

The Fungus Biological Materials of Efficient Adsorption of Heavy Metals in Sewage

Xinsheng He, Qi Lin, Junjuan Zheng, Chunyan Jiang

School of life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan, China, 621010

Abstract: The pure strains has been artificial purified from collected local wild red oyster mushroom specimens, then a single spore strains has obtained by cultivation of the fruiting body of the pure strains. Through the hybridization of single spores, numbers of new strains in which the content of cellulose of the fruiting bodies was more than 25% has obtained. The straw, wheat straw, sawdust and other materials in the 1% lime treatment with 24h then inoculation, the new strains can grow in temperature range of 15 to 38°C and can turn into mushroom after 20~25d. The production of the dry mushroom is 20% to 25% of dry weight of raw materials. Crushed the cultivation of fruiting bodies, with treatment of the acid and alkali, mushroom fiber has obtained by the later crushing. The production of mushroom fiber is about 20% of the dry mushroom. By using the mushroom fiber powder as bio-absorption materials, such as copper, zinc, chromium, mercury concentration of 1~250mg/L of heavy metals in waste water can be treated, of which the absorption rate is 60% to 80%; of which the adsorption rate is 50% to 70% in treatment concentration of 1~250mg/L of uranium and other radionuclide waste water. The effect of the adsorption is stable. The absorbed heavy metals and radionuclide with acid elution, the efficiency rate of which is higher than 95%, are easily recycled. This material has not only a promising future in the treatment of waste water, special industrial waste water, waste water in the nuclear environment but also has a great significance for environmental protection.

Keywords: red oyster mushroom; Mushroom fiber; copper, zinc, chromium; biological adsorbents

高效吸附污水中重金属的真菌生物材料

贺新生 林 琦 郑俊娟 蒋春燕

西南科技大学生命科学与工程学院, 绵阳, 四川, 中国, 621010

摘 要: 采集本地野生红平菇标本, 人工分离纯化得到纯菌种, 从栽培的子实体上获得单孢菌株, 用单孢菌株进行杂交, 获得子实体纤维素含量在 25% 以上的新菌株多个。在用稻草、麦草、木屑等原料经 1% 石灰水处理 24h 后接种, 生长温度在 15~38 范围内, 20~25d 后出菇, 干菇产量为原料干重的 20%~25%。将栽培的子实体粉碎, 用酸、碱处理后, 再粉碎得到菇纤原料, 成品得率为干菇原料的 20% 左右。用菇纤粉作生物吸附材料, 处理, 如铜、锌、铬、汞等浓度为 1~250mg/L 的重金属废水, 吸附率为 60%~80%; 处理浓度为 1~250mg/L 的铀等核素废水, 吸附率为 50%~70%; 效果稳定。吸附后的重金属、核素用酸溶液洗脱, 洗脱效率在 95% 以上, 回收方便。该材料在生活废水、特种工业废水、核环境废水等的处理中具有广阔的应用前景, 对环境保护具有重要意义。

关键词: 红平菇; 菇纤; 铜; 锌; 铬; 生物吸附

引言

高等担子菌吸附重金属和放射性核物质的能力非常强, 生长在重金属污染区的担子菌, 其体内重金属浓度比土壤高 100~500 倍。在文献中有利用各种微生物及相关生物聚合物生物吸着 U 的报道。这些研究证

明, 来自于丝状真菌、藻类、细菌的各种生物量, 能够吸收或结合的 U, 超过生物量和干重的 15%。与传统的吸附、离子交换、化学沉淀、溶剂提取和反渗透相比, 大于生物量和干重 15% 的金属负荷容量, 被定义为是生物吸着实践应用的经济价值。研究发现, 生长在重金属污染区的担子菌, 其体内重金属浓度比土壤高 100~500 倍^[1,2]。高级担子菌吸附重金属和放射性

资助信息: 西南科技大学博士点建设基金资助。

核物质的能力极强,其几丁质的吸附性能比虾蟹还强。

高等担子菌纤维在加工过程中保留一定数量的黑色素和葡萄糖,可使它们同纤维主体几丁质结合成复合材料,这种材料的吸附性能最佳^[2,3]。

用高等担子菌为原料生产生物吸附剂,菌类生长速度快,进行人工栽培产量很高,故原料丰富。在制作生物吸附剂的过程中也不产生污染环境的副产物。在此意义上,它属于一种绿色产品,且成本低廉。用菌丝体发酵方法生产真菌菌丝体,干菌丝体产量为发酵液的1%~2%,菌丝体内纤维素、几丁质含量不超过20%,因此菇纤的产量低于0.2%,同时需要1000万元以上的设备和工厂建设,此方法生产菇纤成本相对较高,同时产生大量发酵和加工废水,形成新的污染源。

用子实体方法生产菇纤,子实体产量为干原料的20%~25%,通过人工选育可以获得子实体中纤维素含量在25%以上的新菌株,纤维素生产量为原料重量的5%;红平菇原料由农户生产,不需要特色设备,生产鲜菇可以获利0.5元~1元/kg,利润高达50%;工厂收购农户的干菇进行菇纤加工,也不需要大型设备,因此生产菇纤成本相对较低。

笔者在四川都江堰发现了野生红平菇标本,带回实验室通过人工分离得到纯菌种,栽培后发现其外观十分漂亮,但食用后发现口感特别差,无法当成食用菌进行生产。试验发现,该菌抗杂菌污染、抗高温的能力特别强,用稻草直接进行生料栽培,产量很高,1kg稻草可收获1~2kg鲜菇。初步测定干菇中纤维素含量在15%以上。通过查阅文献,发现真菌的纤维素和几丁质对重金属离子的吸附性能很高。可作为处理污水中的重金属、核素的生物吸附材料进行开发。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

原始标本采集地点:都江堰二王庙公园,刺楸树干,经西南科技大学真菌学专家鉴定为:红平菇,学名是:*Pleurotus djamor* (Rumph. : Fr.) Boedijn。组织分离方法获得纯菌株。原始菌株编号: Pd.723,菌种保存于四川大学生命学院菌种中心、中国科学院微生物研究所国家普通微生物菌种保藏中心。

1.2 培养基配方

松针培养基:鲜松针 100~200g 洗净,加水 1000mL 煮沸 30min,纱布过滤,取滤液,另加葡萄糖 20g,

蛋白胨 5g,琼脂 20g,分装于试管中,用脱脂棉封瓶口,0.1~0.15MPa 灭菌 120min。用于菌种分离、转接、单孢分离和杂交试验。

棉子壳培养基:棉子壳,麸皮,石灰,石膏以 78:20:1:1 的比例混合物,调 pH 至 6.0~7.0,分装于出菇瓶中,用塑料薄膜封瓶口,0.1~0.15MPa 灭菌 120min。用于菌种生产、杂交新菌株的出菇试验。

稻草培养基:干稻草 99%,石灰 1%。用于栽培出菇试验。麦草、木屑等原料方法相同。

1.3 单孢分离与杂交—高纤维新菌株的选育

1.3.1 单孢分离

用干酒精棉球擦洗子实体表面 3~5 次。在超净工作台上,用镊子取菌褶 2~3 片挂在事先灭菌好的挂钩上,将挂钩悬挂在无菌空三角瓶中。放于 25℃ 恒温培养,12~24h 后取出菌褶。倒入无菌水震荡,连续稀释到孢子液中只有 5~10 个孢子/mL,在每个有培养基的无菌培养皿中倒入 1ml 左右的孢子液。培养后挑取单个菌落进行转接培养。获得单孢分离物。

1.3.2 单孢分离物的确认

在25℃培养2~3d,100×镜检,观察寻找那些与其它萌发的孢子分隔很远的单个孢子,做一个标记。继续在20~25℃条件下培养,当菌落的直径达到2~3mm时,用接种针挑取菌丝体,分别把它转接到试管中。25℃培养,当菌落长到10~30mm直径时,用显微镜检测各单孢分离物有无锁状联合,有则淘汰。将无锁状联合的试管单独取出,用来做菌株内配对的单孢分离物,共获得20个单孢菌株。

1.3.3 杂配对试验

将各单孢分离物的菌丝体各取一小块,两两接入一支试管斜面培养基上,接种块相距 10~15mm,经过 10~15d 培养,100×镜检,观察菌丝接触带上出现锁状联合的就是亲和性的配对。

1.3.4 出菇培养

当每支试管中的两个单孢分离物菌丝体充分接触后,将它们放在 10~20℃的室内,保持一定的散射光照,观察 3~6 周,检查试管中子实体原基的形成情况。对能够在试管内出菇的菌株进行转接,培养,编号,选择 30 个新菌株在棉子壳培养基上,用 500mL 罐头瓶进行出菇试验,每瓶装棉子壳培养基干料 125g,重复 5 瓶,只采收 1 批菇,出菇后测定子实体中纤维素含量。

1.4 栽培出菇试验

选择高纤维素含量的新菌株在稻草、麦草、木屑培养基上进行出菇试验,将原料用1%石灰水浸泡24h,捞起沥干明水,装于容器或大塑料薄膜中,进行规模化栽培试验,每个菌株投料3kg,每1kg为1次重复,共3次重复。菌丝体、子实体生长按照食用菌生产的常规技术进行管理,出菇3批。采集的新鲜子实体先晒干,后80℃烘干24h,测定子实体干重。子实体产量=干菇重量/原料干重×100%。

1.5 子实体中纤维素的分离—菇纤的制备技术

试剂: 硝酸乙醇混合液[用洁净、干燥量筒取80mL95%的乙醇倒在1000mL烧杯中,然后量取20mL硝酸(比重1.42)徐徐分次倾入乙醇中,每次加入约10mL,并用玻璃棒搅匀后可继续加,使之全部硝酸加入乙醇后,再用玻璃棒充分混匀,冷后贮于棕色瓶中];1.25%KOH溶液。

纤维素测定方法: 将样品各取1.00g装入250mL的锥形瓶中,并加入25mL硝酸乙醇混合液。装上回流冷凝器,置于沸水浴上加热1h,在加热过程中,随时摇荡锥形瓶,以防止残渣蹦跳。移去冷凝管,并将锥形瓶从水浴上取下,静置片刻,以使残渣沉积于瓶底。然后用倾泻法滤在已恒重过的砂芯漏斗中,尽量不使残渣流出。抽滤后残渣再加25mL硝酸乙醇混合液,分数次将滤器中的残渣尽量洗回到锥形瓶中,装上回流冷凝器,再在沸水浴上加热1h。在加热过程中,应注意不停地摇荡锥形瓶,再用倾泻法滤去滤液。残渣再加入50mL1.25%KOH溶液,在水浴中加热,并回流约10mL,随后将碱液及残渣全部转至砂芯漏斗中,抽干后,再用热蒸馏水少量多次地将瓶中的残渣冲洗干净,使滤液不成碱性为止。取下滤器在105℃烘箱中烘干至恒重。纤维素=(烘干后砂芯漏斗及残渣重g-砂芯漏斗重g)/样品干重g×100%。

试验所用菇纤的生产方法同上。

1.6 菇纤对重金属、核素的吸附效果试验

1.6.1 离子浓度对吸附效果的影响试验

化学纯试剂: 硫酸铜、硫酸锌、氯化汞、重铬酸钾、硝酸铀。用蒸馏水分别配制成5、25、50、100、250mg/L溶液,取100mL溶液,加入1g菇纤粉,每个浓度重复3次。吸附处理24h,过滤,取滤液在原子分光光度计测定离子浓度,计算吸附率。

1.6.2 菇纤用量对吸附效果的影响

配制100 mg/L重金属、核素离子溶液,取100mL溶液,分别加入0.5、1.0、1.5、2.0、2.5g菇纤粉,每个浓度重复3次。测定方法同1.6.1。

1.7 仪器设备

原子吸收分光光度计、紫外分光光度计、显微镜、超净工作台、高压灭菌锅、培养箱、恒温水浴、真空泵、直形冷凝管、3号砂芯漏斗、天平、电炉、烘箱等。

2 结果分析

2.1 杂交新菌株的性状分析

单孢分离得到20个单孢菌株,杂交配对共20×19/2=190组,其中有25%左右的菌株的菌丝体有锁状联合,并在试管中出现小型的子实体。选择30个最先在试管中出菇的新菌株进行出菇试验,结果如表1、图1。

Table 1. The Morphological characteristics, yield and cellulose content of the new strains of red oyster mushroom fruiting bodies

表 1.红平菇新菌株子实体的形态、产量和纤维素含量

菌株	颜色	形状	产量/g/瓶	纤维素/%
01	深红	伞状	5.25	24.76
02	白	伞状	5.00	11.44
03	淡红	伞状	6.13	22.29
04	淡红	伞状	4.32	29.39
05	淡红	伞状	4.67	13.39
06	紫红	伞状	4.33	9.84
07	淡红	团生	/	/
08	淡红	伞状	4.00	13.16
09	淡红	伞状	4.28	16.18
11	深红	伞状	5.43	19.31
12	淡红	伞状	4.34	17.28
13	淡红	伞状	5.41	20.00
14	淡红	伞状	3.68	25.61
15	淡红	伞状	2.69	19.70
17	灰白	伞状	3.47	19.73
18	淡红	伞状	4.93	8.46
19	淡红	伞状	4.19	27.09
21	灰白	伞状	3.82	13.44
22	淡红	伞状	2.95	22.77
23	淡红	菊花	5.87	24.26
24	淡红	菊花	4.04	16.66
25	淡红	伞状	5.51	29.43
26	淡红	伞状	4.7	20.69
27	淡红	伞状	3.28	20.80
28	淡红	菊花	4.47	13.94
29	灰白	菊花	5.10	15.38
30	淡红	伞状	4.43	29.21
Pd.723	淡红	伞状	4.58	15.79

结果发现,新菌株的子实体形态变化明显,颜色变化最大,从原始菌株的鲜艳红色到粉红色、淡红色、

灰白色、浅灰色；形状变化也很大，从伞形到侧生，各菌株形状基本上没有相同的状态；子实体产量也有1~2 倍的变化。

通过对所采摘的红平菇子实体烘干粉碎，测定它们的纤维素含量，从表 1 可以看出，杂交后的红平菇菌株之间纤维素的含量差异相当大，最低的为 8.46%，最高的为 29.43%，平均为 19.39%，差异程度在 3 倍以上。其中 04#、14#、19#、24#、30#共 5 个新菌株子实体的纤维素含量超过了 25%，占杂交新菌株的 1/6。试验表明单孢杂交新菌株中很容易选育出高纤维素的新菌株。

出菇试验结果如表 2，在 5 个高纤维新菌株中，有 3 个菌株的产量明显高于出发的原始菌株 Pd.723，分别是 14#、19#、24#，最高的达到 26.4%。试验过程中发现新菌株具有很强的抗污染能力，不需要对原料进行灭菌和发酵处理，在用 1%石灰水处理 24h 的稻草、麦草、木屑等原料上进行人工栽培，温度在 15~38℃ 范围内，20~25d 出第一批菇。进一步用稻草、麦草、木屑等原料进行扩大试验，投料 20~30kg，试验结果与小试结果接近。

Table 2. Five new strains of fruiting high fiber test results
表 2 5 个高纤维新菌株的出菇试验结果

菌株编号	04#	14#	19#	24#	30#	Pd.723
出菇时间/d	27	19	20	22	23	21
子实体产量/%	13.5	22.4	18.6	26.4	14.1	18.7
3 批菇的出菇周期/d	68	72	75	73	69	79



Figure 1. The Form hybrids
图 1 杂交后代形态

2.2 菇纤对重金属、核素离子的吸附效果

Table 3. The Heavy metal ion concentration effect on adsorption
表 3 重金属离子浓度对吸附效果的影响 单位：%

离子浓度 /mg/L	5	25	50	100	250
Cu ²⁺	52.05	52.76	60.52	53.50	61.77
Cr ³⁺	51.59	49.81	58.56	52.14	53.05
Hg ²⁺	54.03	68.10	74.62	75.54	81.28
Zn ²⁺	51.56	56.57	58.11	65.03	60.76
U ²⁺	53.25	58.61	61.24	64.36	69.48

离子浓度对吸附效果的影响试验结果如表 3，分析表明，菇纤对各种重金属离子都有很好的吸附效果，吸附率均超过 50%，最高可以达到 81.28%以上。固定菇纤用量，吸附规律是随金属离子的浓度的增加，吸附效率逐渐增加。从吸附量的变化来看，除 Zn²⁺外，吸附率增加的趋势还没有达到最高，即还没有达到饱和和吸附的平衡状态。试验用菇纤对各种离子的吸附效率有一定差异，其中对 Hg²⁺的吸附效率最高。

菇纤用量对吸附效果的影响结果如表 4，结果表明，随着菇纤用量的增加，吸附效率逐渐增加，最高可以达到 83.62%。其中对的吸附效率增加不显著，对其它离子的吸附效率增加极为显著。

把吸附重金属离子后的菇纤混合，40~60℃ 烘干，进行洗脱试验，结果表明重金属、核素离子用低浓度的硫酸、硝酸等酸溶液冲洗，冲洗液体积为干菇纤的 3~5 倍，洗脱效率在 95%~98%，表明回收重金属离子的方法十分方便。

Table 4. The mushroom fiber content on the impact of heavy metal ions adsorption
表 4 菇纤用量对重金属离子吸附效果的影响 单位：%

菇纤用量 /g/100mL	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
Cu ²⁺	43.86	56.09	51.49	79.52	77.92
Cr ³⁺	51.95	52.31	53.01	54.91	55.96
Hg ²⁺	76.24	79.15	80.45	81.27	83.62
Zn ²⁺	54.37	53.13	58.52	59.55	67.16
U ²⁺	58.46	59.67	61.58	64.94	72.50

3 小结与讨论

试验发现高纤维素新菌株具有很强的抗污染能

力,在用 1%石灰水处理 24h 的稻草、麦草、木屑等原料上进行人工栽培,温度在 15~38℃ 范围内,20~25 天出菇,干菇产量高达原料干重的 20%~25%。不需要对原料进行灭菌和发酵处理,生产成本低廉,鲜菇成本 1~1.2 元/kg,干菇成本 10~12 元/kg。工厂集中收购干菇,将其粉碎,用酸、碱处理后,再粉碎得到菇纤原料,成品得率为干菇原料的 20%左右。可以经过物理方法成型,制成板状、球状、柱状产品,即成吸附重金属、核素的真菌生物材料。

这是一种低成本、高效吸附重金属、核素的新型真菌生物材料,可以广泛用于特种工业废水、核环境

废水等的处理中,对环境保护、生态恢复建设、社会经济发展都具有重要意义。

References (参考文献)

- [1] Gorovoj L F.,et al.Cell wall of fungi-optimal structure for biosorption [J].Biopolymers and cell, 1996.12(4):51 -54
- [2] Gorovoj L F. Mycoton-products obtaining from fungal biopolymers [M]. Institute of Cell Biology & Genetic Engineering , Research and production Firm, Mycoton, Kiev : 2002. 4-7,9-12
- [3] Kosyakov V N , et al. Utilisation of chitin- chitosan- biosorbents for environmental deactivation and radioactive waste management [M].Biotechnology for Waste Management and Site Restoration. Kluwer Academic Publishers :1997. 119-131