g/L 的标准储备液备用.

收稿日期： 2010-08-15；　**修回日期：** 2011-12-01.
基金项目： 城市水资源与水环境国家重点实验室开放基金资助项目（QA200811）.
作者简介： 曲媛媛*（1976-），女，博士，副教授，博士生导师，E-mail：qyy007@126.com.

(2)Cu^{2+}标准储备液的配制

在500 mL去离子水中加入1.95 g的$CuSO_4 \cdot 5H_2O$(分析纯),配制成Cu^{2+}浓度1 g/L的标准储备液备用.

1.1.3 菌株和培养基 吸附Ni^{2+}的菌株从大连市春柳河污水处理厂的二沉池污泥中分离、纯化得到.LB培养基(筛选、培养用):蛋白胨10 g/L,酵母粉5 g/L,NaCl 10 g/L.调节pH到7.0左右(配制固体培养基时另加入2%的琼脂),121 ℃灭菌20 min.

1.2 方 法

1.2.1 耐镍菌株的筛选 取10 g二沉池污泥样品放入250 mL锥形瓶中,然后加入90 mL水和0.1 mL Ni^{2+}浓度为1 g/L的标准储备液,搅拌均匀,在30 ℃、150 r/min摇床中培养3~5 d.取培养后菌液0.2 mL,涂布于LB固体培养基上,30 ℃恒温培养3~5 d,挑取单菌落到含有一定浓度Ni^{2+}的LB液体培养基中,如此反复多次,并在此过程中逐渐加大Ni^{2+}的浓度,最终获得可在Ni^{2+}浓度为100 mg/L的LB培养基中正常生长的一株细菌,命名为Ni-1.

1.2.2 生长曲线的测定 采用LB培养基,分装于250 mL锥形瓶中,每瓶100 mL,无菌操作,按2%的接种量接入活化12 h的菌体,做3个平行样,恒温摇床30 ℃、150 r/min下连续培养24 h,每2 h取样,用紫外-可见分光光度计测定菌液的OD_{660},3个平行样取平均值,以未接种的培养基作为参比.最后以培养时间为横坐标,以OD_{660}为纵坐标,绘制菌株生长曲线.

1.2.3 菌株的16S rDNA鉴定 挑取LB培养基平板上生长的单菌落溶于10 μL灭菌水中,99 ℃变性后离心取上清液作为PCR扩增反应模板.使用TaKaRa 16S rDNA Bacterial Identification PCR Kit,以Forward Primer/Reverse Primer 1为引物,扩增目的片段.PCR反应体系总体积为50 μL:PCR Premix, 25 μL; Forward Primer, 0.5 μL; Reverse Primer 2, 0.5 μL;模板DNA, 5 μL;超纯水,19 μL.PCR反应条件:94 ℃预变性5 min;经过30个循环,其中94 ℃变性1 min,55 ℃退火1 min,72 ℃延伸1.5 min;30个循环后,再于72 ℃延伸5 min,取5 μL PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳,EB染色后紫外检测.使用TaKaRa Agarose Gel DNA Purification Kit Ver. 2.0(大连宝生物公司TaKaRa)切胶回收PCR产物.16S rDNA的测序工作由大连宝生物公司完成,将测得的序列用BLAST软件与已知的16S rDNA基因序列进行同源性比较,采用RDP Ⅱ数据库的Classifier程序进行归类,并用Clustal X 1.8软件进行系统发育树的构建[10].

1.2.4 环境条件对菌株生长的影响 考察了培养液盐度、pH等因素对菌株生长的影响.

(1)在250 mL锥形瓶中装入100 mL pH=7.0的LB培养基,其中NaCl含量分别为1%、3%、5%、8%、10%、12%、15%.按2%的接种量接入活化12 h的菌体,于30 ℃、150 r/min摇床培养24 h,用紫外-可见分光光度计测定OD_{660}.

(2)在250 mL锥形瓶中装入100 mL的LB培养基,调节pH分别为4、5、6、7、8、9、11.按2%的接种量接入活化12 h的菌体,于30 ℃、150 r/min摇床培养24 h,用紫外-可见分光光度计测定OD_{660}.

1.2.5 金属离子的定量测定 Cu^{2+}和Ni^{2+}的浓度采用原子吸收光谱仪测定.设置原子吸收光谱仪的主要参数,乙炔气流速2 L/min,空气流速17 L/min,换上相应离子所用的灯,狭缝设为0.7 H,测定相应离子的最大吸收波长(Cu^{2+}为324.8 nm,Ni^{2+}为341.5 nm)处样品的吸光度,重复3次取平均值.用标准样品绘制相应离子的浓度与吸光度的标准曲线,测得的样品吸光度根据标准曲线得出对应的离子浓度,并计算吸附率.

1.2.6 湿菌体对重金属离子的吸附性能 根据文献报道,影响湿菌体吸附性能的因素有很多,其中包括:吸附时间、湿菌体的量、起始金属离子浓度、pH、吸附温度等[11].研究发现,该耐镍菌的吸附平衡时间与其他因素无关,且在2 h后即可达到吸附平衡并在一定时间内保持不变,因此在实验过程中选取2 h作为吸附时间.此外,吸附温度对吸附性能基本无影响.而其他因素在吸附过程中存在相互影响,因此对湿菌体的量、起始金属离子浓度、pH这3个因素之间的相互影响进一步采用表面响应设计的实验方法进行优化.

2　实验结果与讨论

2.1　菌种的选育、生长特性及鉴定

采用浓度梯度驯化法，经过多次传代驯化、反复平板涂布，分离纯化到一株对 Ni^{2+} 有较好耐受性的菌株，命名为 Ni-1. 菌株 Ni-1 在固体培养基上菌落呈无色透明的圆形小点，表面平滑，边缘整齐，易挑起. 由细胞电镜照片可知，菌株 Ni-1 的细胞为长杆状，无鞭毛. 其生长曲线见图 1.

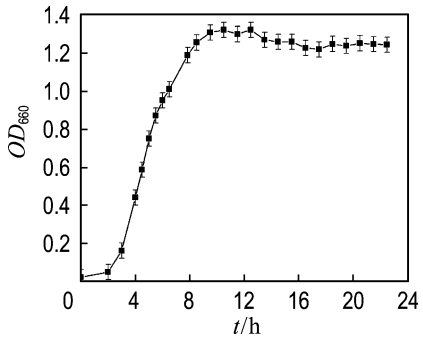


图 1　菌株 Ni-1 的生长曲线

Fig. 1　Time course of growth of strain Ni-1

由图 1 可知，菌株 Ni-1 在接种 2 h 后即达到对数生长期；接种 8 h 后达到稳定期，且稳定期较长，可持续 16 h 以上.

以菌株 Ni-1 的单菌落 99 ℃处理 10 min 释放的总 DNA 为模板，利用 16S rDNA 通用引物进行 PCR 扩增，得到长度约 1 500 bp 的 PCR 产物，将 PCR 产物进行切胶回收后直接测序，测得序列长为 1 456 bp. 将菌株 Ni-1 的 16S rDNA 序列用 RDP Ⅱ数据库的 Classifier 程序进行归类，结果表明菌株 Ni-1 为 Proteobacteria 门（变形菌门）、Gammaproteobacteria 纲（γ-变形菌纲）、Enterobacteriales 目（肠杆菌目）、Enterobacteriaceae 科（肠杆菌科）、*Enterobacter* 属（肠杆菌属）. 应用 NCBI 数据库中 BLAST 进行相似性分析，结果表明菌株 Ni-1 的 16S rDNA 序列与 GenBank 中 *Enterobacter hormaechei* subsp. *steigerwaltii* 的序列相似性达 100%；同时与 *Enterobacter hormaechei* 菌种的多个菌株都具有较高的相似性（大于 95%）. 为了确定菌株 Ni-1 的系统发育位置，选取了一些与之同源性较高的基因序列进行系统进化树的构建，如图 2 所示.

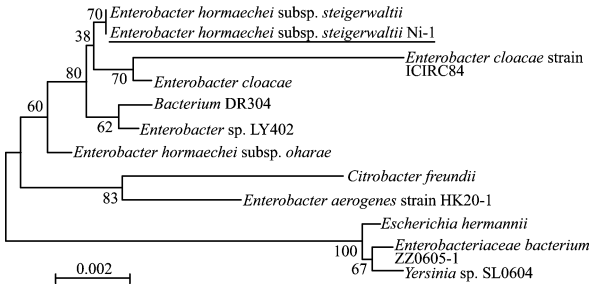


图 2　菌株 Ni-1 的系统发育树

Fig. 2　Phylogenetic tree of strain Ni-1

2.2　环境条件对菌株生长的影响

培养基中 NaCl 浓度对菌株 Ni-1 生长的影响如图 3 所示，从中可以看出菌株 Ni-1 的最适 NaCl 质量分数为 1%，NaCl 浓度的增加会抑制菌株 Ni-1 的生长，但其对 8% 的 NaCl 仍有较高的耐受性. 培养基 pH 对菌株 Ni-1 生长的影响如图 4 所示，从中可以看出菌株 Ni-1 的最适 pH 范围较广，在 4～9 的范围内都能较好生长.

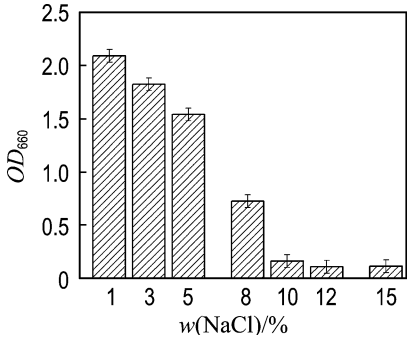


图 3　NaCl 对菌株 Ni-1 生长的影响

Fig. 3　Effects of NaCl on the growth of strain Ni-1

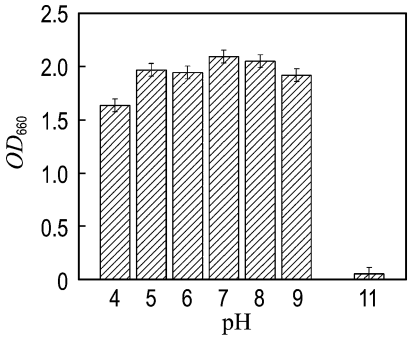


图 4　pH 对菌株 Ni-1 生长的影响

Fig. 4　Effects of pH on the growth of strain Ni-1

2.3　表面响应法优化菌株 Ni-1 生物吸附 Cu^{2+}

（1）响应结果及方差分析

表面响应设计的实验结果见表 1，应用软件

Design Expert 7.1.3 对数据进行回归分析，拟合出响应目标的真实值函数：

$$Y = -68.354\,74 - 0.208\,72A + 118.374\,80B + 31.268\,35C - 0.382\,88AB - 0.015\,562AC + 4.312\,50BC + 0.000\,837\,238A^2 - 1.588\,39B^2 - 2.755\,71C^2$$

其中 Y 为 Cu^{2+} 吸附率，A 为 Cu^{2+} 浓度，B 为菌株 Ni-1 的投加量(湿重)，C 为溶液 pH. 根据此式进行计算，得到 Cu^{2+} 吸附率的预测值，列于表 1.

表 1 表面响应设计条件及结果(Cu^{2+})

Tab. 1 Experimental design and results of response surface methodology (Cu^{2+})

No.	A/(mg·L^{-1})	B/g	C	Y/%	
				实验值	预测值
1	300.00	0.25	4.00	16.78	11.78
2	300.00	0.25	6.00	18.67	12.02
3	100.00	0.85	6.00	83.73	87.13
4	200.00	1.05	5.00	56.22	60.06
5	200.00	0.55	5.00	29.65	29.65
6	100.00	0.25	6.00	15.54	24.60
7	31.82	0.55	5.00	94.41	80.61
8	100.00	0.85	4.00	70.44	75.49
9	200.00	0.55	6.68	27.51	26.86
10	200.00	0.05	5.00	0	0
11	300.00	0.85	4.00	33.85	23.19
12	200.00	0.55	5.00	29.56	29.65
13	200.00	0.55	3.32	13.93	16.88
14	200.00	0.55	5.00	29.16	29.65
15	100.00	0.25	4.00	13.74	18.14
16	200.00	0.55	5.00	29.04	29.65
17	368.18	0.55	5.00	9.98	26.04
18	200.00	0.55	5.00	30.38	29.65
19	200.00	0.55	5.00	30.47	29.65
20	300.00	0.85	6.00	34.60	28.60

应用软件 Design Expert 7.1.3 对数据进行方差分析，并对 F 值、P 值、R^2、调整后 R^2、变异系数进行检验，进而证明模型的显著性. 本模型的 F 值为 14.17，对应的 P 值为 0.000 1，表明模型具有显著性. 模型复相关系数的平方 R^2 为 0.927 3，说明该模型有 92.73% 的可信度，最多只有约 7.27% 的变化不能用此模型来解释，显著性较好. 调整后 R^2 为 0.861 8，说明实验值和预测值之间有较高的一致性. 变异系数为 27.41%，说明实验基本操作可信，存在一定误差，但在可接受范围内.

对各因素的方差分析结果见表 2，其中因子 A、B、AB、A^2 的 P 值均小于 0.05，表明上述因子与响应值显著相关，即 Cu^{2+} 浓度和投加的 Ni-1 菌量对 Cu^{2+} 的生物吸附有重要影响.

表 2 方差分析(Cu^{2+})

Tab. 2 Analysis of variance (Cu^{2+})

因子	自由度	总偏差平方和	平均偏差平方和	F 值	P 值 ($p>F$)
模型	9	10 672.57	1 185.842	14.165 58	0.000 1
A	1	3 593.92	3 593.92	42.931 52	<0.000 1
B	1	4 666.239	4 666.239	55.741 01	<0.000 1
C	1	120.512 6	120.512 6	1.439 595	0.257 9
AB	1	1 055.472	1 055.472	12.608 24	0.005 3
AC	1	19.375 31	19.375 31	0.231 45	0.640 8
BC	1	13.390 31	13.390 31	0.159 955	0.697 6
A^2	1	1 010.184	1 010.184	12.067 25	0.006 0
B^2	1	0.294 512	0.294 512	0.003 518	0.953 9
C^2	1	109.438 8	109.438 8	1.307 312	0.279 5

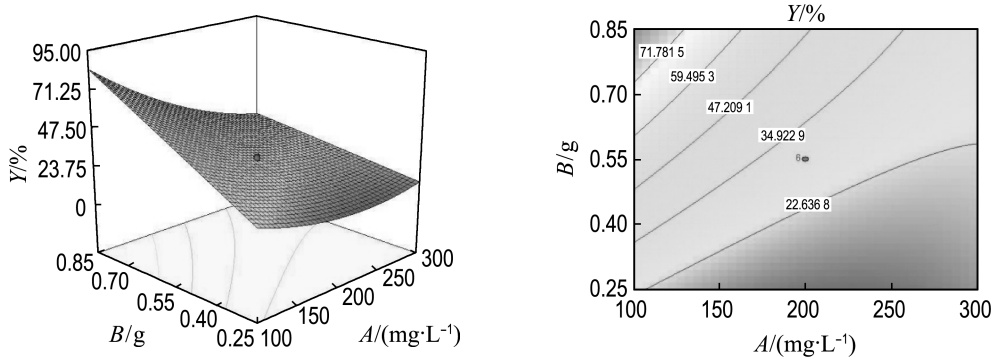
(2) 各因素对吸附率的影响及最优值预测

利用 Design Expert 7.1.3 软件得出三因素间两两相互作用的三维响应图和平面等高线图，如图 5 所示.

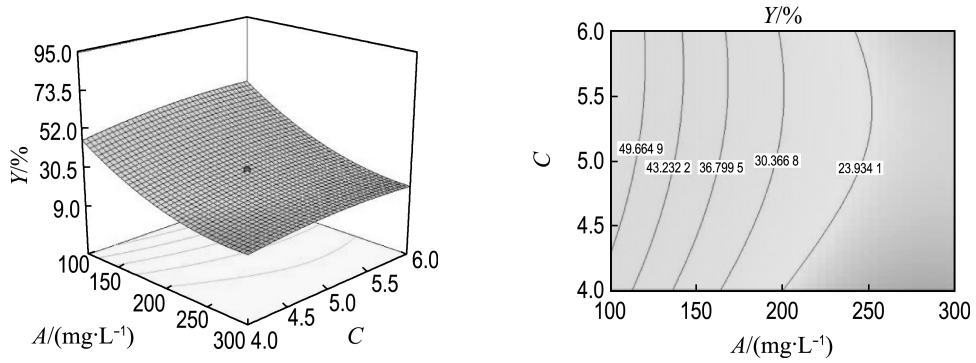
从图 5(a)、(b)中可以看出，Cu^{2+} 浓度由 100 mg/L 增至 300 mg/L 时，菌株 Ni-1 对 Cu^{2+} 的吸附率逐渐减小，在 Cu^{2+} 浓度为 100 mg/L 时，吸附率最大.

从图 5(a)、(c)中可以看出，当菌株 Ni-1 的投加量由 0.25 g 增至 0.85 g 时，吸附率逐渐增大. 随着接种量的增加，菌体的表面积和吸附活性位点随之增加，提高了菌体对金属离子的瞬间吸附能力.

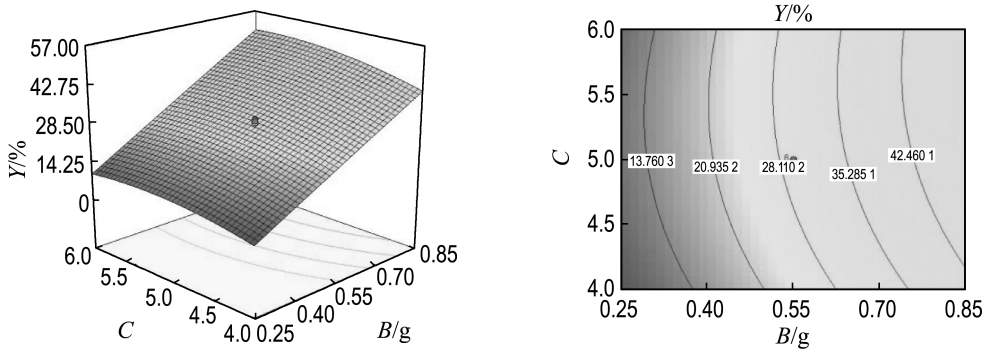
从图 5(b)、(c)中可以看出，随着溶液 pH 的增加，菌株 Ni-1 对 Cu^{2+} 的吸附能力稍有增强，但不明显，当 pH 为 6.0 时，吸附率最大. 溶液 pH 变化对 Cu^{2+} 吸附率影响较小，这也与拟合的模型参数中因子 C(溶液 pH)的 P 值为 0.257 9(大于 0.05) 属于非显著性因子的结果相一致. 据报道，



(a) pH 为 5.0 时，Cu^{2+} 浓度和投加菌量相互作用的三维响应图与平面等高线图



(b) 投加菌量为 0.55 g 时，Cu^{2+} 浓度和溶液 pH 相互作用的三维响应图与平面等高线图



(c) Cu^{2+} 浓度为 200 mg/L 时，投加菌量和溶液 pH 相互作用的三维响应图与平面等高线图

图 5　表面响应结果的三维响应图和平面等高线图(Cu^{2+})

Fig. 5　3D response surface plots and 2D contour plots for the interactive effects (Cu^{2+})

当 pH 较低时，H^+ 与 Cu^{2+} 竞争磷酸基团、羟基和氨基等活性吸附位点，从而降低了菌株对 Cu^{2+} 的吸附能力；随着溶液 pH 增加，H^+ 与细胞壁上的官能团分离，产生的大量带负电荷的基团与金属离子配位络合使得吸附能力增强[12]. 但当 pH 过大时，金属离子的活度与 OH^- 的活度乘积大于重金属离子的 K_{sp}，重金属离子会形成氢氧化物沉淀，难以发生吸附现象.

经模型预测得出菌株 Ni-1 吸附 Cu^{2+} 的最优条件为 Cu^{2+} 浓度为 100 mg/L、投加菌量为 0.85 g (湿重)、溶液 pH 为 6.0. 在此条件下菌株 Ni-1 对 Cu^{2+} 最大吸附率为 87.13%.

2.4　表面响应法优化菌株 Ni-1 生物吸附 Ni^{2+}

(1) 响应结果及方差分析

表面响应设计的实验结果见表 3，应用软件 Design Expert 7.1.3 对数据进行回归分析，拟合出响应目标的真实值函数：

$$Y = -29.056\,08 - 0.407\,92A + 70.740\,64B + 28.673\,54C -$$

$$0.435\,17AB - 0.053\,550AC + 13.429\,17BC + 0.003\,357\,55A^2 - 49.967\,41B^2 - 2.906\,08C^2$$

其中 Y 为 Ni^{2+} 吸附率，A 为 Ni^{2+} 浓度，B 为菌株 Ni-1 的投加量(湿重)，C 为溶液 pH. 根据此式进行计算，得到 Ni^{2+} 吸附率的预测值，列于表 3.

应用软件 Design Expert 7.1.3 对数据进行方差分析，并对 F 值、P 值、R^2、调整后 R^2、变异系数进行检验，进而证明模型的显著性. 本模型的 F 值为 35.95，对应的 P 值<0.000 1，表明模型具有显著性. 模型的复相关系数的平方 R^2 为 0.970 0，说明该模型有 97%的可信度，最多只有 3%的变化不能用此模型来解释，显著性很好. 调整后 R^2 为 0.943 0，说明实验值和预测值之间有很高的一致性. 变异系数为 8.33%，说明实验基本操作可信，误差很小.

表 3 表面响应设计条件及结果(Ni^{2+})

Tab. 3 Experimental design and results of response surface methodology (Ni^{2+})

No.	A/(mg·L^{-1})	B/g	C	Y/%	
				实验值	预测值
1	75.00	0.55	5.00	54.53	52.64
2	117.04	0.55	5.00	36.36	41.28
3	100.00	0.85	4.00	48.64	43.20
4	100.00	0.25	4.00	28.88	27.62
5	50.00	0.85	6.00	87.73	84.32
6	50.00	0.85	4.00	69.50	67.62
7	75.00	0.55	5.00	54.68	52.64
8	75.00	0.55	3.32	35.31	39.43
9	50.00	0.25	4.00	41.08	38.98
10	75.00	0.55	5.00	52.67	52.64
11	75.00	0.55	6.68	46.93	49.45
12	75.00	0.55	5.00	53.96	52.64
13	32.96	0.55	5.00	74.19	75.87
14	75.00	0.55	5.00	50.62	52.64
15	75.00	1.05	5.00	59.64	65.29
16	75.00	0.05	5.00	13.60	15.01
17	100.00	0.85	6.00	57.12	54.55
18	100.00	0.25	6.00	25.64	22.85
19	75.00	0.55	5.00	50.53	52.64
20	50.00	0.25	6.00	38.80	39.57

对各因素的方差分析结果见表 4，其中因子 A、B、C、AB、BC、B^2、C^2 的 P 值均小于 0.05，表明上述因子与响应值显著相关，即 Ni^{2+} 浓度、投加的 Ni-1 菌量和溶液 pH 均对 Ni^{2+} 的生物吸附有重要影响.

(2) 各因素对吸附率的影响及最优值预测

利用 Design Expert 7.1.3 软件得出三因素间两两相互作用的三维响应图和平面等高线图，如图 6 所示.

从图 6(a)、(b)中可以看出，Ni^{2+} 浓度由 50 mg/L 增至 100 mg/L 时，菌株 Ni-1 对 Ni^{2+} 的吸附率逐渐减小，在 Ni^{2+} 浓度为 50 mg/L 时，吸附率最大.

表 4 方差分析(Ni^{2+})

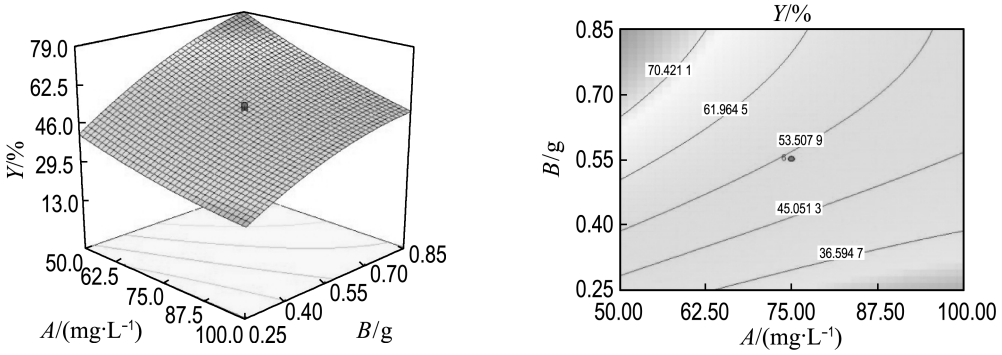
Tab. 4 Analysis of variance (Ni^{2+})

因子	自由度	总偏差平方和	平均偏差平方和	F 值	P 值 ($p>F$)
模型	9	5 395.11	599.46	35.95	<0.000 1
A	1	1 444.46	1 444.46	86.63	<0.000 1
B	1	3 107.90	3 107.9	186.40	<0.000 1
C	1	121.49	121.49	7.29	0.022 3
AB	1	85.22	85.22	5.11	0.047 3
AC	1	14.34	14.34	0.86	0.375 6
BC	1	129.85	129.85	7.79	0.019 1
A^2	1	63.46	63.46	3.81	0.079 6
B^2	1	291.45	291.45	17.48	0.001 9
C^2	1	121.71	121.71	7.30	0.022 2

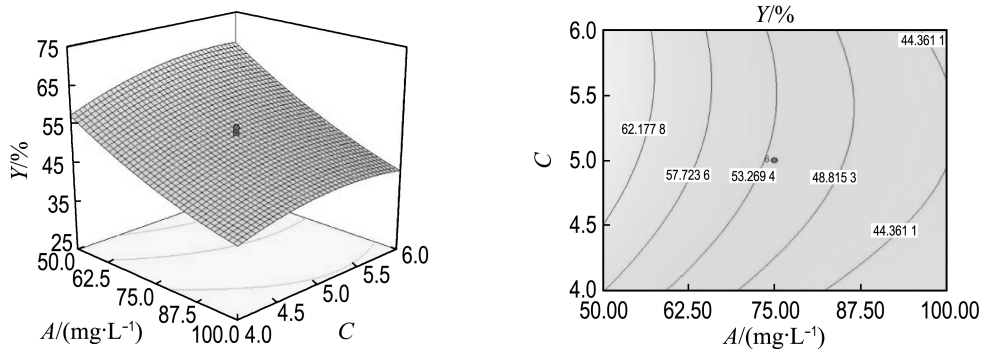
从图 6(a)、(c)中可以看出，当菌株 Ni-1 的投加量由 0.25 g 增至 0.85 g 时，吸附率逐渐增加.

从图 6(b)、(c)中可以看出，随着溶液 pH 的增加，菌株 Ni-1 对 Ni^{2+} 的吸附能力稍有增强，当 pH 为 6.0 时，吸附率最大.

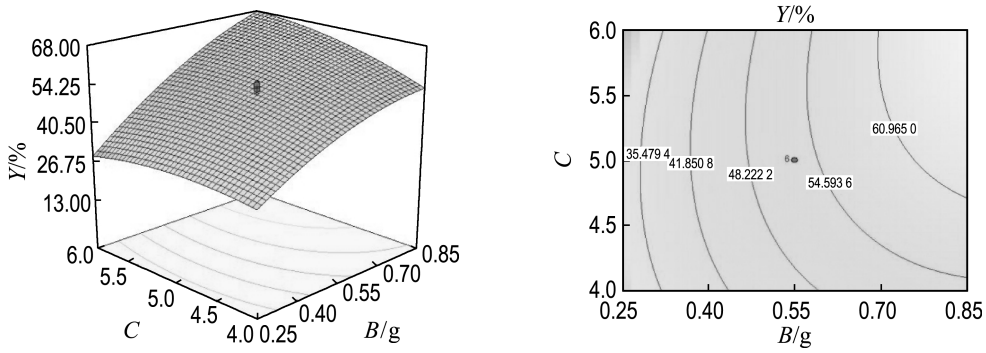
经模型预测得出菌株 Ni-1 吸附 Ni^{2+} 的最优条件为 Ni^{2+} 浓度为 50 mg/L、投加菌量为 0.85 g (湿重)、溶液 pH 为 6.0. 在此条件下菌株 Ni-1 对 Ni^{2+} 最大吸附率为 84.32%.



(a) 溶液 pH 为 5.0 时，Ni^{2+} 浓度和投加菌量相互作用的三维响应图与平面等高线图



(b) 投加菌量为 0.55 g 时，Ni^{2+} 浓度和溶液 pH 相互作用的三维响应图与平面等高线图



(c) Ni^{2+} 浓度为 75 mg/L 时，投加菌量和溶液 pH 相互作用的三维响应图与平面等高线图

图 6　表面响应结果的三维响应图和平面等高线图(Ni^{2+})

Fig. 6　3D response surface plots and 2D contour plots for the interactive effects (Ni^{2+})

3　结　论

(1)对菌株 Ni-1 的 16S rDNA 序列进行鉴定，初步确定菌株 *Enterobacter hormaechei* subsp. *steigerwaltii* Ni-1 属于 Proteobacteria 门、Gammaproteobacteria 纲、Enterobacteriales 目、Enterobacteriaceae 科、*Enterobacter* 属. 其 16S rDNA 序列登录 GenBank 数据库，注册号为 HM446004.

(2)菌株 Ni-1 在 100 mg/L Ni^{2+} 存在的固体培养基上即能很好地生长，菌落呈淡黄色透明的圆形小点，表面平滑，边缘整齐，易挑起. 在 LB 培养基中富集培养时，最适 NaCl 质量分数为 1%，并且对盐度有较高的耐受性，在 NaCl 质量分数为 8%以下时都能较好生长；其最适 pH 范围较广，在 pH＝4～9 时都能较好生长.

(3) 利用表面响应法优化吸附条件，得出菌株 Ni-1 吸附 Cu^{2+} 的最优条件为 Cu^{2+} 浓度为 100 mg/L、投加菌量为 0.85 g(湿重)、溶液 pH 为 6，在此条件下对 Cu^{2+} 最大吸附率为 87.13%. 菌株 Ni-1 吸附 Ni^{2+} 的最优条件为 Ni^{2+} 浓度为 50 mg/L、投加菌量为 0.85 g(湿重)、溶液 pH 为 6.0，在此条件下对 Ni^{2+} 最大吸附率为 84.32%. 菌株 Ni-1 对

Cu^{2+}和Ni^{2+}均具有较好的耐受性和吸附性能，可作为一种新的微生物资源用于重金属废水的研究，为重金属污染废水的实际处理提供一定的基础.

参考文献：

[1] GADD G M. Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms [J]. **Cellular and Molecular Life Sciences**, 1990, **46**(8):834-840

[2] KAPOOR A, VIRARAGHAVAN T. Fungal biosorption — An alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review [J]. **Bioresource Technology**, 1995, **53**(3):195-206

[3] HOLAN Z R, VOLESKY B. Biosorption of lead and nickel by biomass of marine algae [J]. **Biotechnology and Bioengineering**, 1994, **43**(11):1001-1009

[4] HOLAN Z R, VOLESKY B, PRASETYO I. Biosorption of cadmium by biomass of marine algae [J]. **Biotechnology and Bioengineering**, 1993, **41**(8): 819-825

[5] KRATOCHVIL D, VOLESKY B. Advances in the biosorption of heavy metals [J]. **Trends in Biotechnology**, 1998, **16**(7):291-300

[6] 吴 涓,李清彪,邓 旭,等. 重金属生物吸附的研究进展[J]. 离子交换与吸附, 1998, **14**(2):180-187

[7] GUIBAL E, ROULPH C, CLOIREC P L. Uranium biosorption by a filamentous fungus *Mucor miehei* pH effect on mechanisms and performances of uptake [J]. **Water Research**, 1992, **26**(8):1139-1145

[8] TESZOS M, VOLESKY B. The mechanism of uranium biosorption by *Rhizopu arrhizus* [J]. **Biotechnology and Bioengineering**, 1982, **24**(2): 385-401

[9] PODDA F, ZUDDAS P, MINACCI A, *et al*. Heavy metal coprecipitation with hydrozincite [$Zn_5(CO_3)_2(OH)_6$] from mine waters caused by photosynthetic microorganisms [J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2000, **66**(11): 5092-5098

[10] SAITOU N, NEI M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. **Molecular Biology and Evolution**, 1987, **4**(4):406-425

[11] 何宝燕. 重金属铬、镍废水的生物吸附研究[D]. 广州:暨南大学, 2006

[12] ÖZCAN A, ÖZCAN A S, TUNALI S, *et al*. Determination of the equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters of adsorption of copper(Ⅱ) ions onto seeds of *Capsicum annuum* [J]. **Journal of Hazardous Materials**, 2005, **124**(1-3):200-208

Isolation, identification and characterization of an efficient nickel-accumulating strain

QU Yuan-yuan*, WANG Teng, LI Hui, ZHANG Qiang, ZHOU Ji-ti

(Key Laboratory of Industrial Ecology and Environmental Engineering, Ministry of Education, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: A strain capable of tolerating and adsorbing nickel, which was named Ni-1, was isolated from activated sludge by concentration gradient screening technique. According to the single-factor experiments, the optimum growth conditions are obtained as follows: temperature 30 ℃, pH=7.0, sodium chloride concentration 1.0%. Subsequently, the adsorption capability of strain Ni-1 for Cu^{2+} and Ni^{2+} was investigated, and the absorption conditions were optimized using response surface methodology (RSM). The optimal conditions for Cu^{2+} absorption by strain Ni-1 are as follows: 100 mg/L Cu^{2+}, 0.85 g strain Ni-1 (wet weight), and pH=6.0. Under the optimized conditions, the absorption rate of Cu^{2+} can achieve 87.13%. The optimal conditions for Ni^{2+} absorption by strain Ni-1 are as follows: 50 mg/L Ni^{2+}, 0.85 g strain Ni-1 (wet weight), and pH=6.0. Under the optimized conditions, the absorption rate of Ni^{2+} can achieve 84.32%. Experimental results indicate that strain Ni-1 has good adsorption capacity for Cu^{2+} and Ni^{2+} at low concentrations.

Key words: nickel-tolerant strains; biosorption; heavy metal ions; response surface methodology