

摘要

利用超积累植物修复重金属污染的植物修复技术越来越受到关注,研究了新型铬超富集植物李氏禾在治理重金属污染治理方面应用,从不同角度分析了其吸收重金属六价铬和三价铬的行为特征。通过生物干粉和重金属在根表面分布行为特征,分析了李氏禾富集重金属的可能机制,探讨了李氏禾还原六价铬到三价铬的可能过程。

借助拟合吸附动力学和等温热力学方程,研究了湿生超积累植物李氏禾叶细胞干粉对Cr(VI)的吸附性能,考察了pH值、吸附时间等多种因素对吸附性能的影响,结果表明该吸附是单分子吸附的伪二级动力学过程。对Cr(VI)的吸附包含两个过程:Cr(VI)离子通过静电作用富集在干粉材料表面,随后干粉表面存在的功能配位官能团会与Cr(VI)发生化学作用。红外光谱图表明起作用的主要是含O、N功能原子官能团,并且这些官能团中的功能原子与Cr(VI)的作用方式不同。推测形成了具有多重结构构象的配合物。

以李氏禾干粉生物质作为Cr(VI)的吸附材料,研究了其吸附Cr(VI)的原位还原过程的特点。红外技术表征了参与铬还原过程的特征官能团。借助X射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy;XPS)原位分析了特征元素官能团对Cr(VI)的还原作用,并探讨了可能的还原机制。结果表明:Cr(VI)在颗粒表面被特别还原性官能团还原到三价,含氧官能团在低酸性环境下的质子化,可以静电吸附Cr(VI),同时释放氢氧根离子,使得溶液pH值升高;而官能团中的N元素在吸附过程中,提供Cr(VI)还原反应所必须的电子,与Cr(VI)发生明显的化学络合作用,并将其还原到Cr(III)。

通过在微金电极表面循环伏安法镀汞,制备了金基汞膜微电极,该电极尺寸小,响应快,可以用于Cr(VI)的微区连续监测。使用该电极对铬超积累植物李氏禾单根表面铬(VI)离子流进行实时和原位分析。测定了李氏禾根部的Cr(VI)浓度分布以及实时变化。发现位于根的尖端纵向约50 μm 处Cr(VI)浓度变化明显,这就说明该区域是李氏禾对铬(VI)离子的主要纵向吸收区域;对此处李氏禾根尖表面的Cr(VI)浓度和垂直距离的关系进行测定,发现Cr(VI)浓度随着距离的增大呈现先增大后减小的趋势,在距离根表面约35 μm Cr(VI)的浓度最大,六价铬在根的吸收活跃区域形成分布不均的浓度场;李氏禾根尖对六价铬存在着主动富集的过程,并且这种过程在60min内趋于稳定。

关键词:超积累植物;富集机制;李氏禾;Cr(VI);吸附;形态;还原;光电子能谱

Abstract

Heavy metal phytoremediation technology has attracted more and more attention. The apply of newly chromium hyper-accumulative plant *Leersia Hexandra* Swart was researched. The behavior characteristics of adsorption on hexavalent and trivalent chromium were studied from different perspective. According to distribution characteristics of the heavy metal, the enrichment mechanism of hyperaccumulators is further reviewed. The reduced progress of chromium which from hexavalent to trivalent was investigated.

Adsorption of Cr(VI) by the hygrophyte with chromium hyper-accumulative plant *Leersia Hexandra* Swart was studied, focusing on investigate the effect of physico-chemical parameters pH and contact time. The test results of sorption kinetics conformed to the pseudo-second order kinetics equation. Meanwhile, the correlation coefficient values indicated that the data of sorption thermodynamic fit better the Langmuir model. The adsorption process was found to be first controlled by the electrostatic interaction due to the formation of H^+/H_3O^+ barrier, and then the function groups can bind the Cr(VI) with coordination. IR analysis of *Leersia Hexandra Swart* biomass revealed the presence of carboxyl, acylamide, hydroxyl and carbonyl groups, which are responsible for biosorption of metal ion. But the functional atoms binding Cr(VI) with different interaction on the surface of cell wall, which indicated the selectivity of adsorption. The results also provided strong evidence that the existence of isomerism in complexes-Cr.

In this work, *Leersia hexandra Swartz* biomass was used to adsorption Cr(VI) from aqueous solutions and batch experiments were designed to obtain adsorption datas. The characteristic and mechanism of Cr(VI) reduction to Cr(III) by the *L. hexandra Sw* biomass, has been investigated. We also characterized the changing of suspension pH on the reduction kinetics of Cr(VI). Fourier transform Infrared rays (FTIR) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) analysis on plant biomass were executed to determine the main functional groups which might be involved in chromium sorption and to confirm the presence of Cr(III) on the sorbent, respectively.

Results put into evidence that *L. hexandra Sw* sorbents are capable of reducing Cr(VI) to its trivalent form. The protonation of oxygen-groups in low acid environment has the electrostatic-power of Cr(VI) sorption and the increase of solution pH is attribute to the release of hydroxide ions in hydrolysis reaction. On the other hand, the nitrogen-groups as the electron-donor group in the process of the sorption. The results indicates that Cr(III) were

the dominant species on the surface of biomass after reaction and that the dominant species covered the surface and formed metal-complex.

A new all solid-state selective microelectrode for Cr(VI) fluxes determination was prepared. For this purpose, Hg was electro-polymerized onto a Au micro disc electrode, Chromium(VI) fluxes along the roots of hyper-accumulator plants *Leersia hexandra Swartz* has been investigated. In the zones of longitudinal distance 50 μm behind root tips the chromium(VI) ion influx obviously. At cross range 35 μm from surface of root, the concentration of the chromium(VI) present the maximum value. Chromium(VI) formed a concentration field around the root of *Leersia hexandra Swartz*, but maldistribution. on the other words, the progress of sorption chromium(VI) is an active interception which will approach equilibrium within 60 minutes.

Keyword: Hyperaccumulator; enrichment mechanism; *Leersia hexandra Swartz*; chromium(VI); adsorption; speciation; reduction; XPS

研究生学位论文独创性声明和版权使用授权说明

独创性声明

本人声明：所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得桂林理工大学或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。对论文的完成提供过帮助的有关人员已在论文中作了明确的说明并致以了谢意。

学位论文作者（签字）：_____

签字日期：_____

版权使用授权说明

本学位论文作者完全了解(学校)有关保留、使用学位论文的规定，有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的印刷本和电子版本，允许论文被查阅和借阅。本人授权(学校)可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。同时授权中国科学技术信息研究所将本学位论文收录到《中国学位论文全文数据库》，并通过网络向社会公众提供信息服务。（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

学位论文作者签名：

签字日期： 年 月 日

导师签字：

签字日期： 年 月 日

第一章 绪论

重金属对土壤、水环境等造成的污染越来越引起人们的关注。铬作为一种常见的有色重金属元素,在生物体内超量时,将对动植物均有毒害作用,如致癌致畸作用。世界各国普遍把铬列为重点防治对象。近 20 年来,植物修复技术与工程实践紧密结合并逐渐发展起来。美国的一些植物修复公司已经成功地开拓了土壤重金属植物修复的实践领域。超积累植物(Hyperaccumulator)是指对重金属的吸收量超过一般植物 100 倍以上的植物,Brooks^[1]等在 1977 年首先提出这一概念,具体规定为植物积累的 Cr、Co、Ni、Cu、Pb 含量一般达到 1000 mg/kg 以上,积累的 Mn、Zn 含量一般在 10000 mg/kg 以上。

本课题组张学洪教授通过对广西某电镀厂附近的植物和土壤的野外调查,发现了湿生铬超积累植物—李氏禾(*Leersia hexandra Swartz*)。李氏禾不仅对铬有很强的富集能力,而且具有生长快、地理分布广、适应性强的特点,深入研究李氏禾对铬的吸收与富集行为,对于揭示其富集机理及更有效的利用其植物修复效能均有重要的价值。超积累植物从根际吸收重金属,并将其转移并积累到地上部,这一过程包括跨根细胞膜运输,从根表皮细胞横向运输,再由根薄壁细胞装载到木质部导管,经过木质部的长途运输,最后从木质部卸载到叶细胞,最后会存储在液泡中。

目前对富集机制的研究多是侧重于通过测量重金属的含量和形态的变化来间接认识超富集机制,常用的金属定量分析方法如原子吸收、原子发射以及他们的衍生方法都可以得到很广泛的应用。在细胞甚至亚细胞水平上的分析方法如电子微探针(Electron microprobe analysis, EMPA)、X-射线吸收近边结构(X-ray absorption near edge structure, XANES)和扩展 X-射线吸收精细结构(Extended X-ray absorption fine structure, EXAFS)技术可以满足对细胞内部重金属形态分析的要求。最新结合显微镜的 SEM、TEM 成像技术可以更清楚地认识重金属在细胞内部的分配行为。

在超积累植物富集机制的研究上,国内外研究者已做了很广泛的工作^[2-6],本文通过总结近几年国内外在富集机制上的常用研究方法,进一步阐明富集机制的同时探索更优越的研究方法。

1.1 土壤中重金属的分布研究

土壤中重金属的存在形态:重金属在土壤溶液中,主要以简单离子、有机或无机络离子的形态存在。大多数研究者在进行土壤重金属形态分析时,多采用逐级提取法分离各种形态,即用不同的浸提剂连续提取,然后可以用原子吸收光谱法测定提取液

中每种形态重金属的浓度。如使用 Tessier^[7]连续提取法,将土壤环境中重金属的赋存形态分为水溶态(以去离子水浸提);吸附交换态(以 $MgCl_2$ 溶液提取);碳酸盐结合态(以 $NaAc-HAc$ 为浸提剂);铁锰氧化物结合态(以 $NH_2OH-HCl$ 为浸提剂);有机结合态(以 H_2O_2 为浸提剂)以及残渣态(以 $HClO_4-HF$ 消解化, 1:1HCl 提取)5种形态。但连续提取法试剂的选择性差并且释出金属在各形态间存在再分配,程序的标准化要求也较高^[8]。

Cambrell^[9]、Shuman^[10]等对重金属的形态也都各有不同分类,新提出的 BCR^[11]提取法使用 $MgCl_2$ 、 $NaAc$ 、 $NH_2OH-HCl$ 、 $HNO_3+H_2O_2+NH_4OAc$ 、 $HNO_3+HCl+HF$ 为提取剂,但操作条件如 pH 和温度需要严格的控制,因此目前多以 Tessier 提取法为主。

诸多形态当中,以水溶态和可交换态重金属的迁移转化能力最高,其活性、毒性和对植物的有效性也最大;残留态重金属的迁移转化能力、活性和毒性最小;其他形态的重金属介于其间。各种形态的重金属之间,随着土壤或外界环境条件的改变可相互转化,并保持着一定的动态平衡,水溶态部分重金属在土壤中很容易为生物吸收^[12]。利用同位素交换技术可以认识土壤中可交换态和易变化的金属,测定时须将土壤溶液侵入水或其他电解质中,引入 ^{114}Cd 和 ^{67}Zn 同位素对镉锌污染土壤研究发现,进一步证实了超积累植物对土壤中的不可迁移重金属的无能为力^[13]。同时也可以从土壤类型、气候条件甚至灌溉条件上来研究超积累植物对土壤中重金属的富集作用^[14]。众多研究表明,重金属在土壤中多以高价态存在,如铬(VI),砷(V)。

对于重金属在土壤中的存在形式以及结合状态,电子微探针技术(EMPA)分析确定了近似球形Ni-O和Ni金属颗粒,直径从 $5\mu m$ 到 $50\mu m$ 不等,同步加速微X-ray吸收精细结构和荧光光谱分析显示Ni和Al以分层双氢氧化物相存在于土壤中^[15]。该技术不需要对试样进行处理,可以进行直接测定,对认识金属物种的形态带来了新的开始,使用同步加速X-ray植物样品中的金属形态可以直接评估,该技术可将光束集中在微米面积内,从而克服了传统XAFS技术只能进行毫米面积分析的不足,这也同时要求取样要更具代表性,从而可以引入统计学数据处理方式而克服因主观因素引起的误差。同时利用XAFS也可以发现植物试样中复合金属的主要存在形式,然后再结合微分光镜技术如: μ -EXAFS^[16]、 μ -SXRF^[17] (synchrotron X-ray fluorescence)和 μ -XRD^[18] (X-ray diffraction)检测植物体内那些微小但潜在的更有活性的化合物。

重金属在土壤中的行为和归宿,包括迁移、转化和滞留,主要过程有物理、物理/化学、化学和生物过程,重金属离子通过扩散、离子交换等方式到达植物根周围,事实也表明超积累的多毛根^[19]有能力富集大量的重金属,并且被富集的重金属多以难溶性盐的形式存在着。可交换态离子有着很强的可移动性,它们的主要运动方式包括对流、扩散、机械弥散以及水动力弥散,但在重金属到根的这一迁移过程中,重金属并不发生价态和形态上的转化。从富集角度来看,土壤中高浓度的可利用的重金属形式是超积累的依赖,这也暗示了增加根围中的金属可用性的根机制如:根围的酸度,或

者根释放的结合化合物^[20]，在重金属超富集过程中只占次要作用。

1.2 超积累植物对根重金属吸收过程的研究

1.2.1 重金属从土壤进入根，跨根细胞膜运输

在植物生长发育过程中，根系作为植物和土壤的重要界面，是重金属与超积累植物直接接触的首要部位，超积累植物根有向重金属生长的趋势，并且根的数量与重金属的含量间存在正比例关系^[21]。

植物的根不仅是吸收和代谢器官，而且是强大的分泌器官。根系一方面从生长介质中摄取养分和水分，另一方面也向生长介质(土壤、营养液等)中分泌质子、离子和大量的有机物质^[22]，根分泌作为一非破坏性和持续性的过程，能一直提供分解难溶盐所需化合物，研究表明，根系分泌物或通过改变 pH 值和氧化还原电位^[23]，或通过螯合作用和重金属形成稳定的螯合物，降低重金属在土壤中的可移动性，起到钝化和固定作用，从而达到调节植物对重金属的吸收和利用的目的^[24]。目前的研究也证明了超积累植物根分泌物对重金属具有活化作用，并以此作为对重金属吸收的第一动力，而且分泌物大多为低分子量的有机酸，诸如在根际土壤周围已发现的柠檬酸^[25]，草酸，富马酸，琥珀酸，L-苹果酸，酒石酸^[26]等，而最近又新发现了系列抗菌化合物^[27]，更是丰富了根分泌物的种类。因此对认清超积累植物的分泌物类型的研究工作就显得极为重要。色谱分析方法因其特有的分离分析的性质，使在分析测定根分泌混合物时有着独特的优势。海州香薷^[28]和鸭跖草^[29]是近年新发现的铜超富集植物，可以用 0.5mmol/L CaCl₂ 洗涤根系，再用去离子水冲洗根系，放入 200mL 去离子水的器皿中生长 4 小时，得到根分泌物液^[30]。使用 HPLC 方法对该根系分泌物的有机酸进行研究，结果显示主要以草酸和出峰时间为 6.5 分钟左右的未知有机酸为主；另外原子吸收方法测定发现鸭跖草根分泌物对铜的活化能力大于海州香薷，同时还发现微生物假单胞菌和白腐真菌对重金属也具有活化能力。相同方法发现超积累植物 *T. caerulea* 根可以释放出柠檬酸对重金属锌进行活化^[25]。除此之外，该方法也可以对相关络合剂进行分析测定，但在测定之前试样需经均质处理，离心过滤后方可测定。HCl^[31]、HNO₃^[26]、HClO₄^[25] 都是常用的试样均质剂。Turgut 等使用 HPLC 方法发现络合剂 EDTA 可以促进植物对重金属镉、铬以及镍的活化能力^[32]。另外，超积累植物根物种分泌物包含对重金属有能潜在提高重金属吸收、运输、反抗能力的螯合物，在这些化合物中，能够参与重金属螯合的有已提到的柠檬酸和自由组氨酸。但是，Salt^[33]等在以溶液培养试验中发现，柠檬酸盐和组氨酸的释放与镍超积累没有明显的关系，他们认为可能会有另外一种没被发现的镍螯合物。而 Singer 却对此持不同意见，认为组氨酸结合物可以提高多环芳

烃 (PAHS) 的降解能力, 增加镍的超积累能力^[34]。

总之可以看出, 超积累植物根系分泌物多为含羧基的混合酸类物质, 而分离分析技术在预先分离的前提下, 消除了其他酸所带来的干扰, 对分泌物的种类可以很好的定性分析。但是, 较复杂的试样预处理技术和分泌物提取技术限制了它的应用, 而且其也大多只能停留在对分泌物的研究上, 对认识分泌物如何影响重金属的动力学过程更是无能为力。

对重金属而言, 活化后的重金属, 首先被吸入根的非原质体内, 然后一部分被运输到细胞内, 而另一些被进一步运进非原质体内, 或者被绑定在细胞壁上^[35]。在进行大体积元素分析时, ICP-AES、ICP-MS 应用最广泛^[36-39], 从实验结果来看, 方法在检验根部重金属含量上的检出限一般为 0.1~100ng/mL, 这主要是 ICP 光源克服了电弧等经典激发光源的局限性, 并且还能同时或顺序多元素测定, 如根部重金属镉、锌含量的同时测定^[40]。但是, 该类方法在测定重金属含量时, 多只是采取不同生长时期的根, 烘干后测定干料中的金属成分和含量, 即使能测定植物组织内的重金属也破坏了组织细胞, 因此也就不能得到重金属在细胞内尤其是亚细胞结构中的形态变化过程。相同处理方式的还有原子吸收方法^[41], 但同样也是不能克服上述缺点。但是这并不妨碍它们同时结合一些其他分析手段, 来更清楚地认识重金属的富集机制, 首先可以借助分子生物分析技术^[42], 对 RNA 进行基因分析, 从而在 *Thlaspi goesingense* 根基周围发现了大量的 PPFM 细菌, 并且发现细菌和活化重金属之间有一定关系; 另外, 还可以使用同步辐射 X 荧光 (SRXRF) ^[43], 测定海州香薷根中铜结合蛋白的微量元素, 铜结合蛋白是海州香薷根中铜的主要结合物质。Song^[44]发现土壤 pH 值对重金属的富集起一定作用, 增加 pH 值可以增加根部铜的浓度, 对富集与耐性的关系, 这一方面文献^[45]做了很好的阐述; 相应得可以借助化学平衡计算软件 MINTEQA2 技术分析根际重金属镍溶解性与镍有机化合物的形成间的关系, 该模型对镍的形态分布能有一定认识, 而且配合物诱导对重金属的溶解起一定作用, 进一步证实了有机配体分泌物对根际土壤重金属的活化有一定作用, 同时还发现 DOC (可溶性有机碳) 值也有一定意义的增加^[46]。

植物细胞壁是重金属离子进入的第一道屏障, 借助电子显微镜可以证明细胞壁沉淀重金属的作用, 金属沉淀在细胞壁上能阻止重金属离子进入细胞原生质而使细胞免受伤害。Nishzono^[47]发现超积累植物 *Athyrium yokoscense* 细胞壁中积累大量 Cu, Zn 和 Cd, 占整个细胞总量的 70%~90%, Kramer^[48]等也报道, *Thlaspi Goesingense* 叶中 67-73% 的镍结合在细胞壁上, 而且大部分以离子形式存在或结合到纤维素、木质素等细胞壁的结构质上。Salt^[49]等发现, 在 50 μ mol/L 锌溶液中, 植物根部细胞中的锌 30% 存在于细胞壁上; Poulter 等^[50]通过比较黄花 (*Anthoxanthum odoratum*) 悬浮细胞和原生质体固铅能力的实验, 表明细胞壁在 *Anthoxanthum odoratum* 抗铅胁迫中起到重要作用; 超富集

植物可以富集大量的重金属，但细胞壁对金属的容量却是有一定限度的，这说明细胞壁在超富集植物富集金属中的作用不大。李文学^[51]等也认为，细胞壁的沉淀作用并非超富集植物的耐性机制。

通过细胞壁之后，重金属的趋向也是富集机制研究的重点。在这方面，电化学方法得到了很好的应用，特别是选择微电极的研究^[52-54]，不仅能直接测定活的生物细胞或细胞器内的离子或分子活度，而且能对活的生物相邻位置、功能和代谢速率可能不同的特定微区细胞表面的离子或分子流分别测定。另外也无需复杂的取样过程，将微型化的电极（微米级）直接插入植物组织内，从而达到简便、实时、无损伤测定，而这种特殊的取样方式，并能实时、连续地获得进出活体植物组织、器官、单个细胞甚至细胞器内特定离子或分子活度及其表面离子或分子的移动速率。同时监测根尖的离子流也将有助于了解根吸收重金属离子的生理过程，但同时处于膨胀状态的植物细胞及其细胞壁，容易损坏微电极的尖端，再加上电极制作困难，而且不易保存，也限制了它的更广泛的应用。

1.2.2 重金属的共质体运输及其分室化

根部是重金属富集的最重要部位，而附着在细胞壁上的重金属穿过细胞壁后，将进入共质体中，Poynton^[55]等人对超积累植物富集重金属砷的机制进行了研究，发现根中高吸引力的 Pi 运输蛋白的存在，通过比较 Km 值得大小，并利用(⁷³As^V)作为放射性跟踪剂，对砷在植物体内的吸收运输作了分析。虽然重金属在根的富集含量最低，但根部却有着对吸收富集起决定作用的运输蛋白。文献[56]对运输蛋白的运输原理做了全面的描述。ZIP-1, ZIP-2, ZIP-3^[57]锌运输蛋白和其他相关诱导运输者，正是在营养缺乏或是金属压力诱导吸收重金属离子^[58]。植物吸收离子的主要部位是位于根的成熟区，重金属正是通过上述运输者从成熟区细胞膜进入共质体中，重金属一旦进入根系，可贮存在根部或运输到地上部分。在根系中，重金属主要分布在质外体或形成磷酸盐、碳酸盐沉淀^[59]，对储存在根细胞中的重金属，我们更期待能对其重金属结合配位点和金属形态有深刻认识，这些信息对洞察金属生物配位作用是很必要的，相关直接技术如 X-射线吸收光谱法 (X-ray absorption spectroscopy, XAS) 可以提供金属在植物体内的定位结构，并被广泛用在研究金属和生物系统间的相互作用上，对金属的螯合化学以及有毒元素同植物修复系统的相互作用提供了重要的信息，如植物对金属的吸收量、原子结构、在修复系统内的生物还原等信息^[60]。Salt 等^[61]发现，用 0.6μg/mL 镉处理印度芥菜 7 天，根部积累的镉是地上部的 6 倍，且主要与 S 基因结合，XAS 研究表明，其可能是一种 Cd-S 复合物，与用 X-射线衍射精细结构分析法 (EXAFS) 分析纯化的 Cd-PCs 复合物相比^[62]，其 Cd-S 作用方式相似，说明印度芥菜根系中绝大部分镉与植物络合剂结合。Weiersbye 使用 X-ray 继续研究了重金属在植物根中的分配和运输，观

察了细胞的扫描探针图, 基于元素细胞自我荧光性质的 CLSM (共聚焦激光扫描显微镜) 方法技术已经成功应用于根细胞组织中的金属形态测定^[63]。但是因为它的低灵敏度又阻止了直接在植物体内的应用, 同时对制样的条件也有严格的要求^[64]。

结合同步加速光束技术的EXAFS和XANES分析方法, 方法灵敏度大大的提高, 同时高效的聚焦光学器件可以提供金属氧化状态、金属形态以及金属配位的指纹形态。而且不需大体积的采集植物组织试样, 10-50微米的空间分辨率对认识不同植物组织元素含量已足够。如测定分生组织和脉管组织中重金属的存在状态, 但是要想进一步的得到微米和亚微米分辨则需要探测细胞和亚细胞离子平衡机制的复杂性, 这就要借助相关技术如, 激光消融质谱(Resonant Laser Ablation, RLA)、质子激发X射线发射分析(Proton Induced X-ray Emission, PIXE)、同步辐射X荧光法分析^[65](Synchrotron Radiation X-ray Fluorescence, SXRF)等。

金属离子从根系表面进入根系内部可通过质外体或共质体途径, 但由于内皮层上有凯氏带, 内皮层细胞壁和凯氏带阻碍着从非原质体到脉管系统的扩散, 离子不能通过, 只有转入共质体后, 才能进入木质部导管, 因此重金属在内皮层的共质体内运输是其转运到地上部的限制性步骤。重金属进入根细胞质后, 可以游离金属离子形态存在, 但细胞质中游离金属离子过多, 会对细胞产生毒害作用, 干扰细胞的正常代谢, 因而细胞质中重金属可能与细胞质中的有机酸、氨基酸、多肽和无机物等结合, 通过液泡膜上的运输体或通道蛋白转入液泡中。Pineros 等^[66]采用选择性微电极研究镉在遏蓝菜和败酱草根中的迁移, 发现对镉吸收量的差异需要较长时间才能表现出来, 他们认为根细胞膜上可能存在某种镉诱导的运输蛋白。

但对于超积累植物自身, 金属区隔在液泡中对其转运到地上部分是不利的, 因此在超积累植物的液泡膜上, 可能存在一些特殊的运输体, 能把暂时贮存在液泡中的金属装载到木质部导管中。重金属吸收与植物吸收必需元素拥有相同的运输体, 如IRT1蛋白质^[67], Howe等利用XANES核X-ray微探针技术对*Trifolium brachycalycinum*体内重金属铬进行定位和形态分析, 发现Cr(VI)在植物体内逐渐转化为Cr(III), 而且Cr(III)以八面体的Cr-O化合物的形式存在。这种转75%发生在根部, 然后以Cr(III)的形势被运输到各部位, 同时结合微探针技术发现铬在叶子纹理脉管中含量最高, 而在叶的边缘部分含量最低^[68]。

1.3 木质部的中间转运及形态的再转化

重金属在植物茎中的运输主要是在木质部中完成。认识重金属在植物体内的分配转移, 含量分布, 可以帮助理解重金属的富集机制。根细胞中的金属必须穿越内皮层和凯氏带, 从而到达木质部。而金属离子从根系转移到地上部分主要受两个过程的控

制：从木质部薄壁细胞转载到导管和在导管中运输，后者主要受根压和蒸腾流的影响。目前对于阳离子在木质部的装载过程还不十分明确，但研究者^[69-70]一致认为，它是与根细胞吸收离子相独立的一个过程。木质部细胞壁阳离子交换量高，能够严重阻碍金属离子向上运输，故非离子态的金属螯合复合体在超积累植物体内重金属运输中有重要作用。

络合蛋白承担着将吸附在根细胞壁上重金属络合物运输到茎和叶的功能^[71]，而超积累植物茎简单的结构也是蛋白能顺利通过的原因，借助 XAS^[72]可以清楚地观察到，从目前发现的超积累植物来看，大部分都根系发达，植株矮小，茎部短小^[73]。因此认为其茎在富集过程中主要作为一个离子通过的通道，是从根到叶的过渡部分。

重金属在木质部中的分析手段如 X-ray^[74]以及 X-射线衍射吸收精细结构分析法等也都得到很好应用，对茎内富集机制的研究，集中在吸收根部重金属的动力上，以及如何提高这种吸收过程，从而增加其超富集的能力。金属硫基(MT)^[75]植物络合剂(PC)^[76]、螯合肽^[77]基因都在木质部存在，抗氧化性酶 SOD、POD、CAT^[78]，在重金属砷含量大于 20mg/kg 时，抗氧化性酶(SOD、CAT、APX 和 GPX)减少或者稳定下来，而相反地，无抗氧化性酶(GSH 和 SH)会在重金属砷含量大于 20mg/kg 时，有明显的增加，并且重金属砷含量在 0-20mg/kg 时，抗氧化性酶对植物对重金属砷的解毒有重要作用，而砷含量在 50-200 mg/kg 时，无抗氧化性酶起着更大的作用^[79]。并且蒸腾作用在重金属木质部运输中能起一定作用^[80]。

X-ray 吸收光谱结合独特的微探针技术可以对植物组织内存在的重金属元素形态提供清晰的信息，同时可以得到重金属在植物体内的浓度分布图象和生物转化过程。Pickering 等实用 X-ray 微探针和 MICRO-XAS 技术调查 *A. bisulcatus* 对硒的吸收，并对硒在茎中的分配图形进行了研究，通过两种技术的结合，可以检测植物体内存在的硒不同氧化态，同时可以观察到硒酸盐在茎中明显的运输过程，更重要的是，发现了由硒酸盐到有机形式的转变发生在植物体茎内^[80]。

生物金属中参与金属离子配位的有机配位基主要是氧、硫、氮及磷的功能团^[81]，使用 XANES 技术可以检测植物体内的络合环境，并且可以提供重金属在细胞内分布三维图像。利用该技术发现 Hg 在 *Hyacinths* 中的主要于氧络合^[82]；以 EDTA 培养液为基础，发现了结合磷酸盐形式的锌的存在，进一步使用 EXAFS 发现该重金属在植物体内与四个氧原子存在配位络合^[83]；而重金属砷主要与硫结合，并且在木质部中存在着五价到三价的形态转化^[84]，在对细胞三维图像观察时也可以得到相同结论。

基因研究作为新兴的研究方法，能分析植物体内特殊的生理结构，该方法可以提供超积累植物分子细节，并进一步从基因角度去分析超积累植物富集能力的形成。在植物液泡中发现了重金属忍耐基因 HMT1，并且该基因将细胞质中的 PC-Cd 蛋白结合化合物运输到液泡中^[85]。植物基因在重金属的压力下可以产生不同变异，以适应复杂

的生命有机体。因此基因研究多选择单细胞真菌系统来模拟植物体内基因变化^[85]，并同时发现植物根围微生物可以帮助植物吸取重金属^[86]。但是不管植物如何转移重金属从一个器官到另一器官，但这些离子的最终趋向都是另一个细胞，因此单细胞系统就不能对多细胞事件进行明确，即不能从细胞水平上来认识重金属在木质部的分配。

1.4 叶细胞中重金属的分配、存储研究

叶细胞是重金属的最后一个存储器官，经过根和茎中形态的转化到达叶细胞中的重金属无论从含量和形态上，与土壤中重金属都有很大的不同。而又因叶细胞所处的特殊环境，对含量和形态上的分析方法自然就有更高的要求，研究其组织中重金属元素的分配是很难的任务，传统的获得元素分配的染色^[87]方法，通常对检测痕量元素缺少必要灵敏度，着色剂在与植物体内的配合体竞争时也存在形态上的要求。基于能量色散 X-ray 电子微探针技术，是最广泛、高精密度的化学元素分析技术。叶细胞内痕量水平的金属形态分析，可以通过分离技术（色谱、电泳）与 ICP-MS 的连用来实现，ICP-MS 拥有紧密定量分析的能力，高灵敏度，和宽的线性范围，并且对分析环境没特殊限制。

在含量分析上传统手段如原子吸收，ICP-AES，ICP-MS，能达到重金属定量分析的要求，ICP-MS 通常被用来对重金属在亚细胞和细胞中进行定位^[88]，但是如上文所提到的一样，这些方法在实验的同时也破坏植物组织；得到的结果也只是灰化处理后的。

原子水平的结构和叶细胞中重金属的物种形态可通过 XAS 阐明，包括：SRXRF（同步辐射 X 射线荧光）、XANES（近边缘结构分析）以及 EXAFS（精细结构分析）。

SRXRF 可以检测到植物体内大部分元素的分布信息，是研究植物体内微量元素的分布和迁移特点的理想手段。采用 SRXRF 分析了砷超富集植物蜈蚣草羽叶中砷的分布特点，以及各元素分布之间的相互关系。结果显示元素在羽叶中的分布与其迁移能力有密切的关系。砷在羽叶中的分布表明，蜈蚣草羽叶中砷具有较强的木质部运输和木质部卸载能力。植物体内移动性较强的大量元素钾的分布与砷最为相似，而移动性较弱的铁和钙的分布与砷呈相反的趋势。对羽叶中砷分布的研究结果表明，蜈蚣草羽叶中砷具有较强的木质部运输和卸载能力，这是蜈蚣草体内 As 向地上部富集的重要机制之一^[88]。

另一方面，更灵敏的方法如 EXAFS 和 XANES 也在测定叶细胞重金属含量时得到了很好的应用。EXAFS 可以用来检测一个原子的结构，如：键长或配位数。而它对样品也没有特殊要求，因此 EXAFS 特别适合于研究重金属在叶细胞内的绑定形式^[89]。用 EXAFS 可以用来观察钇与叶绿素 A 的结合结构，表明：钇与叶绿素 A 具有单层结构，叶子中 REE 在细胞壁中含量最大，而细胞膜中含量最低。另外，结果同时显示一个钇

原子被四个氮原子所围绕。

黄泽春^[90]等通过使用同步辐射扩展 X 射线吸收精细结构(SREXAFS)研究砷超积累植物大叶井口边草 (*Pteris nervosa*) 中砷的化学形态及其在植物体内的转化。表明, 砷主要与 O 配合, 根部存在与谷胱苷肽 (GSH) 结合的砷, 但是在羽叶中没有发现与 GSH 结合的砷。植物根系吸收的砷分别以 As(III)和 As(V)为主, 但在叶柄和羽叶中砷都以 As(III)的形态存在, 从而更加充分的说明了重金属在植物体内存在转化^[91-93], 同时微探针技术可以更进一步探测活体亚细胞内部^[94]重金属的分配和运输情况。Shi 等使用 SRXRF 微探针对 *Elsholtzia splendens* 的元素分配进行了研究, 发现重金属铜仔茎和叶脉管中的含量最高, 而且叶肉中铜的含量比叶表皮含量要高, 认为重金属 Cu、Mn、Fe、Zn 由相同的酶作用物运输^[95]。

使用 SEM 技术结合 X-ray 衍射分析发现, 颗粒和重金属在下侧叶子 10 微米大小气孔处集中在一起。TEM 也进一步证实了气孔周围晶形颗粒的存在^[96]。表 1.1 归纳了超积累植物研究中主要微区分辨分析方法的特点以及具体应用。

表 1.1 空间分辨分析技术在超积累植物体内的应用

Table 1.1 Applied characteristic of main spatially resolved analytical techniques in vivo-hyperaccumulators

方法 Methods	检出限 Detection-limit ($\mu\text{g/g}$)	空间分辨率 Spatial resolution (μm)	分析深度 Analytical depth (μm)	选择性 Selectivity	应用 Application
能量色散 X-ray 电子微探针 EM-EDX	100~1000	0.5	0.1~1	多元素 Multielemental	半定量 Semiquantitative
微质子激发 X-ray 荧光光谱 Micro-PIXE	0.1~1	1~5	1	多元素 Multielemental	定量 Quantitative
离子光束微探针 Ion Beam Microprobe	1~10	1~2	0.005-0.01	多元素 Multielemental	半定量 Semiquantitative
微同步辐射 X-ray 荧光 微探针(μ -SRXRF)	0.1~1	10	>100	多元素 Multielemental	半定量 Semiquantitative
微 X 射线吸收光谱 μ -XAS	100	0.1~1	>100	形态分析 Chemical species	半定量 Semiquantitative
激光消融质谱 RLA-MS	0.01	15~50	200	多元素, 同位素分析 Multielemental, isotopic	半定量 Semiquantitative
同步辐射扩展 X-ray 吸收 精细结构(SREXAFS)	1	10	表层原子 surface atoms	多元素, 形态分析 Multielemental Chemical species	结构分析 Structural

EM: electron microscopy; PIXE: proton induced X-ray emission; SRXRF: synchrotron radiation X-ray fluorescence; XAS: X-ray absorption spectrometry; RLA: resonant laser ablation; SREXAFS: synchrotron radiation extended X-ray absorption fine structure.

MICRO-PIXE^[97-98]可以对细胞内的分配有图像认识。因为它的特殊采集分析模式，使其具有较高的灵敏度和精确度，在观察元素图像和定量分析时，试样是从植物中任意选取^[99]，植物表皮毛的蒂和表皮组织是镍的首要存储车间，但是重金属并不是遍及表皮毛；栅栏组织、海绵叶肉、保卫细胞或气孔下腔重金属的含量比较少；而随土壤中重金属含量的增加，栅栏叶肉细胞中的重金属含量也呈增加趋势^[100]。结合显微细胞成像技术的SEM、TEM可以观察重金属在细胞内的成像，这已成为研究机体微细结构的重要手段。而利用扫描电子显微镜能量分散光谱（Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-ray Analysis, SEM-EDX）联用技术对重金属进行定性分析的同时，可以直观的观察细胞损伤程度及重金属存储部位（如图1）。从图中明显可以看出，边缘和脉管处的叶肉细胞存在损伤，尤其以脉管处最为严重，同时，ICP-AES测定也发现重金属在该部位的含量最高^[100]。显然，根据细胞的损伤程度可以间接得知重金属的主要富集区域，这一点对富集机制的研究更有帮助。

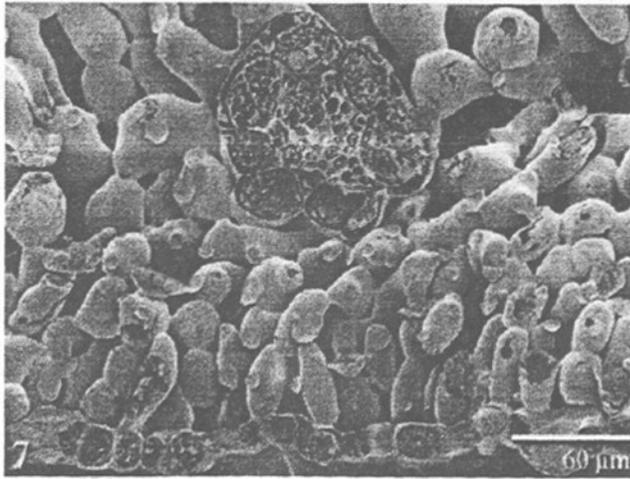


图 1.1. Ni 超积累植物 *Alyssum murale* 叶肉脉管组织内的细胞 SEM 图像^[100]

Figure 1.1 Nickel locational images of Ni Hyperaccumulator *Alyssum murale* using SEM-EDX on mesophyll and vascular tissue

综上所述，上述分析方法能部分地对植物体内重金属进行定性和定量分析，在研究超积累植物富集机制基本原理时起到很大的作用。在对富集机制研究时，人们追求能在细胞和亚细胞水平上去认识重金属的区间分布，而目前传统的重金属分析方法对植物组织造成的不可恢复性的损坏，不能满足实时、在体、连续在线测定的要求。因此，探索能从细胞和亚细胞水平上快速、连续确定重金属离子含量、形态及其分布与转化，甚至动态成像的新方法将是今后超积累植物富集机制研究中分析方法的研究方向。

1.5 本论文立题思想及主要工作内容

论文以湿生铬超积累植物李氏禾(*Leersia hexandra Swartz*)为研究对象,课题组前序工作测定发现其叶片内平均铬含量达1787 mg/kg,叶片内铬含量与其所在污染区水样中铬含量之比最高达518,这表明李氏禾对重金属铬有较强的富集能力^[166],基于这种超富集作用。同时,李氏禾叶片显微切片图显示(图1.2),在叶片中存在着大量的通道,这种通道对重金属的上下运输、细胞间转运都能起到很好作用。

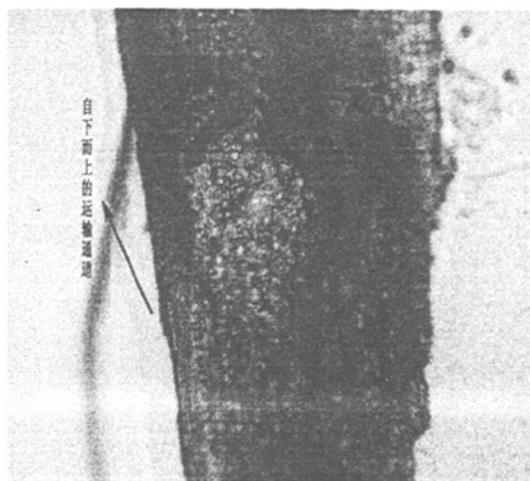


图1.2 李氏禾叶片的显微图

Figure 1.2 Leaf section microscopic photographs on *Leersia hexandra Swartz*

在广泛查阅超富集植物相关最新文献报导的基础上,结合本实验室原有工作基础,针对目前超富集植物研究中的热点问题,具体考虑从以下几方面开展研究工作:

(1) 非活体李氏禾生物质吸附重金属铬的特性

通过借助对李氏禾叶细胞生物干粉吸附 Cr(VI) 和 Cr(III) 过程的动力学和热力学特点的研究,探讨 Cr(VI) 和 Cr(III) 与李氏禾叶细胞干粉的作用方式,同时结合红外光谱分析手段,直接辨析李氏禾植物体内对富集 Cr(VI) 和 Cr(III) 起作用的官能团。这对于理解 Cr(VI) 和 Cr(III) 的富集速率、富集方式以及定义超富集作用的效率都有重要作用。

(2) 非活体李氏禾生物质还原吸附六价铬的机理研究

李氏禾生物质在低酸性的环境下对六价铬有较强的吸附作用,研究其作为一种铬废水处理的良好吸附材料的可能性。借助X射线光电子能谱分析特征元素官能团对 Cr(VI) 的原位还原作用,确定 Cr(VI) 在颗粒表面被特别还原性官能团还原的价态,并分析各种官能团在还原过程中的不同作用,推究其还原过程的可能机制。弄清李氏禾表面

官能团的原位还原作用与对铬超富集作用的关系。

(3) 活体李氏禾单株根尖吸收重金属铬的表面行为特征研究

以易于微型化的金微电极为基体电极，首先通过电聚合把汞膜修饰到电极上，组成金汞微电极，该电极尺寸小，响应快，可以用于Cr(VI)的微区连续监测。使用该电极对铬超积累植物李氏禾单根表面铬(VI)离子流进行实时和原位分析。测定李氏禾根部的Cr(VI)浓度分布以及实时变化。找出李氏禾根吸收六价铬的活跃区域，确定横向，纵向的位点。并对此处李氏禾根尖表面的Cr(VI)浓度和垂直距离的关系进行测定，定义Cr(VI)浓度的实时变化情况。

第二章 超积累植物李氏禾叶细胞干粉对 Cr(VI)的吸附特性研究

2.1 引言

重金属污染与防治已成为一个世界性的问题。铬作为采矿、电镀、制革等行业中常用的重金属,对环境的危害也日趋增大。自然界中铬通常以三价和六价的形式存在,其中Cr(VI)是强致癌物质,对人体的危害也最为严重。目前铬污染常用的治理方法主要有离子交换^[101],化学渗透^[102],活性炭^[103]、树脂吸附^[104]等,但这些传统的处理方法不仅操作繁琐、而且容易造成二次污染,更重要的是对大范围、低浓度(<100 mg/L)的有害污染很难处理。植物修复技术是近年来出现的新技术^[105-106],因其较强的修复能力以及对生态系统的非破坏性,在重金属污染治理上体现出越来越明显的优势^[107-108]。但有关超积累植物的研究目前多停留在对其生物富集能力的考查上,有关超积累植物富集机理方面的研究甚少,对重金属与植物细胞之间的相互关系及作用方式了解更是有限。

作为具有我国自主知识产权的新发现湿生铬超积累植物,李氏禾在超富集重金属铬方面有着独特的优势^[108]。但目前对其富集重金属的具体机理却不甚清楚,相关的研究也未见报道。因此,研究李氏禾对铬离子的富集行为方式,弄清植物内部所存在的官能团与铬离子之间的结合机理,从化学角度研究铬离子在李氏禾中可能存在的物理化学反应,进而通过改善超富集植物对重金属的超富集能力,为植物修复技术提供必要的理论依据显得极为重要。本文通过借助对李氏禾叶细胞生物干粉吸附 Cr(VI)过程的动力学和热力学特点的研究,探讨了 Cr(VI)与李氏禾叶细胞干粉的作用方式,同时结合红外光谱分析手段,直接辨析了李氏禾植物体内对富集 Cr(VI)起作用的官能团。这对于理解 Cr(VI)的富集速率、富集方式以及定义超富集作用的效率都有重要作用。

2.2 实验部分

2.2.1 仪器与试剂

TAS-900 原子吸收光度计(北京普析通用仪器有限公司);数字酸度仪器(上海雷磁公司); $K_2Cr_2O_7$ 基准物。同时实验中使用的其他试剂均用分析纯试剂配制,实验用水为去离子水。

2.2.2 植株的预处理及重金属储备液的配制

取一定量新鲜李氏禾植株,将其根茎叶分离,清洗,将洗净的叶子置于60℃的烘箱中,干燥后用粉碎机粉碎,得到粒径在0.3~0.6 mm之间的粉末,储存备用。

称取0.2830 g $K_2Cr_2O_7$ 基准物,配制100 mg/L的重金属储备液备用,实验中其他系

列浓度的重金属溶液皆由该储备液稀释而来。

2.2.3 pH 对 Cr(VI)吸附影响分析

取上述李氏禾粉末0.5 g, 清洗过程参照文献[109], 先用0.01 mol/L盐酸洗两遍, 以消除对测定有影响的金属离子。然后再用去离子水清洗三遍, 除掉一些可溶性物质。清洗完毕后, 悬浮在100 mL去离子水中, 使最终生物量浓度维持在5 mg/mL。用盐酸或氢氧化钠调节pH在2~6。

取上述五个系列pH的悬浮液2.0 mL (10 mg生物干粉), 分别置于不同离心试管中, 3000rpm下离心5 min, 弃掉上清液保留沉淀, 然后加入对应pH值的10 mg/L的Cr(VI)溶液, 充分振荡, 离心, 用火焰原子吸收法测定上清液中重金属浓度。每组进行三个平行统计计算。

2.2.4 吸附动力学实验

分别取八组pH=3.5的李氏禾悬浮液2.0 mL, 离心后弃上清液, 各加入初始浓度为10.0 mg/L的Cr(VI)溶液, 放在摇床中振荡(200 r/min, 25 °C), 分别吸附不同时间后取出离心, 测定上清液中Cr(VI)含量。

2.2.5 吸附等温线测定

配制系列浓度5、10、20、30、40 和50 mg/L Cr(VI)溶液, 各取pH=3.5的李氏禾悬浮液2.0 mL, 离心分离沉淀后, 在沉淀中分别各加入上述不同浓度Cr(VI)溶液, 充分振荡, 离心测定上清液中重金属浓度, 每组平行三份, 以未加重金属的生物量做空白。

2.2.6 解吸实验

将上述pH=3.5, 25°C完成吸附的生物干粉, 倾出上清液, 分别以0.1、0.5、1、3、6、9、12 mol/L浓度的盐酸(20 mL)为解吸液, 在25°C的情况下, 同时充分离心震荡, 1h后取上清溶液测定Cr(VI)的浓度, 根据解吸前后吸附量的变化, 计算Cr(VI)的解吸率, 考察盐酸浓度与解吸率之间的关系。

2.3 结果与讨论

2.3.1 pH 值的影响

不同pH条件下李氏禾对Cr(VI)的吸附率变化如图2.1, 可以看出, pH=2时吸附率最高, 在pH=2~4, 吸附率总体变化不大, 而pH4~6吸附率明显下降, pH=6时吸附率最低。

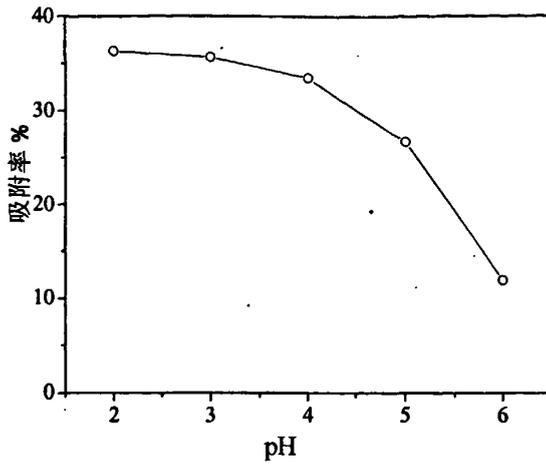


图 2.1 pH值对吸附的影响

Figure 2.1 Effect of pH values on adsorption of Cr(VI) ions

造成这种现象的原因与六价铬在溶液中的存在形态有直接关系。图2.2给出了不同pH环境下，Cr(VI)在溶液中的存在形态。

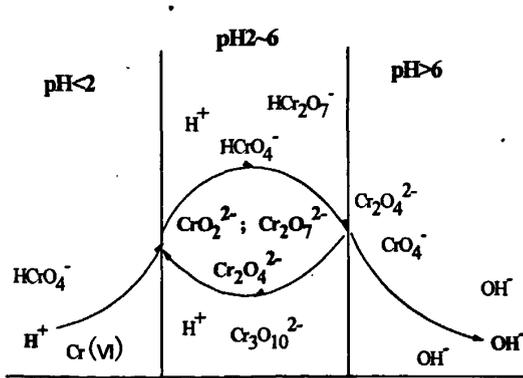


图 2.2 不同pH值下Cr(VI)存在形态间的关系

Figure 2.2 Simplified representation of translate mechanism Cr(VI) with pH variations

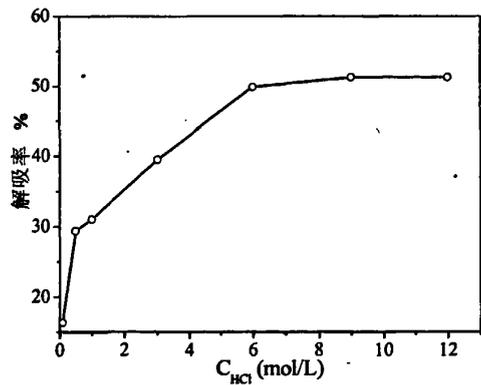


图 2.3 HCl浓度对解吸率的影响

Figure 2.3 Desorption of Cr(VI) from *Leersia hexandra* Swartz by HCl

可以看出，在低pH时(<2)，Cr(VI)主要以 $HCrO_4^-$ 形式存在^[110]，随pH的升高(2~6之间)，溶液中的Cr(VI)存在着多种形态间相互的转化，主要以 CrO_4^{2-} ； $Cr_2O_7^{2-}$ ； $Cr_3O_{10}^{2-}$ ； CrO_4^{2-} ； $HCr_2O_7^-$ 等多种复杂形式共同存在于溶液中^[111]。pH>6时，以 $Cr_2O_4^{2-}$ 为主要形式存在，而在7.5时基本上完全以 CrO_4^{2-} 存在^[112]。

pH处于2~6之间时, Cr(VI)在溶液中的形态种类最多,可以更充分的了解不同形态重金属在植物细胞外部的富集行为。根据Rayle等^[113]提出的细胞酸生长理论,壳梭孢素(FC)和生长素(IAA)刺激了结合在膜上并依赖于ATP的H⁺泵产生质子流,而选择2~6的实验pH范围,也恰好模拟了植物细胞生长过程中所不断变化的酸性环境。当pH>6时,溶液中OH⁻与不同形态的重金属阴离子在植物细胞壁表面存在竞争吸附,并且随铬氧阴离子半径的增大,相同量的重金属将占有更多的吸附位点,吸附效率必然会下降,因此我们选择pH的范围位于2~6。

分别对经相同处理过的李氏禾叶细胞干粉吸附 Cr(VI)前后表面形貌进行 SEM 表征(如图 2.4)。结果表明,未吸附 Cr(VI)时粉末颗粒相对分散、质地紧密,同时呈现明显的块状结构;吸附 Cr(VI)后,干粉颗粒变成疏松多孔的絮状。细胞干粉形貌上的变化可能与干粉颗粒与 Cr(VI)之间发生相互作用,一定程度上破坏了其原有结构有关。对比观察未吸附以及吸附铬并经盐酸解析后的叶细胞干粉 EDS 图(图 2.5),可见重金属铬已被颗粒吸附,但对吸附位点的精确定位还需进一步的表征。

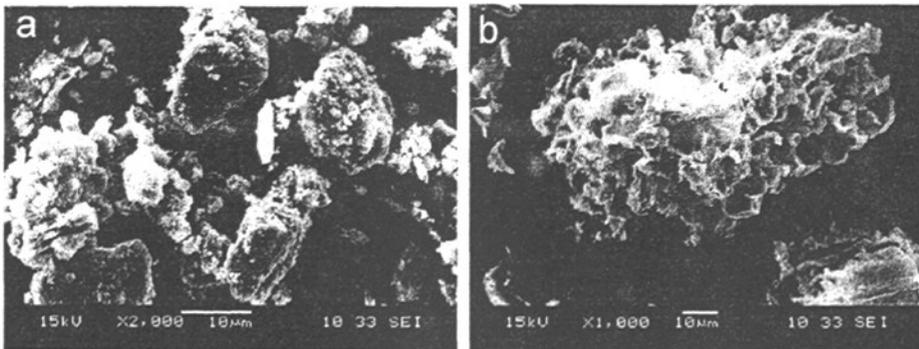


图 2.4 李氏禾吸附Cr(VI)前(a)后(b)的扫描电镜图

Figure 2.4 SEM images of *Leersia hexandra* Swartz before (a) and after (b) Cr(VI) biosorption

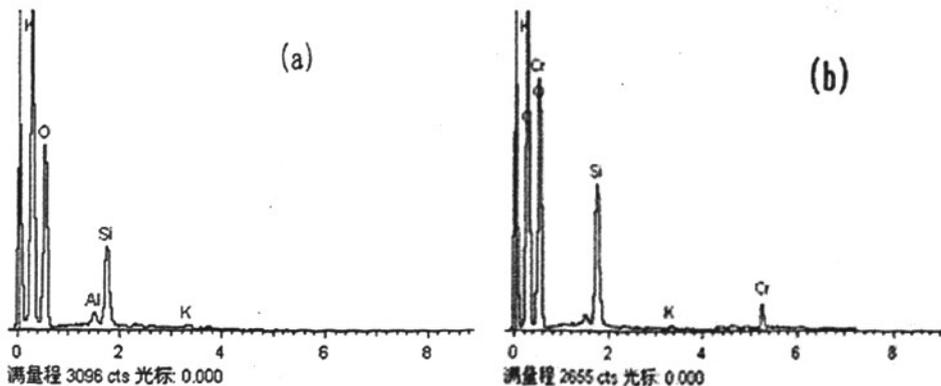


图 2.5 李氏禾吸附Cr(VI)前(a)后(b)的能谱图

Figure 2.5 EDS analysis of *Leersia hexandra* Swartz before (a) and after (b) Cr(VI) biosorption

在弱酸性环境下,李氏禾细胞生物干粉周围很容易被大量的 H^+/H_3O^+ 所包围,形成一个正电荷的隔离层。人们普遍认为溶液中的阴阳离子首先是通过快速的物理静电作用结合在一起^[114-116],因此,李氏禾细胞生物颗粒周围的正电荷 H^+/H_3O^+ 会与溶液中的 $Cr(VI)$ 阴离子存在静电吸引作用,使 $Cr(VI)$ 离子大量的聚集在生物干粉表面,从而促进了李氏禾叶细胞干粉对 $Cr(VI)$ 的吸附。同时结合解吸实验(图2.3),12 mol/L的盐酸对 $Cr(VI)$ 解吸率只有51%,这表明被吸附的 $Cr(VI)$ 大部分是很难被解吸出来的,此时重金属与细胞干粉之间已形成了非常稳定的化学键力,也就是说,在重金属静电引力的作用下到达干粉表面之后,可以继续与生物干粉表面存在的功能官能团继续发生强烈吸附作用。因此认为,李氏禾叶细胞干粉对 $Cr(VI)$ 的吸附主要靠两个过程来完成,即 $Cr(VI)$ 通过静电作用靠近叶细胞干粉,然后干粉细胞中存在的功能官能团会与 $Cr(VI)$ 发生作用。但是随pH的增大,一方面细胞壁表面 H^+/H_3O^+ 浓度降低,对重金属静电吸附作用减弱,同时随溶液中 OH^- 浓度的增加, $Cr(VI)$ 以结合 OH^- 的形式存在,溶液中可结合态金属离子浓度减少,导致重金属的吸附率下降。另一方面,干粉生物物质含有的功能官能团中主要提供孤对电子的功能原子可以加合质子,而在pH从4.0到6.0继续增大的过程中,降低了功能原子的质子化程度,因此,使得李氏禾对重金属铬的吸附能力也随之继续下降。

由于李氏禾叶干粉的水溶液pH值约为3.5~4,为尽可能模拟李氏禾在自然状态下对 Cr 的吸附,在后续实验中我们选择pH=3.5作为研究吸附性能的pH值。

2.3.2 吸附动力学实验

从吸附动力学实验结果可以看出(图2.6),pH=3.5时李氏禾在5 min时对 Cr^{6+} 的吸附率已达到最大吸附量的76%,随时间的增加,吸附率趋于平缓,30 min时基本达到平衡,这表明在吸附起始阶段静电作用起很大作用,使得重金属可以快速的被吸附。因此在后续的吸附热力学实验中确定吸附时间为40 min。

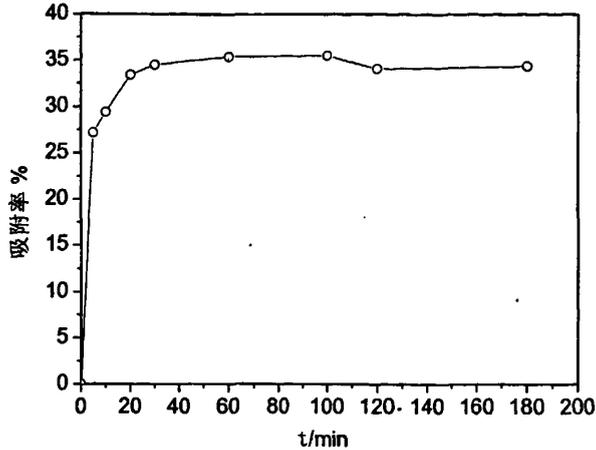


图 2.6 吸附率的动态变化

Figure 2.6 Effect of time on adsorption of Cr (VI) ions

为了研究李氏禾对Cr⁶⁺的动力吸附过程,采用Lagergem 一级动力学方程^[117](式2.1)和伪二级动力学方程^[118](式2.2)来拟合吸附过程。

Lagergem 一级动力学方程

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - Kt \quad (2.1)$$

式中: q_t , q_e 分别为t时间和吸附平衡时李氏禾对Cr⁶⁺的单位吸附量, mg/g; K为一级动力学吸附的速率常数, min⁻¹, 通过 $\ln(q_e - q_t)$ 对时间t做直线, 根据直线的斜率和截距可求出方程中参数K和 q_e 的值。

伪二级动力学方程

$$t/q_t = 1/(2K'q_e^2) + t/q_e \quad (2.2)$$

式中: K'代表伪二级动力学方程的速率常数, $K'q_e^2$ 代表原始吸附速率(h, mg.g⁻¹.min⁻¹)。方程的适用性可以通过 t/q_t 与时间t的线性拟合检验, 参数K'和 q_e 的值分别由直线的截距和斜率求得(表 2.1)。

表 2.1 动力学速率参数

Table 2.1 Rate constants of kinetics

q_e -the (mg/g)	一级动力学方程参数			二级动力学方程参数			
	q_e (mg/g)	K(min ⁻¹)	R ²	q_e (mg/g)	K'[mg(g.min) ⁻¹]	h	R ²
1.42	0.102	0.008	0.1476	1.388	0.658	1.27	0.9993

方程的线性回归系数R²可以检验动力学模型的适用性, 由表1可见, 伪二级动力学

方程的回归系数值大于 Lagergren 一级动力学方程的线性回归系数值，并且计算得到的理论 $q_{e\ the}$ 值更接近实验值 $q_{e\ exp}$ 。因此，李氏禾对 Cr^{6+} 的吸附动力学过程更适合用伪二级动力学方程来描述，这说明吸附是一个有化学作用的过程。

2.3.3 吸附等温线

为明确六价铬在李氏禾颗粒表面的等温吸附行为，采用最常用的 Langmuir 和 Freundlich 模型来拟合等温吸附过程。

Langmuir 吸附模型：

$$C_e/q_e = 1/(Q_0K) + C_e/Q_0 \quad (2.3)$$

式中， C_e 为吸附平衡时溶液中的 Cr^{6+} 浓度，mg/L； q_e 为吸附平衡时李氏禾对 Cr^{6+} 的单位吸附量，mg/g； Q_0 、 K 分别是与吸附容量和吸附能量有关的吸附常数；

Freundlich 模型：

$$q_e = K_f C_e^n \quad (2.4)$$

等式两边分别取对数可得线性表达式：

$$\ln q_e = \ln K_f + 1/n \ln C_e \quad (2.5)$$

式中， q_e 为吸附平衡时 Cr^{6+} 的单位吸附量，mg/g； C_e 为吸附平衡时上清液中的 Cr^{6+} 浓度，mg/L； n 、 K_f 分别是与吸附强度和吸附容量有关的常数；

从 Freundlich 方程可以看出， K_f 是当浓度 $C=1$ 时，即 $\ln C=0$ 时的生物吸附量，因此， K_f 值越大，则吸附量越大。而参数 n 表示吸附剂的吸附强度，代表了被吸附物质浓度对吸附作用的影响。

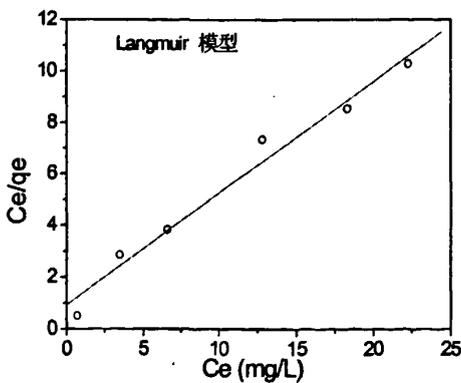


图 2.7 Langmuir 方程拟合图形
($T=25^{\circ}C, pH=3.5$)

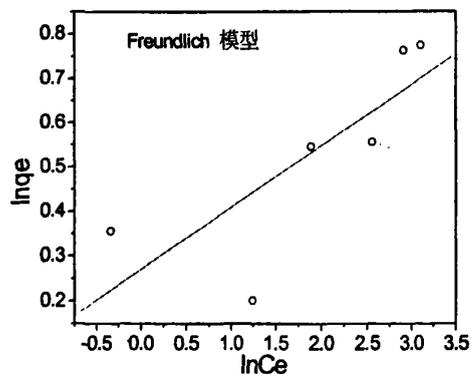


图 2.8 Freundlich 方程拟合图形
($T=25^{\circ}C, pH=3.5$)

Figure 2.5 Langmuir adsorption isotherms Figure 2.6 Freundlich adsorption isotherms

根据Langmuir模型的线性表达式, 将 C_e/q_e 对 C_e 做图, 得到图2.7, 该直线的斜率为 $1/Q_0$, 截距为 $1/(Q_0K)$, Q_0 和 K 的值见表2.2。其拟合直线的回归系数为 $R^2=0.9764$, 图2.8是拟合Freundlich模型的线性结果, 模型的2个参数 n 和 K_f 可分别由该拟合直线的斜率和截距求得(表2.2), 模型的线性回归系数为0.6279, 两者相比较可以看出, 李氏禾对 Cr^{6+} 的等温吸附过程更好的符合Langmuir吸附模型。

表 2.2. Langmuir 和 Freundlich 方程拟合回归参数

Table 2.2 Regression results for Langmuir and Freundlich isotherm

Langmuir等温线			Freundlich 等温线		
Q_0 (mg/g)	K (L/mg)	R^2	K_f (mg/g)	n	R^2
2.307	0.473	0.9764	1.311	7.230	0.6279

这说明李氏禾叶细胞干粉表面存在着大量的吸附位点, 而且被吸附的重金属在吸附位点表面可以形成一固定的单分子层, 并且在所有部位上的相互作用能相等, 同时处于不同吸附部位的重金属之间并不存在相互作用, 即侧向作用力为零。同其他六价铬的吸附材料相比, 李氏禾明显的不同在于具有较高的 Langmuir 模型的 K 值(表 2.3), 这表明李氏禾对六价铬具有较强的吸附能力。

表 2.3 李氏禾生物质与不同六价铬吸附材料的比较

Table 2.3 Comparison of binding strength of *L. hexandra* Sw. biomass for Cr(VI) with that of different materials

Sorbent	pH	Langmuir contact K ($L \cdot mg^{-1}$)	Equilibrium time(min)	Reference
Sargassum sp.	2.0	4.91×10^{-4} (25°C)	60	119
<i>Quercus ithaburensis</i>	2.0	0.081×10^{-3} (25°C)	45	110
Tea factory waste	2.0	0.038 (25°C)	20	120
Modified tailings	2.0	0.045 (25°C)	60	121
<i>Cystoseira indica</i>	3.0	0.047 (25°C)	60	122
<i>Sunflower stem</i>	2.0	0.109 (25°C)	60	123
<i>Lyngbya putealis</i>	3.0	0.157 (25°C)	120	124
<i>Walnut hull</i>	1.0	0.180 (30°C)	100	125
<i>L. hexandra</i> Sw.	2.0	0.473 (25°C)	40	This study
<i>Thuja orientalis</i>	1.5	3.50 (25°C)	60	126

2.3.4 红外谱图分析

通常认为，超积累植物对 Cr(VI)的解毒机理是将六价铬转化为三价铬，为此，我们研究了李氏禾叶细胞干粉吸附 Cr(VI)前后的红外光谱图。取相同方法处理过的李氏禾粉末颗粒，加入 50mL, 90mg/L Cr(VI)溶液，待达到饱和吸附状态时进行干燥，利用红外光谱对其表征，并与未吸附重金属的李氏禾颗粒做对比（图 2.9）。

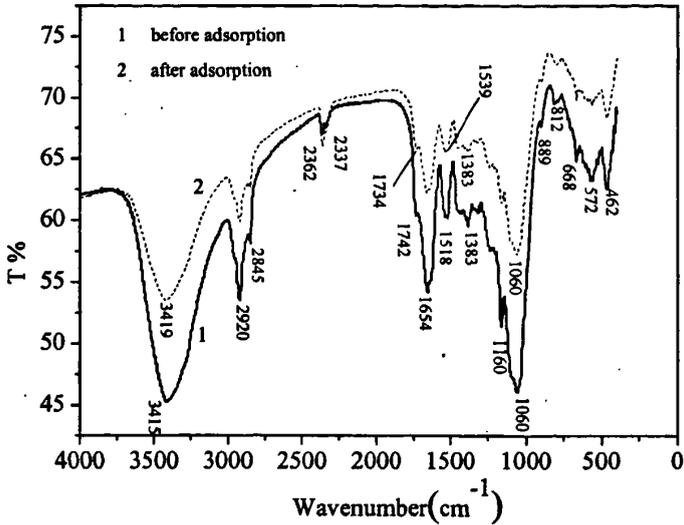


图 2.9 李氏禾吸附Cr(VI)前后红外光谱图

Figure 2.9 Infrared spectra of *Leersia hexandra* Swartz which free and completely absorbed Cr(VI)

从图可以看出，吸附 Cr(VI)前后李氏禾生物干粉样品上都存在较多吸收峰，证明了生物细胞干粉含有大量的官能团。同时吸附 Cr(VI)后的吸收峰强度普遍降低，峰位置发生了一定的变化(见表 2.4)，这说明重金属与叶细胞干粉上分布的官能团发生了强烈的相互作用，破坏了功能官能团的原有结构，使官能团上功能原子的化学键力发生了变化，致使振动吸收峰发生位置和波数上的移动。说明 Cr(VI)与功能官能团之间发生化学反应，推测部分 Cr(VI)被还原为低价态。

表 2.4 红外谱图中的各峰归属和波数分布

Table 2.4 Frequencies (cm^{-1}) and assignments of FTIR bands of free and Cr-bound *L.hexandra Sw*.

空白李氏禾	完全吸附后	归属
3415	3419	N-H键、O-H键形成的伸缩振动
2920, 2845	2920, 2845	甲基, 亚甲基的 C-H 伸缩振动
2362, 2337	2360, 2341	溶解的 CO_2 吸收峰
1742	1734	酮的 C=O 伸缩振动
1654	1658	羧酸盐中 COO^- 的反对称伸缩振动, 酰胺 I 的 C=O 伸缩振动
1518	1539	酰胺 I 的 N-H 弯曲振动
1383	1384	O-H 面内弯曲
1160	1158	C-O 伸缩振动
1060	1060	C-O, C-OH 的伸缩振动

首先在 $3000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内, 羟基和 N-H 键的伸缩振动峰发生重叠, 加入 Cr(VI) 前后都有一尖锐的吸收峰, 由表 2.4 可以看出, 在加入 Cr(VI) 后, 此峰的位置没有发生明显的移动。而 1383 cm^{-1} 处 O-H 键的弯曲振动吸收峰也未发生明显波数上的移动, 同时 1060 cm^{-1} 处的 C-O, C-OH 的伸缩振动吸收峰在加入 Cr(VI) 前后波数上的移动也不明显。但另一方面, N-H 键的弯曲振动吸收峰的波数在加入 Cr(VI) 后, 反而向高波数区移动了 21 cm^{-1} 。因此我们判定 3415 cm^{-1} 峰的变化主要是由羟基的伸缩振动所引起。

另外观察谱图可以看出, 因植物蛋白的存在, $1900\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$ 范围内出现了伸缩振动吸收峰, 对比可以看出, 属于酮羰基的 C=O 伸缩振动吸收峰在完全吸附铬后向低波数区移动了 8 cm^{-1} 。因 N 原子中介效应转移至 1654 cm^{-1} 处的酰胺官能团中的 C=O 伸缩振动, 在完全吸附铬之后, 峰位置的移动也不十分明显, 也就是说官能团中 C=O 的化学键力常数在吸附前后并没有发生大的改变, 进一步说明重金属与功能原子 O 之间并没有形成稳定的化学键。

究其原因, 酸性环境下, 叶细胞生物干粉表面裸露出的带部分负电荷的 O 很容易被溶液中的 H^+ 所攻击, 从而失去了 SP^2 轨道上的孤对电子, 因此与重金属铬之间就无法发生配位作用。但从吸附前后波数的微小移动上推测, 结合 H^+ 之后的 O 可以通过静电作用, 与重金属铬之间形成微弱离子键, 进而可以影响羰基的电子云分布, 使吸收峰的波数发生移动。而酰胺官能团中的 N 原子因质子的酸性作用, 孤对电子可以与 Cr

上的空轨道发生配位, 与之形成 $N \rightarrow Cr(VI)$ 配位键, 从表 3 可以看出, 官能团中 N-H 弯曲振动在完全吸附铬后, 因空间位阻的制约, 振动所需能量升高, 吸收峰向高波数方向移动 21 cm^{-1} , 证明了该配位键的产生。

从功能原子与重金属的相互作用方式上分析, N 与 $Cr(VI)$ 之间较强的配位作用力使得 N 原子对羰基 C 原子上的电子云的吸引能力下降, 致使 C=O 键的电子云密度更集中, 从而羰基伸缩振动所需的能量提高, 因此, 在完全吸附 $Cr(VI)$ 后酰胺官能团上的 C=O 伸缩振动吸收峰将向高波数方向移动。而酮羰基上的 O 在静电吸附铬之后, 使得 C=O 键的电子云密度平均化程度增大, 伸缩振动所需的能量减小, 伸缩振动吸收峰反而向低波数方向移动。这与表 2.4 的实验结果也完全一致, 进一步证实了铬与 O、N 的作用方式是不相同的, 而正是这种选择配位作用造成了李氏禾对重金属的选择吸附特性。

结合谱图中 $900\sim 550\text{ cm}^{-1}$ 指纹区范围内的单键面内弯曲振动还可以看出, 在达到完全吸附平衡后, 此波数范围内峰的个数增加, 但强度相对减弱, 这种振动耦合现象说明重金属在颗粒表面的配合物的结构并不是单一的, 并且可能存在着功能原子共用 $Cr(VI)$ 的现象。

2.4 结论

- (1) 李氏禾的非活性细胞对 $Cr(VI)$ 吸附主要由静电吸附和配位吸附两种作用共同组成, 吸附作用与 pH 值有关, 随着 pH 增大, 吸附作用逐渐减弱, 30min 时吸附可基本达到平衡。
- (2) 动力学拟合结果显示, 吸附动力过程符合伪二级动力学方程, 说明吸附为多种反应同时作用的复杂过程; 等温热力学实验表明吸附过程更好的符合 Langmuir 等温物理吸附方程, 说明李氏禾对 $Cr(VI)$ 是单分子吸附, 而且被吸附的 $Cr(VI)$ 之间不存在相互作用。
- (3) 红外光谱表征发现李氏禾叶细胞干粉表面存在着大量含羰基、羟基、酰胺类结构的官能团, 并且官能团对高毒性的 $Cr(VI)$ 有明显的直接原位还原作用。官能团中功能原子与重金属的作用方式各有不同, 其中 O 主要通过静电吸附与重金属发生作用, 而 N 与 $Cr(VI)$ 可以直接形成配位键, 并且形成的配合物可能具有多种结构构象。

第三章 李氏禾生物质干粉对 Cr(III)的吸附动力学机制研究

3.1 引言

重金属对环境的污染越来越严重。高浓度的重金属对人体和植物都是有较大毒害作用，而且环境的重金属可以通过生物链进行富集，随后对人类造成更大的危害。由于铬在电镀，造纸等行业中的广泛应用，环境水中铬的污染越来越严重。通常认为六价态的铬因其较强的致癌性、诱导突变、致畸性，更多的被人们关注^[127]。虽然三价铬是哺乳动物必须元素，但是当浓度高于 $5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，对鱼类具有毒害作用^[128]。同时，长时间接触也增加了患皮肤癌的几率^[129]。另外，三价铬很容易被环境中的真菌或者其他氧化型物质氧化到毒性强的六价态^[130]。

上面一章内容已经对李氏禾富集吸收六价铬的行为方式以及可能的动力学模型做了具体研究，但对铬的另一种重要形态—三价并没有做研究，这对全面了解李氏禾吸收重金属的特征，对比不同形态铬与李氏禾生物质的不同作用方式，很显然是不利的。因此，研究李氏禾对三价铬的作用行为方式，弄清植物内部所存在的官能团与三价铬之间的结合机理，从而全面的了解李氏禾生物质与不同形态重金属间的作用方式，从化学角度研究超富集植物的富集特性，研究某些具体植物官能团对重金属的作用方式。本文通过继续借助对李氏禾叶细胞生物干粉吸附 Cr(III)过程的动力学和热力学特点的研究，探讨了 Cr(III)与李氏禾叶细胞干粉的作用方式，同时结合红外光谱分析手段，直接辨析了李氏禾植物体内对富集 Cr(III)起作用的官能团。这对于理解 Cr(III)的富集速率、富集方式以及定义超富集作用的效率都有重要作用。

3.2 材料和方法

3.2.1 仪器与试剂

TAS-900 原子吸收光度计(北京普析通用仪器有限公司); 数字酸度仪(上海雷磁公司); Cr(VI)和 Cr(III)标准液。实验中使用的其他试剂均用分析纯试剂配制，实验用水为去离子水。

3.2.2 生物干粉的制备及重金属储备液的配制

在未经污染的地区采取取一定量新鲜李氏禾植株，将其根茎叶分离，去离子水清洗，将洗净的叶子置于 65°C 的烘箱中，干燥后用粉碎机粉碎，得到粒径在 $0.4\sim 0.8 \text{ mm}$ 之间的粉末，储存备用。

以 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9(\text{H}_2\text{O})$ 为, 配制100 mg/L的重金属储备液备用, 实验中其他系列浓度的重金属溶液皆由该储备液稀释而来。实验中的pH调节均使用0.1M盐酸和0.1 M 氢氧化钠进行调节。

3.2.3 吸附实验

取上述李氏禾粉末0.5 g, 按照上一章的方法进行表面清洗。清洗完毕后, 悬浮在100 mL去离子水中, 使最终生物量浓度维持在5 mg/mL。用盐酸或氢氧化钠调节pH在2~6。

取上述系列pH的悬浮液2.0 mL五份(10 mg生物干粉), 分别置于不同离心试管中, 3000rpm下离心5 min, 弃掉上清液保留沉淀, 然后加入对应pH值的10 mg/L的Cr(III)溶液, 充分振荡, 离心, 用火焰原子吸收法(FAAS)测定上清液中重金属Cr(III)浓度。每组进行三个平行统计计算。

分别取八组 $\text{pH}=5.0 \pm 0.1$ 的李氏禾悬浮液2.0 mL, 离心后弃上清液, 各加入初始浓度为10.0 mg/L的Cr(III)溶液, 放在摇床中振荡(200 r/min, 25 °C), 分别在吸附1、2、3、4、5、10、20、30、60、100、120和180 min时间后取出离心(3000 r/min), 测定上清液中Cr(III)含量。每组进行三个平行统计计算。

上述所有操作均在室温情况下完成。

3.2.4 吸附模型

分别取六份 $\text{pH}=5.0 \pm 0.1$ 的李氏禾悬浮液2.0 mL, 离心分离沉淀后, 在沉淀中分别加入浓度为5~25 mg/L Cr(III)溶液, 充分振荡40min后(200 r/min, 25 °C), 离心测定上清液中重金属浓度, 每组平行三份, 以未加重金属的生物量做空白。生物质干粉的吸附能力, 可通过平衡时吸附的重金属质量计算, 公式如下:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)}{M} \times V \quad (3.1)$$

式中: V表示样品的体积(L); M为生物质粉末的干重(g); C_0 为吸附重金属溶液中的最初浓度(mg/L); C_e 为吸附平衡时溶液中的Cr(VI)浓度(mg/L); q_e 为吸附平衡时李氏禾Cr(III)的单位吸附量(mg/g);

3.3 结果与讨论

3.3.1 红外光谱

为了鉴别李氏禾生物干粉与三价铬起作用的官能团, 利用傅里叶红外技术表征了空

白干粉和吸附三价铬重金属之后的生物质干粉，结果如图3.1所示。

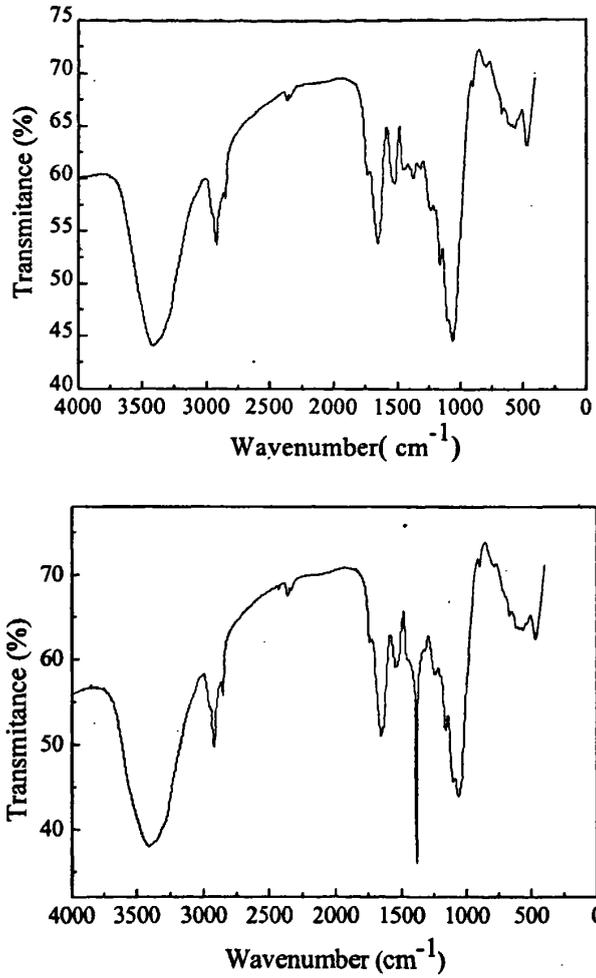


图 3.1 李氏禾吸附Cr(III)前后红外光谱图: (a)空白;(b)吸附三价铬后

Figure 3.1 Infrared spectra of dried *L. hexandra Sw.* biomass: (a) free biomass (b) loaded-Cr(III)

主要振动频率和相应官能团的归属，列举于表 3.1 中：

表 3.1 红外谱图中的波数分布和各峰归属

Table 3.1 IR absorption bands and corresponding possible groups of control and Cr-bound *L. hexandra*

Sw.		
Control	Cr(III) loaded	Functional Groups
3416	3141	Hydrogen-bonded O-H stretching; -NH ₂ groups
2922,2854	2921,2851	C-H stretching (methylene groups)
1739	1737	C=O stretching
1654	1651	C=O stretching in carboxyl or amide groups (amide I band)
1518	1537	N-H bending vibration (amide I band)
1374	1384	O-H in-plane bending, C-N stretching
1162	1162	C-O stretching
1060	1061	C-O, C-OH stretching

很明显在吸附三价铬之后，李氏禾官能团吸收峰的位置存在着位置上的移动，另一方面，静电作用不足以引起官能团吸收位置的改变^[131]，因此图3.1显示的结果暗示了在生物质表面官能团和重金属离子之间存在着一个化学作用过程。

从峰位置上的移动可以判断出，1374 cm⁻¹处O-H的的弯曲振动在吸收三价铬之后，移动到1384 cm⁻¹，说明重金属与功能原子O之间形成了化学键，使得官能团的化学键力常数在吸附前后并发生较大的改变。而对1518 cm⁻¹处N-H的的弯曲振动而言，在充分吸附三价铬之后，吸收峰位置向高波数区移动了8 cm⁻¹，这说明三价铬和官能团中的N、O两种元素都存在着一一定的化学作用，生物质中含此两种元素的官能团对吸附三价铬有着明显作用。

3.3.2 pH 值对吸附的影响

在对六价铬吸附研究的试验中，已经发现吸附效率和pH存在关联，按照相同的实验

思路,研究了在三价铬吸附过程中pH的影响情况。不同pH条件下李氏禾对Cr(III)的吸附率变化如图1,可以看出, pH=2时吸附率最低,吸附率随着pH的升高而升高, pH=6时吸附率最高。

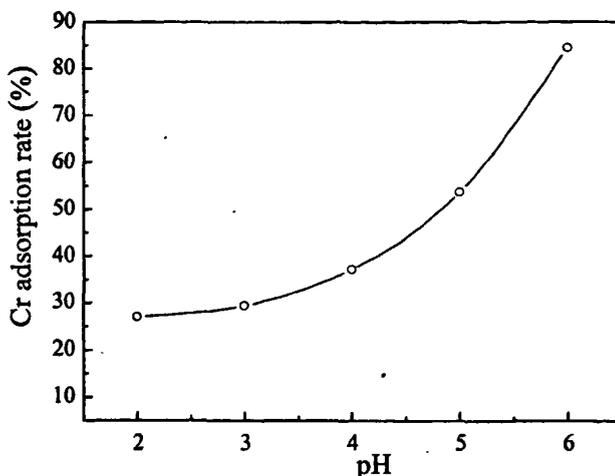


图 3.2 pH值对吸附的影响

Figure 3.2 Effects of pH values on adsorption of Cr(III) ions by dried *L. Hexandra Sw.* cells

溶液 pH 值对吸附过程中重金属与官能团之间的相互作用产生明显影响^[132]。同时, 生物质表面分布的重金属的形态也有 pH 有直接的关系^[110]。因此, 李氏禾对三价铬的吸附与溶液 pH 有直接关系。

在低 pH 值时, 李氏禾细胞生物颗粒周围被正电荷 H^+/H_3O^+ 所包围, 对溶液中的正电荷离子存在着明显的静电排斥力。随着 pH 的增加, 这种质子化程度逐渐减弱, 与此同时, 更多的诸如羧基, 羟基和氨基将暴露出更多的负电荷, 这种变化, 使得溶液中更多的带正电的离子被吸附到生物颗粒表面。颗粒表面这种离子化过程促进了对重金属离子的吸附。

另一方面, 三价铬在溶液中主要以 Cr^{3+} , $Cr(OH)^{2+}$ 和 $Cr(OH)_2^+$ 等阳离子形式存在, 但在 pH=2.0-6.0 范围内仅以 Cr^{3+} 和 $Cr(OH)^{2+}$ 两种阳离子为主要形态。图 3.2 结果显示, 在 pH 6.0 时对三价铬的吸附效率最高, 达 85%。这种酸性官能团的质子化趋势暗示了李氏禾在吸附三价铬的同时, 存在着静电吸引的机制^[133]。

在 pH>4 后, pH 的改变对溶液中质子的浓度影响很小, 即表面官能团的质子化程度在此环境下变化不明显, 因此, 静电引力吸附重金属的改变也就很小。而三价铬在较高的 pH 条件下吸附反而更加明显, 这种现象说明, 生物质表面官能团与三价铬之间还存在着化学吸附作用。而羧基的 pK_a 值在 4.10 ± 0.03 左右, 因此在 pH>4 是, 羧酸根

离子化严重，可以是主要的三价铬离子的配位基团。这个结论和红外中所得的结果也是一致的。

但是，当 pH 大于 5.0 时，三价铬很容易发生水解，因此，后续实验选择 pH=5.0 作为最佳吸附值。

3.3.3 金属原始浓度的影响

选择 $10 \sim 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 不同的重金属铬溶液进行吸附实验。结果表明(图3.3)，在原始浓度于 $10\sim 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间李氏禾三价铬的吸附率基本上保持不变，表明，生物质表面分布着较多的活性位点，但是这些位点在一定的重金属浓度下很容易达到饱和状态^[134]。在较低浓度情况下，金属原始浓度对吸附三价铬的影响很小。

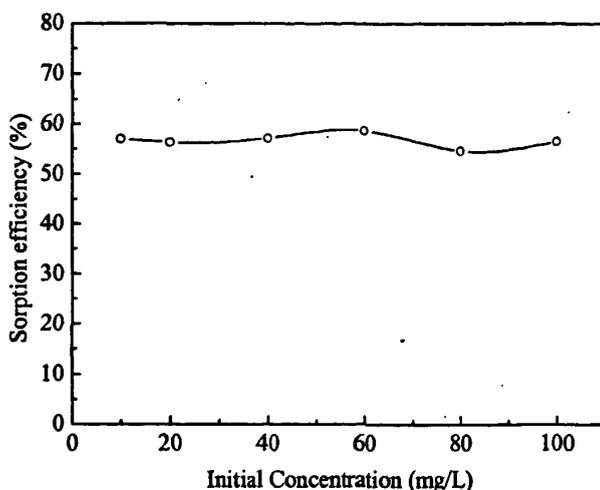


图 3.3 原始金属浓度对吸附的影响

Figure 3.3 Effects of initial concentration on the sorption of Cr(III) ions on *L. hexandra* Sw. biomass

3.3.4 吸附动力学实验

从吸附动力学实验结果可以看出(图3.4)，在吸附开始的最初5min内，生物质干粉对三价铬具有较高的吸附效率，但是，10min以后吸附效率开始变缓。结果显示，约60%的三价铬在吸附的20~60 min内被完全吸附，然后存在着一个较长的平衡时间。在平衡时间之后，离子吸附的数量不随吸附时间的延长而再有明显的改变。因此，在以后的实验中，选择平衡吸附时间为40 min。另一方面，通过与上一章的吸附数据对比发现，李氏禾对三价铬的吸附速率要比对六价铬的高。

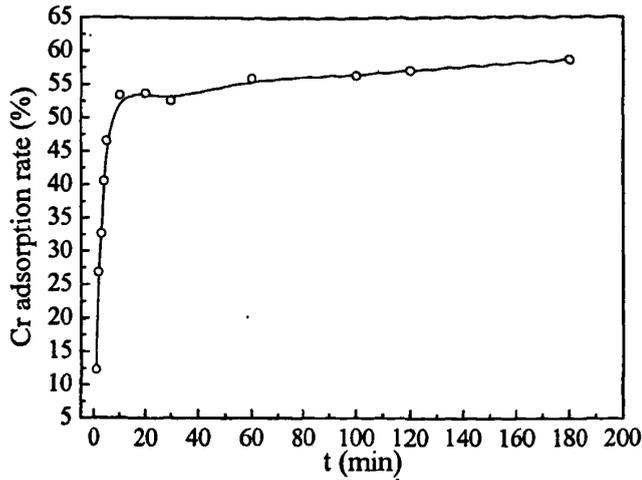


图 3.4 接触时间对李氏禾吸附三价铬的影响

Figure 3.4 Effects of contact time on Cr(III) ions by *L. Hexandra Sw.*

为了研究李氏禾对 Cr^{3+} 的吸附动力学模型，同时和吸附 Cr^{6+} 的动力学特征进行对比，继续采用 Lagergren 一级动力学方程^[117] (式2.1)和伪二级动力学方程^[118] (式2.2)来拟合吸附过程。方程的数学表达式与第二章所用一致，在此不再重复书写。

表3.2列出了两种模型的动力学拟合参数，很明显可以看出伪二级模型的 q_e (2.393)值更加接近于实验值(2.423)，从方程的线性回归系数上分析，为二级动力学模型($R^2=0.9979$)更好的适用于三价铬的吸附模型。这说明对三价铬的吸附类似与六价铬的吸附，两者都是个化学吸附过程，同时，吸附速率和颗粒的吸附位点成比例。

表 3.2 李氏禾吸附三价铬的动力学速率参数

Table 3.2 Kinetic parameters for biosorption of Cr(III) on *L. hexandra Sw.* (T=25 °C)

Metals	Pseudo-first-order Model Parameters				Pseudo-second-order Model Parameters			
	$q_{e,cal}$ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	q_e ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	K_1 (min^{-1})	R^2	q_e ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	K_2 [$\text{mg}(\text{g}\cdot\text{min})^{-1}$]	h	R^2
Cr(III)	2.423	0.871	0.0402	0.6431	2.393	0.200	1.147	0.9979

3.3.5 等温吸附模型

在研究六价铬在李氏禾颗粒表面的等温吸附行为，采用了 Langmuir 和 Freundlich 模型来拟合等温吸附过程。同样，继续选择这两种模型来研究李氏禾对三价铬的等温热力学性质，以获取全面的平衡吸附特征。Langmuir 模型作为单分子吸附的最佳拟合模型，在对六价铬的拟合过程中被很好的应用。而在三价铬的吸附当中，从获取全面信息的角度出发，扩展了 Langmuir 的四种表示形式^[135]，对李氏禾的等温吸附数据进行拟合。

Langmuir 等温吸附模型:

$$q_e = \frac{Q_0 C_e K}{1 + C_e K} \quad (3.2)$$

方程可以转化为四种线性形式:

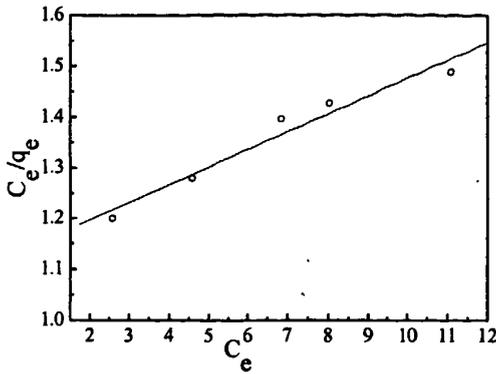
$$\text{Langmuir-1: } \frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Q_0 K} + \frac{C_e}{Q_0} \quad (3.3)$$

$$\text{Langmuir-2: } \frac{1}{q_e} = \frac{1}{Q_0 K C_e} + \frac{1}{Q_0} \quad (3.4)$$

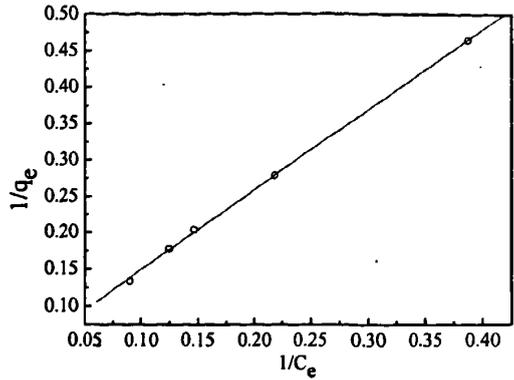
$$\text{Langmuir-3: } q_e = Q_0 - \frac{q_e}{C_e} \left(\frac{1}{K} \right) \quad (3.5)$$

$$\text{Langmuir-4: } \frac{q_e}{C_e} = K Q_0 - K q_e \quad (3.6)$$

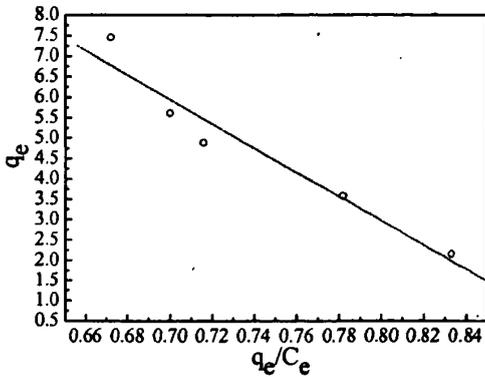
式中， C_e 为吸附平衡时溶液中的 Cr^{3+} 浓度，mg/L； q_e 为吸附平衡时李氏禾对 Cr^{3+} 的单位吸附量，mg/g； Q_0 、 K 分别是与吸附容量和吸附能量有关的吸附常数，直接反映了金属与吸附材料之间的吸附力的大小^[136]；这两个参数，可以分别通过拟合相应线性表达式（图 3.5）后所得的截距和斜率求得，如：将 C_e/q_e 对 C_e (Langmuir-1)做图， $1/q_e$ 对 $1/C_e$ (Langmuir-2)做图， q_e 对 q_e/C_e 做图(Langmuir-3)和 q_e/C_e 对 q_e 做图(Langmuir-4)。



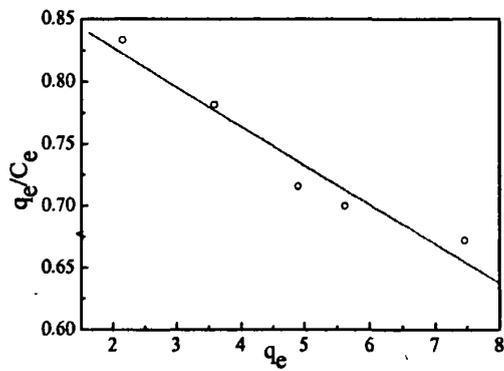
Langmuir-1



Langmuir-2



Langmuir-3



Langmuir-4

图 3.5 李氏禾吸附三价格的Langmuir 方程拟合图形(T=25°C,pH=5.0)

Figure 3.5 Langmuir sorption isotherms of Cr(III) ions on dried *L. Hexandra Sw.*

Freundlich模型与六价格的拟合方程相同，即：

$$q_e = K_f C_e^n \quad (2.4)$$

线性表达式为：

$$\ln q_e = \ln K_f + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (2.5)$$

式中， q_e 为吸附平衡时 Cr^{3+} 的单位吸附量，mg/g； C_e 为吸附平衡时上清液中的 Cr^{3+} 浓度，mg/L； K_f 为最大吸附容量； n 是与吸附强度有关的常数；参数对了解吸附效率有很重要的意义。通过 $\ln q_e$ 对 $\ln C_e$ 作图，拟合结果（图 3.6）的截距和斜率分别表示参数 K_f 和 $1/n$ 的值。

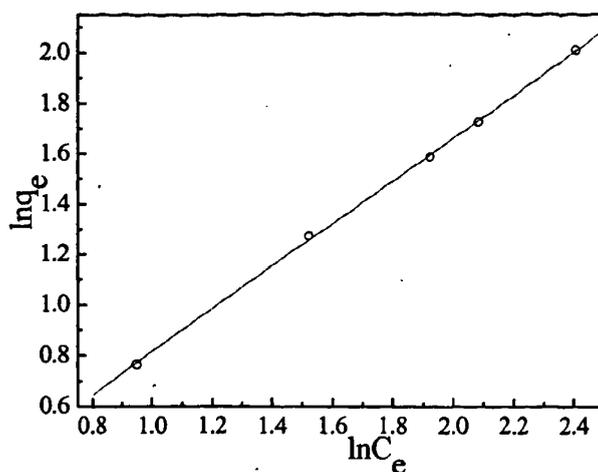


图 3.6 李氏禾吸附三价铬的Freundlich 方程拟合图形(T=25℃,pH=5.0)

Figure 3.6 Freundlich sorption isotherms of Cr(III) on dried *L. Hexandra Sw.*

表3.3列出了两种模型的线性拟合结果

表 3.3 Langmuir 和 Freundlich 方程拟合回归参数

Table 3.3 Langmuir and Freundlich isotherm models parameters obtained for biosorption of Cr (III) on dried *L. hexandra Sw.* biomass (T=25 °C).

	Q_0 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	K ($\text{L}\cdot\text{mg}^{-1}$)	R^2
Langmuir-1	28.64	0.031	0.9551
Langmuir -2	25.42	0.036	0.9994
Langmuir-3	26.80	0.034	0.9418
Langmuir-4	28.16	0.032	0.9418
	n	K_f	
Freundlich	1.182	0.970	0.9995

很明显，Langmuir-2和Freundlich模型对三价铬的吸附数据都有很好的适用性 ($R^2 > 0.999$)，但是Freundlich模型不能提供有关吸附能力的信息，然而Langmuir-2模型对

生物吸附材料的单分子吸附数据有很好的拟合结果，Freundlich模型的线性回归系数要比Langmuir-3和 Langmuir-4的大。同时，Freundlich模型参数 n 介于1~10之间，表明三价铬的吸附是一种亲和性吸附^[137]。

另一方面，吸附三价铬的最大吸附量 $Q_0= 28.64 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (pH=5.0)。与其他吸附材料相比(表 3.4)，李氏禾对三价铬具有较高的吸附能力。因此作为一种陆地湿生的铬超富集植物，李氏禾生物质对修复铬污染水和土壤有较好的潜力。

表 3.4 李氏禾生物质与不同三价铬吸附材料的比较

Table 3.4 Comparative of the adsorption capacity of Cr(III) form different adsorbents

Sorbent	pH	Maximum adsorption capacity(mg/g)	Reference
<i>Reed mat</i>	7.0	7.18	138
<i>Modified peanut husk</i>	4.0	7.67	139
<i>C. hydrous titanium oxide</i>	5.0	17.73	140
<i>Lignin</i>	5.0	17.97	141
<i>Waste-activated sludge</i>	3.0	25.64	142
<i>L. hexandra Sw.</i>	5.0	28.64	This study
<i>ACAS^a</i>	6.0	29.47	143
<i>ATFAC^b</i>	6.0	12.23	144
<i>ACF^c</i>	6.0	39.56	144
<i>Chlorella miniata</i>	4.5	41.12	145

^a: Activated carbon prepared by coconut shell fibers (ATFAC)

^b: Activated-carbon prepared by apricot stone(ACAS)

^c: Activated carbon fibers (ACFs)

3.4 结论

采用李氏禾生物质为吸附材料，研究了其对三价铬的吸附特点，结果表明：李氏禾生物质具有较强的富集吸附较低浓度三价铬 (<100mg/L) 的能力，并且吸附行为符合伪二级动力学模型；采用Freundlich和Langmuir的四种等温吸附模型对平衡吸附数据进行拟合，结果显示Freundlich和Langmuir-2的线性模型都很好的符合三价铬的吸附数据。红外表征证实了李氏禾官能团和三价铬之间存在着一定化学作用，但这些起作用的官能团不仅包括含氮类氨基，也包括含氧的羧酸根离子。

第四章 非活体李氏禾干粉对 Cr(VI)的原位还原过程研究

4.1 引言

随着工业化进程的加速，六价铬在电镀、采矿、制革、印染等行业中的应用越来越广泛，对环境以及人类的危害也日益严重。生物吸附因其快速、无污染的独特优势已经被广泛研究用于治理重金属铬污染，而非活体干粉生物质对重金属铬的吸附能力尤为突出，研究其吸附作用对于研究超富集植物富集机理有重要意义，因此近年来研究也越来越广泛，例如 *walnut hull*^[125], *granules*^[146], *Cladophora albida*^[147], *Cladonia rangiformis(L.)*^[148], *Aspergillus niger*^[149], *Ocimum americanum*^[150]。

研究者将最初的研究重点多放在研究生物材料的吸附能力上，以及吸附过程动力学和热力学模型的分析之上^[151-154]。对新发现的铬超富集植物—李氏禾，我们也同样做了相关研究^[155]，第二章的工作也已经证明李氏禾粉末颗粒对 Cr(VI)具有快速有效地吸附能力，同时得出了酸性条件下李氏禾粉末颗粒吸附 Cr(VI)和 Cr(III)的动力学特征以及平衡吸附的热力学模型，并初步探讨了颗粒表面的特征官能团与两种形态铬之间存在的化学作用。这些初步的研究，对了解重金属在颗粒的表面行为，弄清重金属与颗粒官能团的作用方式，以及在表面的排布模式，从而进一步研究超积累植物富集重金属的深层机理，研究植物特征官能团对重金属的化学作用，并具体定位到特征官能团的某特征元素与重金属之间的内部电子转移动态和方向都有着积极的意义。但是，上述的工作我们并没有讨论 Cr(VI)在表面的价态上的变化，对重金属价态变化的具体值以及价态变化的具体机理也未做深入讨论。

对于生物材料对 Cr(VI)的吸附机理，目前多认为生物材料对重金属存在还原作用，Park^[156]提出了直接还原和间接还原的两种可能方式，一种情况下，认为生物质中含有的给电子体官能团可以直接将六价铬还原到三价；另外还存在着间接还原的可能，即六价铬首先被表面正离子的官能团吸附，然后位于其相邻位置的给电子官能团再继续将被吸附于表面的六价铬还原到三价态，最后三价铬被之间表面起吸附作用的正离子官能团排斥到溶液中去。

因此本文继续相关研究，特别借助 XPS 技术对非活体的李氏禾进行研究，进一步探讨 Cr(VI)被还原的具体过程以及深层机理，特征定义了李氏禾对 Cr(VI)的还原过程，同时研究了颗粒表面原位还原的相关机制。利用 XPS 分析表征颗粒表面分布的铬的价态。另一方面，测定了吸附还原过程中溶液 pH 的变化，研究了李氏禾对 Cr(VI)的还原作用，并提出了李氏禾吸附还原 Cr(VI)的可能机理。

4.2 实验部分

4.2.1 仪器与试剂

CE2021 型可见分光光度计(Cecil); TAS-900 原子吸收光度计(北京普析通用仪器有限公司);数字酸度仪(上海雷磁公司);Cr(VI)和 Cr(III)标准液。实验中使用的其他试剂均用分析纯试剂配制,实验用水为去离子水。

4.2.2 植株干粉的制备及重金属储备液的配制

取定量新鲜李氏禾植株,将根茎叶分离,去离子水清洗,将洗净的叶茎置于65℃的烘箱中,干燥恒重后粉碎,过100目筛子,得到统一粒径在0.3~0.6 mm之间的粉末,储存备用。

分别称取0.2830g $K_2Cr_2O_7$, 0.3848g $Cr(NO_3)_3 \cdot 9(H_2O)$ 基准物,配制100mg/L 的重金属储备液备用,实验中所用重金属溶液皆由对应储备液稀释而来。用盐酸(0.1M)或氢氧化钠(0.1 M)调节到所需pH值。

4.2.3 金属吸附试验

取0.25g 生物干粉,清洗过程参照^[14],清洗完全后,将非活体干粉悬浮在50 mL 去离子水中,使最终生物量浓度维持在5 mg/mL。用盐酸或氢氧化钠调节至选定的pH值(六价铬: pH= 2, 三价铬: pH= 5)。

取上述pH的悬浮液5.0 mL (25 mg 生物干粉),3000 r/min下离心5 min,弃掉上清液保留沉淀,然后加入对应pH值的100 mg/L的Cr(VI)溶液于锥形瓶中,充分振荡(200 r/min)接触反应,在5, 10, 20, 30, 60, 100, 120和180 min间隔内取出离心,测定上清液中重金属 Cr(VI) 和Cr的总浓度。平行测定三次进行统计计算。

为监测吸附过程 pH 的变化,取 10~100 $mg \cdot L^{-1}$ 浓度范围内的 Cr(VI)标准溶液,用 5 mg/mL 生物量进行吸附试验,利用 pH 计测定吸附开始前和吸附平衡后溶液的 pH,记录 pH 的变化。每组平行测定三次进行统计计算。

4.2.4 铬的分析

采用标准比色法^[157]测定溶液中Cr(VI)的浓度,以1,5-二苯基碳酰二肼为显色剂,酸性条件下用分光光度计测定540nm处的吸收(型号Cecil, CE2021)。吸附后溶液中铬的总浓度(Cr(VI)+Cr(III))利用火焰原子吸收测定。两者的差值即为溶液中Cr(III)的浓度。

4.2.5 原位反应的光电子能谱(XPS)分析

各取三份 200mg 李氏禾非活体干粉与 50mL, 1000mg/L Cr(VI)在 pH=2 时混合吸附,分别在吸附 3min、20min、120min 时离心,过滤分离,65℃干燥三天。利用傅里

叶红外分析表征表面分布的官能团；利用 XPS(型号：KRATOS；XSAM800，激发源：MgK α 1253.6eV；16mA \times 12.5kV)进行表面元素的特征价态分析。以不加重金属的生物干粉做空白，电子结合能用污染碳的 C 1s 峰(284.6 eV)校正。

对三价铬采用相同的实验设计，在pH=5时混合吸附，利用XPS进行表面非活体干粉元素的组成和化学价态特征表征。以不加重金属的生物干粉做空白。

4.3 结果与讨论

4.3.1 生物材料的特点

在研究吸附动力学和热力学模型时，利用扫描电镜技术 (SEM) 和傅里叶红外技术(FTIR)，对李氏禾干粉吸附重金属前后的表面形貌及生物质官能团的类型进行了分析，但并没有对李氏禾中相关元素的价态变化做出表征。XPS光谱被广泛应用在区别相同元素的不同形态，鉴别材料表面所存在的特征性元素。通过表征两种重金属吸附的最佳pH下的空白李氏禾干粉的XPS谱图 (图 4.1)，显示了C、O、N是生物质表面的主要元素，位置分别为在287.25 eV (C 1s), 535 eV (O 1s), 399.5eV (N 1s)。同时，氮、氧分别仅在400.1(\pm 0.1)、532.7(\pm 0.1) eV分出一处吸收峰(图 4.2)，这说明氮、氧都是以某种具体单一的形式存在，基于元素的结合能量可以判断，李氏禾表面三种元素主要以-CH₂OH，-CO和-NH-的形式存在^[158]。

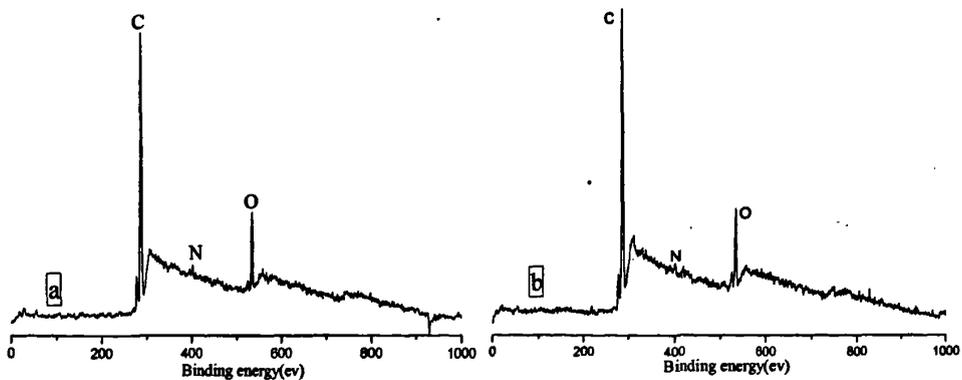


图 4.1 不同pH值条件下李氏禾非活体干粉的XPS的全谱(a: pH=2;b: pH=5)

Figure 4.1. XPS wide-scan survey of atiosic *L. hexandra Sw* biomass

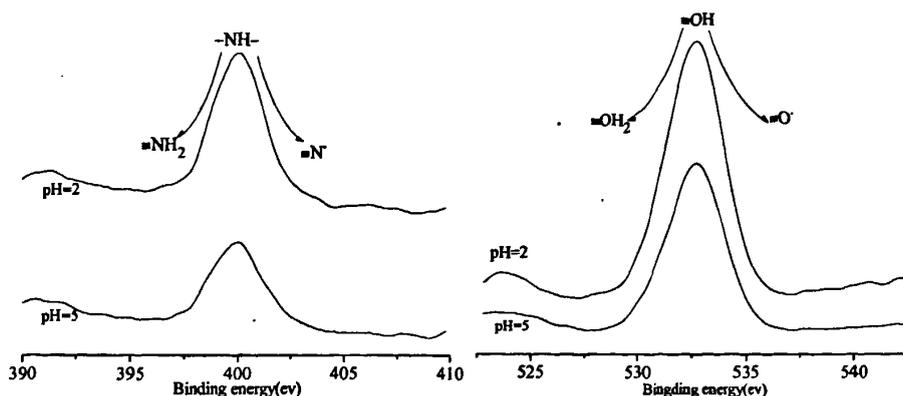


图 4.2. 不同 pH 值条件下 N 1s、O 1s 的 XPS 谱图

Figure 4.2. Typical XPS spectra of nitrogen and oxygen in different pH of *L. hexandra Sw.*

4.3.2 表面官能团的特征描述

为了研究参与Cr(VI)还原过程的主要官能团，利用傅里叶红外技术分别对空白李氏禾，充分吸附Cr(VI) (100 mg/L) 后的生物质非活体干粉进行了表征。结果显示：1800–3500 cm^{-1} 内主要有两个吸收谱带，分别是3415 cm^{-1} (羟基的O–H伸缩振动)和2920 cm^{-1} (–CH₂–的C–H伸缩)；1650–1050 cm^{-1} 指纹区波数内主要分布着C–O的弯曲震动(1383 cm^{-1})以及C–OH伸缩振动(1060 cm^{-1})。对比红外谱图表明，缩氨酸蛋白质的C–O 和C–N(酰胺-I)吸收峰位于1654 cm^{-1} 处；C–N伸缩振动和缩氨酸的N–H(酰胺-I)变形振动在1518 cm^{-1} 处。另一方面，对空白李氏禾植物干粉而言，此波数内主要有植物羧酸盐(–COO⁻)位于1652 cm^{-1} 处的伸缩振动吸收峰，吸附Cr(VI)后转移到1658 cm^{-1} 。另外观察谱图可以看出，因植物蛋白的存在，属于酮羰基以及酰胺官能团中的C=O伸缩振动吸收峰 (1735 cm^{-1} ; 1654 cm^{-1}) 在完全吸附Cr(VI)之后，峰位置的移动并不十分明显，也就是说官能团中C=O的化学键力常数在吸附前后并没有发生大的改变，说明重金属与功能原子O之间并没有形成稳定的化学键。

红外信息表明在对Cr(VI)的吸附还原过程中，非活体李氏禾生物质干粉的含氧、氮元素的表面官能团与重金属间有明显的作用。红外光谱的特点以及具体谱图的解析，在先前的工作中已有介绍^[159]，因此，重新表征后的谱图在本文中就不再列出。

4.3.3 吸附过程的原位还原机制

XPS 可以提供重金属在颗粒表面的价态分布的重要信息，分析吸附 Cr(VI)达到平衡后的李氏禾干粉的 XPS 光谱 (图 4.3,a)，结果显示，在 577eV 和 586eV 处存在着 Cr 2p 的两个吸收峰，这和充分平衡吸附三价铬之后的 XPS 图 (图 4.3,b) 有着较强的相似性，表明了李氏禾生物干粉在和 Cr(VI)充分接触，达到吸附平衡后，生物颗粒表

面的铬以三价形式存在，李氏禾生物颗粒具有把 Cr(VI)还原到 Cr(III)的能力。另一方面，充分接触三价铬的 XPS 谱图存在振荡曲线，说明表面官能团对三价铬的吸附力不牢固，不能将三价铬很好的固定在颗粒表面，致使分布在颗粒表面的重金属含量较低，测定时接近空白值，存在振荡。

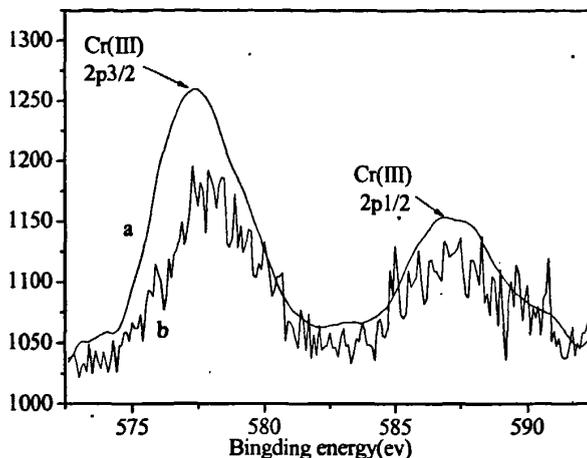


图 4.3 李氏禾干粉吸附重金属的 XPS 谱图(a 完全吸附 Cr(VI),b 完全吸附 Cr(III))

Figure 4.3 XPS spectra of: (a) loaded with 1000 mg/L Cr(VI) solution and (b) loaded with 1000 mg/L Cr(III) (pH=2 for Cr(VI) and pH=5 for Cr(III)).

另外，借助 XPS 表征平衡吸附重金属 Cr(VI)以后，以及平衡吸附之后颗粒表面分布的重金属的价态，显示此种还原过程存在时间上的延续性，在吸附达到平衡后(60min)发生了比较明显的价态转换。在吸附 Cr(VI) 3min 时，存在着不对称的 Cr 2p1/2 峰（图 4.4），表明此时还原过程进行不完全，有两种价态的铬共同存在着。而当吸附进行 20min 后，出现了较清晰的 Cr 2p1/2 和 2p3/2 吸收峰，在吸附达到平衡之后（图 4.4），呈现较完美的 Cr(III) 2p3/2 和 2p1/2 两个峰，说明充分接触后，六价铬被完全还原成三价态。

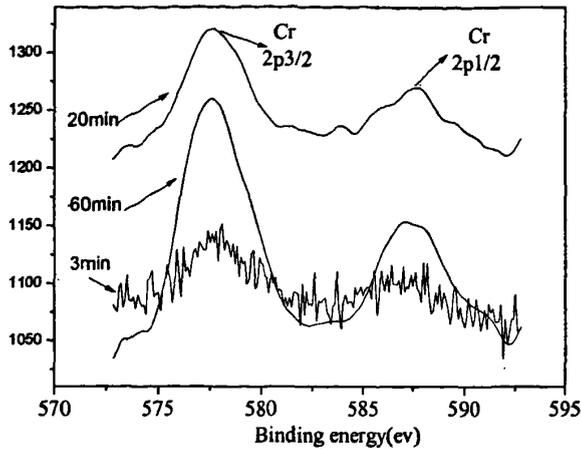


图 4.4. 不同时间下李氏禾吸附 Cr(VI) 的 XPS 谱图 (pH=2.0)

Figure 4.4. XPS spectra of *L. hexandra Sw* loaded with 1000 mg/L Cr(VI) solution (pH=2.0)

进一步研究李氏禾对 Cr(VI) 的还原吸附特性行为, 测定了溶液中 Cr(VI) 的浓度变化情况, 图 4.5 显示, 以 100mg/L Cr(VI) 为基础底液, 在最初的 15min 内 Cr(VI) 的浓度迅速减少, 同时 Cr(III) 的浓度相应增加, 最终 Cr(III) 的浓度维持在 13.10mg/L。三价铬的出现, 证明了在 pH=2 情况下, 李氏禾生物量对 Cr(VI) 具有较强的快速还原能力。同时可以看出, 这种还原过程在 40min 基本趋于稳定。

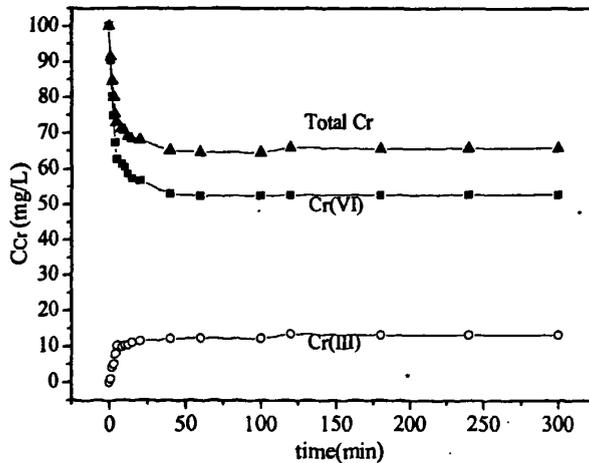


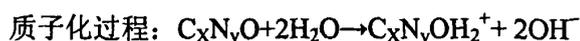
图 4.5 不同形态重金属浓度的变化

Figure 4.5 Dynamics of the removal of Cr(VI) by the protonated *L. hexandra Sw* biomass
Conditions: 100 mg·L⁻¹ of initial Cr(VI) concentration, 5 mg·mL⁻¹ of biomass dosage and pH 2.0

正如红外光谱所示, 李氏禾生物干粉内含有丰富的官能团, 而这些官能团在较低

的 pH 条件下质子化程度较高, 尤以氧元素最明显^[160], 很容易结合质子, 形成新的结合正电荷的表面官能团, 而这种带正电的官能团可以以静电引力的形式, 吸附溶液中以负离子形式存在的 HCrO_4^- 离子, 而质子化的同时会释放出氢氧根离子, 从而使得吸附平衡后溶液的 pH 升高。但是, 质子化的官能团与负阴离子 HCrO_4^- 之间的静电吸附作用, 并不会使重金属的化合价发生变化。

反应历程可以表示如下:



类似的结论在 *yohimbe bark*^[161], *hazelnut shell*^[162], *eucalyptus bark*^[163], *biogas residual slurry*^[164] 吸附重金属过程中也被发现, 也分别把这种质子化吸附过程归于氧原子。

表 4.1 显示, 以 5mg/L 生物质为基础, 在完全吸附重金属 Cr(VI) 后, 达到吸附平衡时, 溶液 pH 值都有一定程度的增加, 这也进一步验证了前面的理论推测。

表 4.1 李氏禾吸附 Cr(VI) 平衡前后重金属溶液 pH 的变化

Table 4.1 The variation of solution pH after Cr(VI) adsorption on *L. hexandra Sw*

Cr(VI)(mg/L)	pH ₁	pH ₂	ΔpH
10	2.04	2.26	0.22
20	2.06	2.24	0.18
30	2.04	2.17	0.13
50	1.96	2.12	0.16
80	2.03	2.23	0.20
100	1.76	1.92	0.16

另一方面, 氧元素结合能(E)与其表面的电荷(Q)状态存在如下关系^[165]:

$$Q = -4.372 + \{ [385.023 - 8.976 \times (545.509 - E_B)]^{1/2} / 4.488 \}$$

式中, Q 是物质中氧的实际电荷, 单位为元电荷; E_B 是 XPS 测定的元素结合能数据(eV)。计算吸附前后氧的电荷: 吸附前 $Q_0 = -1.307$ ($E = 523.7\text{eV}$), 吸附 20min 后 $Q = -1.292$ ($E = 523.9\text{eV}$)。进一步分析不同接触时间下 O 元素的能谱分析可以得到(图 4.6,a), O 在吸附过程中能谱结合能位置并没有发生明显移动, 这表明吸附 Cr(VI) 后, O 原子内层电子

结合能变化不大, 无明显的得失电子趋势, 电荷无明显移动, 即李氏禾官能团的 O 原子内外层之间的电子并没有因铬的吸附而发生位置上的移动, 这表明了在本实验条件下, 李氏禾表面含氧官能团虽对 Cr(VI) 具有明显的吸附作用, 但不能提供 Cr(VI) 还原所必须的电子, 对 Cr(VI) 没有明显的化学还原作用。

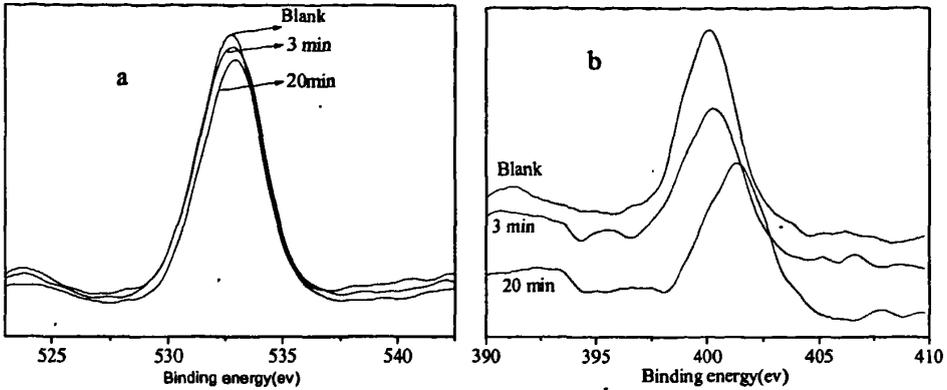


图 4.6. 李氏禾 O, N 元素 XPS 谱图(a: O 元素;b: N 元素)

Figure 4.6. Photoelectron spectra of O, N in *L. hexandra Sw*

但是, 结合图 4.6 曲线 b 可以看到, N 元素的 XPS 能谱在吸附 Cr(VI) 之后结合能发生了较明显的位置移动(从 400eV 移动到 401.3eV); 这表明吸附 Cr(VI) 后, N 原子内层电子结合能增大, 有明显的失电子趋势, 电荷正方向移动, 即吸附了 Cr(VI) 后的李氏禾某些表面官能团发生了负电荷从氮的内层向外层移动, 官能团中的氮作为失电子一方参加吸附还原过程的。而正是这种明显的失电子行为, 提供了在颗粒表面原位还原 Cr(VI) 的可能性。

4.4 结论

李氏禾生物质在低酸性的环境下对六价铬有较强的吸附作用, 可以作为一种铬废水处理的良好吸附材料。借助 X 射线光电子能谱分析了特征元素官能团对 Cr(VI) 的原位还原作用, Cr(VI) 在颗粒表面被特别还原性官能团还原到三价, 一方面含氧官能团在低酸性环境下的质子化, 可以静电吸附 Cr(VI), 促进吸附作用的同时使得溶液 pH 值升高; 另一方面官能团中的 N 元素在吸附过程中, 作为给电子基团, 提供了 Cr(VI) 还原反应所必须的电子, 并与 Cr(VI) 发生明显的化学络合作用, 并将其最终还原到 Cr(III)。李氏禾通过表面官能团的这种原位还原作用, 起到对重金属铬的超富集作用。

第五章 活体李氏禾单株根对 Cr(VI)的迁移动力学过程研究

5.1 引言

植物修复技术因其绿色环保,生物有效性,在治理重金属的污染上的优势体现越来越明显,李氏禾作为湿生植物,为水生环境的铬污染的修复提供了可行性^[166]。前几章我们已经对非活性的李氏禾干粉吸附六价铬和三价铬的动力学特征以及相关可能的吸附机制进行了比较充分的讨论,这些对了解吸附机制很有帮助,但不能反应活体植物吸收重金属的特点,以及重金属在活体根部的分布特点都没有做进一步的讨论。作为铬超富集植物李氏禾,对其根富集铬的模型及重金属在活体根部的迁移、消长和分布,等信息知之甚少。

植物修复效率的高低很大程度上依赖于超积累植物根系吸收重金属的能力,了解超积累植物吸收重金属的根际动态效应,开展根际区域重金属活化机制的原位研究,认知重金属在根际的动态变化过程,不仅有利于揭示活体超积累植物吸收和富集重金属的机理机制,还可以通过改良植被的物理化学特性来提高超积累植物的提取效率,从根本上揭示超积累植物吸收重金属的根际过程^[167]。另一方面,目前用于研究根离子吸收的方法多采用同位素示踪技术,膜片钳技术^[168],液膜离子选择电极^[169],荧光显微成像技术^[170]等。虽然上述方法可以完成对离子浓度的准确测定,但具有时间分辨力差、适用范围窄、噪声大、响应慢等缺点,同时却不能提供根对离子的富集而产生的沿着根的动力学变化,对表面重金属的实时变化的识别能力差。而微电极因面积小,扩散传质速率较高,溶液中的对流作用对电流不会产生明显的影响,因此微电极可以用于流动连续分析。

因此,在前序三价铬工作的基础上^[171],进一步探索水生环境中六价铬在李氏禾根部的实时变化和浓度分布,比较六价铬与三价铬的吸收区别,通过了解这种不同的变化过程,以期对建立了李氏禾根富集六价铬的模型及重金属在活体根部的迁移、消长的规律模型,从而为建立数学模型来描述单株根系的动态主动富集行为过程,了解和预测活体植物动态吸收重金属的数学模型提供科学资料和理论依据。

5.2 实验部分

5.2.1 仪器与试剂

CHI600C型电化学工作站(上海辰华仪器公司), TS100/TS100-F型倒置显微镜(Nikon); MC-5型微操作器(成都泰盟科技有限公司); 金丝(99.9%, $\Phi=0.10$ mm,

Goodfellow Co., Oxford, UK)。

Cr(VI)标准液。实验中使用的其他试剂均用分析纯试剂配制,实验用水为去离子水。所有测定均在室温下进行。

5.2.2 单株李氏禾的预处理及活体培养

采集未污染的新鲜李氏禾植物样品,用去离子水清洗三遍后,放入含有Hoagland营养液的培养槽中进行水培,于培养箱中培养(每天>10 h光照时间;平均日间和夜间温度分别为22°C和18°C,相对湿度70~75%)。待数天后长出新根,选取合适的单颗植株用于实验。

5.2.3 金基汞膜电极的制备及活化处理

普通金丝经电化学腐蚀后,用毛细管密封打磨得到裸金微电极,将其表面进行如下活化预处理:金丝为工作电极,石墨为对电极,0.5 mol/L H₂SO₄做电解液,用5 V交流电将金丝刻蚀10min,降低电压至2~3 V,进一步刻蚀,至足够细为止。将微金丝轻轻放入玻璃毛细管中,金丝尖端与毛细管头部相比缩进2 mm,高温下熔融密封,尾部用502胶水固定并密封,常温下固化半小时。尖端在细砂纸上轻轻打磨至光滑,再用0.5 μm的Al₂O₃抛光至镜面,然后放入无水乙醇中超声清洗3分钟,并用去离子水冲洗,采用循环伏安法在0.5mol/L的H₂SO₄溶液中连续扫描20次,扫描速率为0.05 v/s,扫描范围为0~1.5V,至伏安曲线稳定不在变化,最后电极半径进行化学标定。水洗晾干备用。

采用循环伏安法镀汞的方法制备金基汞膜电极。即在 1.5×10^{-3} mol/L Hg(NO₃)₂和0.1 mol/L KCl溶液中,在电位0~-1.0 V,扫速10 mv/s下扫描,镀好汞的电极表面呈灰白色。再按文献[172]进行活化处理,即将制成的金基汞膜电极和大面积的铂电极(作阳极)插入1.0 mol/L NaOH溶液中,外加12 V电压数秒钟,进行渗氢处理。制成的汞膜电极放在二次蒸馏水中待用。

5.2.4 根表面动力学过程实验

取上述培养的李氏禾单株,用去离子水清洗三遍,置于含有50 μmol/L的NH₄Cl溶液和6 mg/L Cr(VI)溶液的培养皿中,将培养皿置于倒置显微镜上。微电极固定在微操作器上,与根表面上方,测定李氏禾根尖轴向的Cr(VI)浓度随时间的变化值。在测定标准曲线和监测根表面Cr(VI)浓度过程中选用背景溶液为50 μmol/L NH₄Cl,并未使用缓冲溶液,使测定环境更接近实际情况,微操作器使用前已校准,装置示意图参照文献[171]。

5.3 结果与讨论

5.3.1 电极半径的化学标定

对于微圆盘电极，在稳态情况下，极限(扩散)电流可以用下面的通式表示：

$$I_d = 4nFD C^* r_0 \quad (5.1)$$

式中 I_d 代表极限(扩散)电流， C^* 为去极剂的本体浓度， D 为扩散系数， F 为法拉第常数， n 为电化学反应的电子得失数。

测定电极在 $1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的铁氰化钾溶液中的循环伏安响应，图 5.1，显示稳态情形下得到极限扩散电流 $I_d = 8.67 \times 10^{-9} \text{ A}$ ；

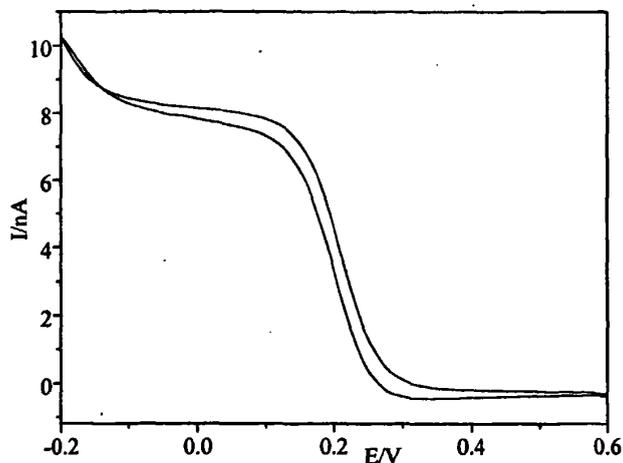


图 5.1 稳态极化曲线

Figure 5.1 The steady state polarization curve

根据扩散系数 $D = 7.5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ ^[173]；法拉第常数 $F = 96485 \text{ C/mol}$ ；电极反应的电子得失数 $n = 1$ ； $[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3+} + e \rightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{2+}]$ ，代入式 5.1 可得： $r_0 = 8.67 \times 10^{-9} \text{ A} / (4 \times 1 \times 96485 \text{ C/mol} \times 7.5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s} \times 1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}) = 2.995 \times 10^{-3} \text{ cm} \approx 29.95 \mu\text{m}$ ，所以电极的直径 Φ 约为 $59.90 \mu\text{m}$ 。

5.3.2 微电极对 Cr(VI) 的响应

配置系列的六价铬标准溶液，背景溶液为 $50 \mu\text{mol/L}$ 的 NH_4Cl ，在无富集状态， 25°C 下进行测定，通过平行测定取均值而得到线性回归方程： $I/\mu\text{A} = 1.197 + 1.366 C_{\text{Cr}^{6+}}$ ， $R^2 = 0.98776$ ，结果如图 5.2 所示。

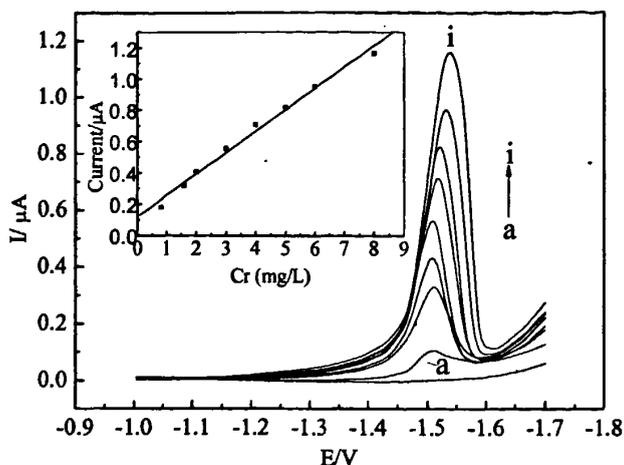


图 5.2 微电极对Cr(VI)测定的DNPV曲线(a~i: 0, 0.8, 1.6, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0 mg/L)

Figure 5.2 The DNPV responses of the proposed immunosensor incubated with the different concentration Cr(VI) containing at pH 7.0 (a~i: 0, 0.8, 1.6, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0 mg/L)

5.3.3 电极的更新与重现性

在6 mg/L Cr(VI)标准溶液中使用同一支微电极在2 h 内重复测定6次, 平均相对偏差RSD为1.36%; 重新修饰电极在相同浓度的六价铬溶液中进行重复测定, RSD为1.50%。说明该电极的稳定性、重现性都较好。另外因汞膜电极表面可能会黏附形成一薄层有机包膜使电极响应滞后或产生混合电位, 在测定过程为了尽可能保持每一次测定后电极表面的一致性, 将测定后的电极在0.1 mol/L KCl中于-0.2~0.8V循环伏安扫描2次即可进行下次试验。采用此法处理后, 用同一修饰电极对6 mg/L Cr(VI)标准溶液进行测定, 再清洗电极, 分别重复11次, 计算得到RSD为4.3%。可见经过上述处理, 能够保证测定结果的重现性。

5.3.4 微电极对 Cr(VI)的安培响应

采用计时电流法研究了Cr(VI)在电极上的安培响应, 施加电位为 -1.65V, 电流~时间曲线如图5.3所示, 当加入Cr(VI)溶液后, 安培电流在大约4s内基本达到稳定。

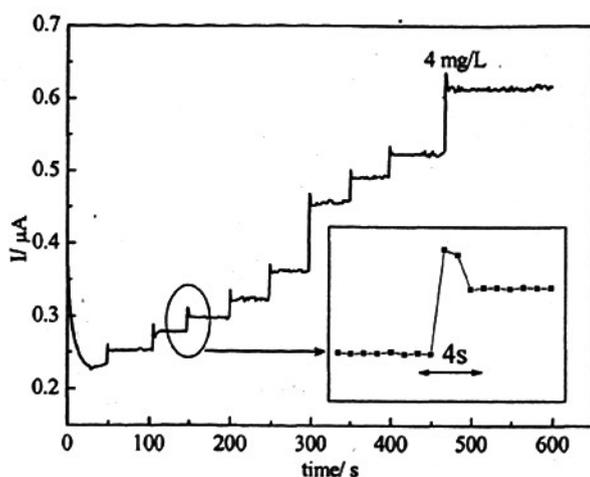


图 5.3 电极在Cr(VI)电流时间响应曲线

Figure 5.3 Typical current-time response curve of the sensor upon successive additions 0.05mL of 100 mg/L Cr(VI)

5.3.5 李氏禾单根表面纵向Cr(VI)浓度的分布测定

将李氏禾根部浸泡 50 $\mu\text{mol/L}$ NH_4Cl 溶液中,静置 15 min.然后开始与 6 mg/L Cr(VI) 溶液接触,选取离根尖不同距离的纵向上的四个位点,每隔 5min 测定同一点的六价铬浓度。图 5.4 显示了李氏禾单根表面 Cr(VI)浓度与根尖端点距离的关系。可以看出,离根尖较近的地方(<100 μm , a, b)六价铬浓度波动比较大,而远离根尖的部位(>100 μm ,c)六价铬在测定过程中浓度基本不发生明显变化。根细胞表面距离大于 200 μm (d)后就基本上没有变化,所以本论文实验选择与根尖表面距离约 50 μm 处进行测定。

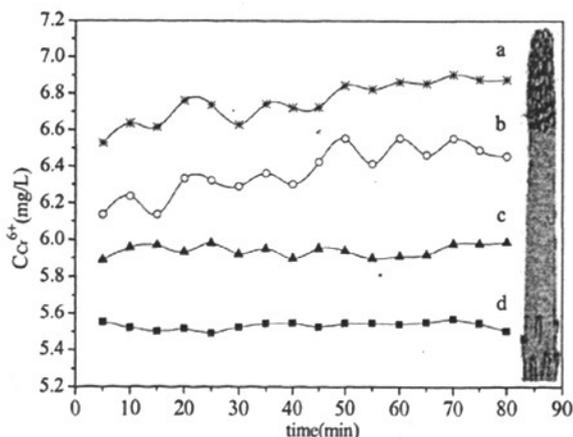


图 5.4 李氏禾单根表面不同部位Cr⁶⁺离子浓度与时间的关系

Figure 5.4 Local Cr⁶⁺ concentration as a function of the time from a root surface(distance from tip a: 30 μm b:50 μm c: 120 μm d: 200 μm)

5.3.6 李氏禾单根表面横向 Cr(VI)浓度的分布测定

在选定的吸收六价铬最活跃的单根纵向位点处,进行横向浓度分布,即浓度与垂直距离关系的测定,李氏禾根尖表面不同垂直距离的 Cr(VI)浓度与时间的关系如图 5.5 所示。从李氏禾根部浸泡在 $50 \mu\text{mol/L NH}_4\text{Cl} + 6 \text{ mg/L Cr(VI)}$ 溶液开始,以后每隔 30 min 记录一次 Cr(VI)的浓度,每次记录的时间为 60 s;

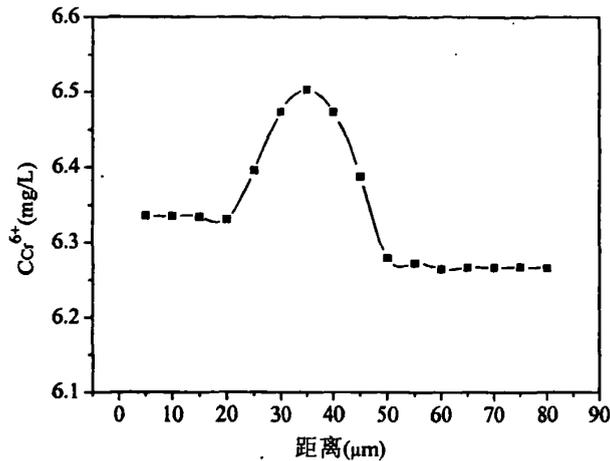


图 5.5 Cr(VI)浓度的响应与根表面垂直距离的关系

Figure 5.5 The effect of vertical distance on Cr(VI) response of the microelectrode away the *L. hexandra* Sw. root

结果显示,在根尖的 $20 \mu\text{m}$ 范围内,六价铬的浓度基本保持不变,而随垂直距离的增大,在 $25\text{--}50 \mu\text{m}$ 的区域内,李氏禾根尖表面的六价铬浓度呈现先增大后减小的分布趋势,并且在离根垂直距离 $35 \mu\text{m}$ 处六价铬的浓度出现最大值。当距离大于 $55 \mu\text{m}$ 时,六价铬的浓度达到最低值且不在发生波动变化,这初步表明六价铬在根尖表面形成一个以单根为轴心的浓度场,六价铬有规律的分布在单根周围,浓度场中六价铬浓度最大出现在距离于根表面垂直距离为 $35 \mu\text{m}$ 左右处。

5.3.7 李氏禾单根 Cr(VI)浓度变化的连续监测

对距离根尖端纵向约 $50 \mu\text{m}$,横向约 $30 \mu\text{m}$ 处Cr(VI)离子浓度进行连续测定,每隔1 min记录一次根表面Cr(VI)离子浓度的电位响应值。Cr(VI)离子选择性电极的响应与时间的关系如图5.6所示。从图可知根尖端Cr(VI)离子浓度出现了较大的波动性,在 $20\text{--}40 \text{ min}$ 区间内波动更明显,而在根吸收重金属六价铬 60 min 后,六价铬浓度趋于稳定,波动程度相对减小。这表明根部对六价铬存在着吸收富集作用,这种富集作用在接触

的最初40min之内进行较为激烈。另外，在非活体的吸附过程中（图2.4），六价铬的浓度在吸附过程中并不发生振荡变化，而在活体李氏禾吸附过程中存在着明显的振荡，说明活体植物对六价铬存在类似于“吞吐”的现象，使得根周围环境中的六价铬浓度发生实时变化。进一步推测活体李氏禾的根对六价铬有着主动富集的能力。

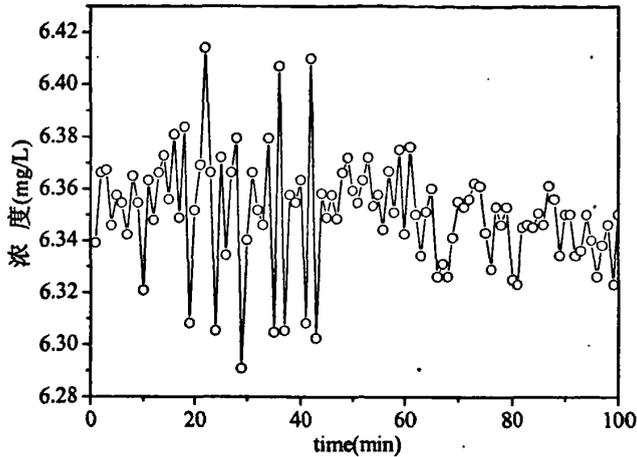


图 5.6 李氏禾根吸收活跃区的 Cr(VI)离子响应

Figure 5.6 Response of the Cr(VI) with the active regional of *L. hexandra Sw.* root

5.4 小结

本文通过在微金电极表面循环伏安法镀汞，制备了金基汞膜微电极，该电极尺寸小，响应快，可以用于Cr(VI)的微区连续监测。使用该电极对铬超积累植物李氏禾单根表面Cr(VI)浓度进行实时和原位分析。发现位于根的尖端纵向约50 μm 处Cr(VI)浓度变化明显，对此处李氏禾根尖表面的Cr(VI)浓度和垂直距离的关系进行测定，在与根表面横向距离约35 μm Cr(VI)的浓度最大。定位该区域是李氏禾对Cr(VI)离子的主要吸收区域；同时，与对Cr(III)的吸收不同，李氏禾根尖对Cr(VI)存在着主动富集的过程，并且这种过程在60min内基本趋于稳定，Cr(VI)在根的吸收活跃区域会形成一个分布不均的浓度场。

第六章 结论

重金属对土壤、水环境等的污染越来越引起人们的关注。铬作为一种常见的有色重金属元素，在生物体内超量时，将对动植物均有毒害作用，如致癌致畸作用。世界各国普遍把铬列为重点防治对象。环境中大量的重金属蓄积，对生态环境造成极大的破坏。近 20 年来，植物修复技术与工程实践紧密结合并逐渐发展起来，利用超积累植物修复重金属污染的植物修复技术越来越受到关注。美国的一些植物修复公司已经成功地开拓了土壤重金属植物修复的实践领域。但是对超富集植物的耐受和富集重金属的机理了解认识不够，植物修复技术在实际工程中的应用与发展速度较慢。李氏禾作为新发现的湿生铬超积累植物，不仅对铬有很强的富集能力，而且具有生长快、地理分布广、适应性强的特点，深入研究李氏禾对铬的吸收与富集行为，对于揭示其富集机理及更有效的利用其植物修复效能均有重要的价值。

本文研究了新型铬超富集植物李氏禾在治理重金属污染治理方面应用，从不同角度分析了其吸收重金属六价铬和三价铬的行为特征。通过生物干粉和重金属在根表面分布行为特征，分析了李氏禾富集重金属的可能机制，探讨了李氏禾还原六价铬到三价铬的可能过程。同时利用微电极特有的优势，针对电化学测定六价铬和超积累植物富集机理的研究中尚需突破的问题，利用金基汞膜微电极，并利用先进的电化学检测和监测技术，作了一些开创性的工作，得到如下有意义的结论：

1、借助拟合吸附动力学和等温热力学方程，研究了湿生超积累植物李氏禾叶细胞干粉对Cr(VI)的吸附性能，考察了pH值、吸附时间等多种因素对吸附性能的影响，结果表明该吸附是单分子吸附的伪二级动力学过程。对Cr(VI)的吸附包含两个过程：Cr(VI)离子通过静电作用富集在干粉材料表面，随后干粉表面存在的功能配位官能团会与Cr(VI)发生化学作用。红外光谱图表明起作用的主要是含O、N功能原子官能团，并且这些官能团中的功能原子与Cr(VI)的作用方式不同。推测形成了具有多重结构构象的配合物。

2、以李氏禾干粉生物质作为Cr(VI)的吸附材料，研究了其吸附Cr(VI)的原位还原过程的特点。红外技术表征了参与铬还原过程的特征官能团。借助X射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy;XPS)原位分析了特征元素官能团对Cr(VI)的还原作用，并探讨了可能的还原机制。结果表明：Cr(VI)在颗粒表面被特别还原性官能团还原到三价，含氧官能团在低酸性环境下的质子化，可以静电吸附Cr(VI)，同时释放氢氧根离子，使得溶液pH值升高；而官能团中的N元素在吸附过程中，提供Cr(VI)还原反应所必须的电子，与Cr(VI)发生明显的化学络合作用，并将其还原到Cr(III)。

3、通过在微金电极表面循环伏安法镀汞，制备了金基汞膜微电极，该电极尺寸小，响应快，可以用于 Cr(VI)的微区连续监测。使用该电极对铬超积累植物李氏禾单根表面铬(VI)离子流进行实时和原位分析。测定了李氏禾根部的 Cr(VI)浓度分布以及实时变化。发现位于根的尖端纵向约 50 μm 处 Cr(VI)浓度变化明显，这就说明该区域是李氏禾对铬(VI)离子的主要纵向吸收区域；对此处李氏禾根尖表面的 Cr(VI)浓度和垂直距离的关系进行测定，发现 Cr(VI)浓度随着距离的增大呈现先增大后减小的趋势，在距离根表面约 35 μm Cr(VI)的浓度最大，六价铬在根的吸收活跃区域形成分布不均的浓度场；李氏禾根尖对六价铬存在着主动富集的过程，并且这种过程在 60min 内基本趋于稳定。

综上所述，论文以李氏禾为研究对象，以研究其富集重金属铬的机制为目的，分别从非活体吸附和活体吸附两个方面进行研究。一方面，在非活体吸附重金属的研究中，以生物干粉作为吸附材料，研究了其富集六价铬和三价铬的动力学特征，并得出了生物干粉吸附两种价态铬的热力学吸附模型，进一步讨论非活体生物物质富集重金属的可能机制，并提出了李氏禾官能团对六价铬的还原作用，对可能的还原过程进行了讨论。另一方面，在研究活体李氏禾吸附富集六价铬的动力学特征时，发现因为根对六价铬的主动富集行为，六价铬在李氏禾根表面会形成一分布不均匀的浓度场，并发现了六价铬在李氏禾根部实时的浓度变化。这两方面的研究，对全面了解李氏禾富集重金属铬的富集机制有很大意义。

但是，由于本人能力及实验条件所限，我觉得论文尚有一些遗憾：比如对李氏禾根尖的 Cr(VI)浓度分布的具体规律，特别是数学模型还有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] Baker A J M, Brooks R R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. *Biorecovery*, 1989, 1: 81~97
- [2] 杨肖娥, 龙新宪, 倪吾钟. 超积累植物吸收重金属的生理及分子机制. *植物营养与肥料学报*, 2002, 8 (1): 8~15
- [3] 孙波, 骆永明. 超积累植物吸收重金属机理的研究进展. *土壤*, 1999, 3: 113~119
- [4] Goncalves M T, Goncalves S C, Portugal A, et al. Effects of nickel hyperaccumulation in *Alyssum pintodasilvae* on model arthropods representatives of two trophic levels. *Plant and Soil*, 2006. 293: 177~188
- [5] Boyd R S., Jhee E M.. A test of elemental defence against slugs by Ni in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator *Streptanthus* species. *Chemoecology*, 2005, 15:179~185
- [6] Gray C W, Dunham S J, Dennis P G, et al. Field evaluation of in situ remediation of a heavy metal contaminated soil using lime and red-mud. *Environ. Pollut.*, 2006, 142: 530~539
- [7] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal Chem.*, 1979, 51(7): 844~850
- [8] 罗小三, 周东美, 陈怀满. 土壤中重金属形态分析研究进展[DB/OL]. 中国科技论文在线, 2005:1~13
- [9] Gambrell R P. Trace and toxic metals in wetland-a review. *J. Environ. Quality*, 1994, 23: 813~819
- [10] Sauman L M. Fractionation method for soil microelements. *Soil Sci.*, 1985, 140: 11~22
- [11] Alborés A F, Cid B P, Gómez E F, et al. Comparison between sequential extraction procedures and single extractions for metal partitioning in sewage sludge samples. *Analyst*, 2000, 125: 353~1357
- [12] 刘春阳, 张宇峰, 滕洁. 土壤中重金属污染的研究进展. *污染防治技术*, 2006, 19(4): 42~45
- [13] Ayoub A S, McGaw B A, Shand C A, et al. Phytoavailability of Cd and Zn in soil estimated by stable isotope exchange and chemical extraction. *Plant and Soil*, 2003, 252: 291~300
- [14] Angle J S, Baker A J M, Whiting S N, et al. Soil moisture effects on uptake of metals by *Thlaspi*, *Alyssum*, and *Berkheya*. *Plant and Soil*, 2003, 256: 325~332
- [15] Jr D H M, Chaney R L, Sparks D L. The effects of soil type and chemical treatment on nickel speciation in refinery enriched soils: A multi-technique investigation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2007, 71(9): 2190~2208
- [16] Sarret G, Saumitou-Laprade P, Bert V, et al. Forms of zinc accumulated in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Plant Phys.*, 2002, 130: 1815~1826
- [17] Nachtegaal M, Marcus M A, Sonke J E, et al. Effects of insitu remediation on the speciation and bioavailability of zinc in a smelter contaminated soil. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 2005, 69: 4649~4664

- [18] Voegelin A, Pfister S, Scheinost A C, et al. Changes in zinc speciation in field soil after contamination with zinc oxide. *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39: 6616-6623
- [19] Nedelkoska T V, Doran P M. Characteristics of heavy metal uptake by plant species with potential for phytoremediation and phytomining. *Miner. Eng.*, 2000, 13(5): 549-561
- [20] Ozturk L, Karanlik S, Ozkutlu F, et al. Shoot biomass and zinc/cadmium uptake for hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species in response to growth on a zinc deficient calcareous soil. *Plant Sci.*, 2003, 164: 1095-1101
- [21] Schwart C, Morel J L, Saumier S, et al. Root development of the Zinc hyperaccumulator plant *Thlaspi caerulescens* as affected by metal origin, content and localization in soil. *Plant and Soil*, 1999, 208: 103-115
- [22] 曹享云. 营养胁迫与根系分泌物. *土壤学进展*, 1994, 22(3): 27-32
- [23] 张福锁. 根系分泌物及其对根际微生态系统中养分有效性的直接影响[A]. *土壤-植物营养研究新动态(第一卷)*[C]. 北京: 北京农业大学出版社, 1992. 64-72
- [24] 郇红建, 蒋新, 常江, 等. 根分泌物在污染土壤生物修复中的作用, *生态学杂志*, 2004, 23(4): 135-139
- [25] McGrath S P, Lombi E, Gray C W. Field evaluation of Cd and Zn phytoextraction potential by the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri*. *Environ. Pollut*, 2006, 141: 115-125
- [26] Cieslinski G, Van Rees K C J, Szmigielska A M, et al. Low-molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation. *Plant and Soil*, 1998, 203: 109-117
- [27] Gleba D, Borisjuk N V, Borisjuk L G, et al. Use of plant roots for phytoremediation and molecular farming. *Colloquium Paper*, 1999, 96(11): 5973-5977
- [28] Tang S R, Wilke B M, Brooks R R. Heavy-metal uptake by metal-tolerant *Elsholtzia splendens* and *Commelina communis* from China. *Commun. Soil Sci. Plan.*, 2001, 32(5-6): 895-905
- [29] 束文圣, 杨开颜, 张志权, 等. 湖北铜绿山古铜矿冶炼渣植被与优势植物的重金属含量研究. *应用与环境生物学报*, 2001, 7(1): 7-12
- [30] 施积炎, 陈英旭, 林琦, 等. 根分泌物与微生物对污染土壤重金属活性的影响. *中国环境科学*, 2004, 24(3): 316-319
- [31] Wójcik M, Vangronsveld J, D'Haenc J, et al. Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens* II. Localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens*. *Environ. Exper. Bot.*, 2005, 53: 163-171
- [32] Turgut C, Pepe M K, Cutright T J. *Environ. Pollut.*, 2004, 131: 147-154
- [33] Salt D E, Kato N, Kramer U, et al. The role of root exudates in nickel hyperaccumulation and tolerance in accumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. In: Terry N, Banuelos G, eds. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press LLC, 2000, pp.189-200
- [34] Singer A C, Bell T, Heywood C A, et al. Phytoremediation of mixed-contaminated soil using the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*: Evidence of histidine as a measure of phytoextractable nickel. *Environ. Pollut*, 2007, 147: 74-82

- [35] Eapen S, Souza S F D. Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. *Biotech. Adv.*, 2005, 23: 97~11
- [36] Yanai J, Zhao F J, McGrath S P, et al. Effect of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Environ. Pollut.*, 2006, 139: 167~175
- [37] Wang A S, Angle J S, Chaney R L, et al. Soil pH effects on uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*. *Plant and Soil*, 2006, 281: 325~337
- [38] Yanai J, Zhao F J, McGrath S P, et al. Effect of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Environ. Pollut.*, 2006, 139: 167~175
- [39] Tu C, Ma L Q. Effects of arsenate and phosphate on their accumulation by an arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata L.* *Plant and Soil*, 2003, 249: 373~382
- [40] Dechamps C, Roosens N H, Hotte C, et al. Growth and mineral element composition in two ecotypes of *Thlaspi caerulescens* on Cd contaminated soil. *Plant and Soil*, 2005, 273: 327~335
- [41] Caille N, Swanwick S, Zhao F J, et al. Arsenic hyperaccumulation by *Pteris vittata* from arsenic contaminated soils and the effect of liming and phosphate fertilization. *Environ. Pollut.*, 2004, 132: 113~120
- [42] Idris R, Kuffner M, Bodrossy L, et al. Characterization of Ni-tolerant methylobacteria associated with the hyperaccumulating plant *Thlaspi goesingense* and description of *Methylobacterium Goesingense* sp. Nov. *Systematic Applied Microbiology*, 2006, 29: 634~644
- [43] 施积炎, 陈英旭, 袁小凤, et al. 同步辐射X 荧光分析海州香薷根中铜结合蛋白的微量元素. *核技术*, 2004, 27(10): 736~739
- [44] Song J, Zhao F J, Luo Y M, et al. Copper uptake by *Elsholtzia splendens* and *Silene vulgaris* and assessment of copper phytoavailability in contaminated soils. *Environ. Pollut.*, 2004, 128(3): 307~315
- [45] Galardi F, Corrales I, Mengoni A, et al. Intra-specific differences in nickel tolerance and accumulation in the Ni-hyperaccumulator *Alyssum bertolonii*. *Environmental and Experimental Bot.*, 2007, 60(1): 50~56
- [46] Wenzel W W, Bunkowski M, Puschenreiter M, et al. Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator and excluder plants on serpentine soil. *Environ. Pollut.*, 2003, 123: 131~138
- [47] Nishazono H. The role of the root cell wall in the heavy metal tolerance of *Athyrium yokoscense*. *Plant and Soil*, 1987, 101: 15~20
- [48] Kramer U, Pickering I J, Prince R C, et al. Subcellular localization and speciation of nickel in hyperaccumulator and non-accumulator *Thlaspi* species. *Plant Physiol*, 2000, 122: 1343~1353
- [49] Salt D E, Prince R C, Baker A J M, et al. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray absorption spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, 1999, 33: 713~717
- [50] Poulter A, Collin H A, Thurman D A, et al. The role of the Cell wall in the mechanism of lead and zinc tolerance in *Anthox an thum odoratum L.* *Plant Sci*, 1985, 42: 61~66

- [51] 李文学, 陈同斌. 超富集植物吸收富集重金属的生理和分子生物学机制. 应用生态学报, 2003, 14(4): 627~631
- [52] 朱俊英, 高荣孚, 许越. 选择性微电极在植物生理学研究中的应用. 植物生理与分子生物学报, 2007, 33(2): 101~108
- [53] 方成, 李建平, 顾海宁. 铜离子选择性微电极及用于银杏根尖离子流的时空监测. 分析化学, 2006, 34(5): 691~694
- [54] Piñeros M A, Shaff J E, Kochian L V. Development, characterization, and application of a cadmium-selective microelectrode for the measurement of cadmium fluxes in roots of *Thlaspi* species and wheat. *Plant Physiol.*, 1998, 116: 1393~1401
- [55] Charissa Y, Huang W, Blaylock M J, et al. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris* species: root As influx and translocation. *Planta*, 2004, 219: 1080~1088
- [56] 龙新宪, 杨肖娥, 叶正钱. 超积累植物的金属配位体及其在植物修复中的应用. 植物生理学通讯, 2003, 39(1): 71~77
- [57] Grotz N, Fox E, Connolly E, et al. Identification of a family of zinc transporter genes that respond to zinc deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998, 95: 7220~7224
- [58] Eapen S, Souza S. F. Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. *Biotech. Adv.*, 2005, 23: 97~114
- [59] 刘素纯, 萧浪涛, 王惠群, 等. 植物对重金属的吸收机制与植物修复技术. 湖南农业大学学报自然科学版, 2004, 30(5): 493~498
- [60] Torresdey J L G, Videá J R P, Rosa G., et al. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. *Coordination Chem. Rev.*, 2005, 249: 1797~1810
- [61] Salt D E, Prince R C, Pickering I J, et al. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiol.*, 1995, 109: 1427~1433
- [62] Strasdeit H, Duhme A K, Kneer R, et al. Evidence for discrete Cd(SCYs)₄ units in cadmium phytochelation complex from EXAFS Spectroscopy. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1991, 16: 1129~1130
- [63] Weiersbye I M, Straker C J, Przybyłowicz W J. Micro-PIXE mapping of elemental distribution in arbuscular mycorrhizal roots of the grass, *Cynodon dactylon*, from gold and uranium mine tailings. *Nuclear Instrum. Methods Phys. Res. B.*, 1999, 158: 335~343
- [64] Budka D, Mesjasz-Przybyłowicz J, W J Przybyłowicz. Micro-PIXE analysis: importance of biological sample preparation techniques. *Rad. Phys. Chem.*, 2004, 71: 785~786
- [65] Lobinski R, Moulin C, Ortega R. Imaging and speciation of trace elements in biological environment. *Biochimie.*, 2006, 88: 1591~1604
- [66] Piñeros M A, Shaff J E, Kochian L V. Development, characterization and application of a cadmium-selective microelectrode for the measurement of cadmium fluxes in roots of *Thlaspi* species and wheat. *Plant Physiol.*, 1998, 116: 1393~1401

- [67] Lombi E, Tearall K L, Howarth J R, et al. Influence of iron status on cadmium and zinc uptake by different ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol.*, 2002, 128:1359~13672
- [68] Howe J A, Loeppert R H, DeRose V J, et al. Localization and speciation of chromium in subterranean clover using XRF, XANES, and EPR spectroscopy. *Bertsch, Environ. Sci. Technol.*, 2003, 37: 4091~4097
- [69] Kramer U, Cotter H J D, Charnock J M, et al. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature*, 1996, 379: 635~638
- [70] Lasat M M, Baker A J M, Kochianl V. Physiological characterization of root Zn^{2+} absorption and translocation to shoots in Zn hyperaccumulator and non-accumulator species of *Thlapi*. *Plant Physiol.*, 1996, 112: 1715~1722
- [71] Polette L³A, G.Torresdey J L, Chianelli R R, et al. XAS and microscopy studies of the uptake and bio-transformation of copper in *Larrea tridentata*(creosote bush). *Microchem. J.*, 1998, 65: 227~236
- [72] Wojcik M, Vangronsveld J, Haenc J D, et al. Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens* II. Localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens*. *Environmental and Experimental Bot.*, 2005, 53: 163~171
- [73] 魏树和, 周启星, 王新. 超积累植物龙葵及其对镉的富集特征. *环境科学*, 2005, 26(3): 167~171
- [74] Solís-Domínguez F A, Gonzlez-chavez M C, Carrillo R, et al. Accumulation and localization of cadmium in *Echinochloa polystachya* grown within a hydroponic system. *J. Hazard. Mater.*, 2007, 141: 630~636
- [75] Rosa G D, Martinez A M, Pelayo H, et al. Production of low-molecular weight thiols as a response to cadmium uptake by tumbleweed (*Salsola kali*). *Plant Physiology and Biochemistry.*, 2005, 43: 491~498
- [76] Ingle R A, Andrew J, Smith C, et al. Responses to nickel in the proteome of the hyperaccumulator plant *Alyssum lesbiacum*. *Bio. Metals.*, 2005, 18:627~641
- [77] 徐明丽, 关启堂, 依艳丽. 重金属植物螯合肽PC的研究进展. *农业环境保护*, 2001, 20(6): 468~470
- [78] Sun R L, Zhou Q X, Sun F H, et al. Antioxidative defense and proline/phytochelatin accumulation in a newly discovered Cd-hyperaccumulator, *Solanum nigrum* L. *Environ. Exper. Bot.* Online publication. 2007
- [79] Cao X D, Ma L Q, Tu C. Antioxidative responses to arsenic in the arsenic-hyperaccumulator Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.). *Environ. Pollut*, 2004, 128(3): 317~325
- [80] Pickering I J, Prince R C, Salt D E, et al. Quantitative, chemically specific imaging of selenium transformation in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2000, 97(20): 10717~10722
- [81] 彭红云, 杨肖娥. 金属有机配体分析方法及金属组学研究. *分析化学*, 2006, 34(8): 1190~1196
- [82] Riddle S G, Tran H H, Dewitt J G, et al. Field, laboratory, and x-ray absorption spectroscopic studies of mercury accumulation by water hyacinths. *Environ. Sci. Technol.*, 2002, 36(9): 1965~1970
- [83] Sarret G, Vangronsveld J, Manceau A, et al. Accumulation forms of Zn and Pb in *Phaseolus vulgaris* in the presence and absence of EDTA. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, 35: 2854~2859

- [84] Pickering I J, Prince R C, George M J, et al. Reduction and coordination of arsenic in indian mustard. *Plant Physiol.*, 2000, 122: 1171~1178
- [85] David W. Heavy metal tolerance genes: prospective tools for bioremediation. *Resources Conservation and Recycling*, 1996, 18: 135~149
- [86] Engoni A, Grassi E, Barzanti R, et al. Genetic diversity of bacterial communities of serpentine soil and of rhizosphere of the nickel hyperaccumulator plant *alyssum bertolonii*. *Microbial Ecology*, 2004, 28(2): 209~217
- [87] Breeuwer P, Drocourt J L, Rombouts F M, et al. A novel method for continuous determination of the intracellular pH in bacteria with the internally conjugated fluorescent probe 5 (and 6)-carboxyfluorescein succinimidyl ester. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, 62: 78~183
- [88] 陈同斌, 黄泽春, 黄宇营, 等. 蜈蚣草羽叶中砷及植物必需营养元素的分布特点. *中国科学C辑*, 2004, 34 (4): 304~309
- [89] Wei Z G, Hong F S, Yin M, et al.. Subcellular and molecular localization of rare earth elements and structural characterization of yttrium bound chlorophyll a in naturally grown fern *Dicranopteris dichotoma*. *Microchem. J.*, 2005, 80: 1~8
- [90] 黄泽春, 陈同斌, 雷梅, 等. 砷超富集植物中砷化学形态及其转化的EXAFS研究. *中国科学C辑*, 2003, 33(6): 489~494
- [91] Zayed A, Lytle C M, Qian J H, et al. Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops. *Planta*, 1998, 206: 293~299
- [92] Lytle C M, Lytle F, Yang N, et al. Reduction of Cr(VI) to Cr(III) by Wetland Plants: Potential for In Situ Heavy Metal Detoxification. *Environ. Sci. Technol.*, 1998, 32: 3087~3093
- [93] Aldrich M V, Torresdey J L, Peralta-Videa J R, et al. Uptake and Reduction of Cr(VI) to Cr(III) by Mesquite: Chromate-Plant Interaction in Hydroponics and Solid Media Studied Using XAS. *Environ. Sci. Technol.*, 2003, 37: 1859~1864
- [94] Sarret G, Saumitou-Laprade P, Bert V, et al, Forms of zinc accumulated in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Plant Physiol*, 2002, 130: 1815~1826
- [95] Shi J Y, Chen Y X, Huang Y Y, et al. SRXRF microprobe as a technique for studying elements distribution in *Elsholtzia splendens*. *Micron.*, 2004, 35: 557~564
- [96] Küpper H, Lombi E, Zhao F J, et al. Cellular compartmentation of nickel in the hyperaccumulators *Alyssum lesbiacum*, *Alyssum bertolonii* and *Thlaspi goesingense*. *Exp. Bot.*, 2001, 52: 2291~2300
- [97] Budka B D, Mesjasz-Przybyłowicz J, Przybyłowicz W J. Micro-PIXE analysis: importance of biological sample preparation techniques. *Rad. Phys. Chem.*, 2004, 71: 785~786
- [98] Weiersbye I M, Straker C J, Przybyłowicz W J. Micro-PIXE mapping of elemental distribution in arbuscular mycorrhizal roots of the grass, *Cynodon dactylon*, from gold and uranium mine tailings. *Nuclear Instrum. Methods in Phys. Res. B.*, 1999, 158: 335~343
- [99] Mikus K V, Pongrac P, Kump P, et al. Localisation and quantification of elements within seeds of Cd/Zn hyperaccumulator *Thlaspi praecox* by micro-PIXE. *Environ. Pollut.*, 2007, 147: 50~59

- [100] Broadhurst C L, Chaney R L, Angle J S, et al. Nickel localization and response to increasing Ni soil levels in leaves of the Ni hyperaccumulator *alyssum murale*. *Plant and Soil*, 2004, 265: 225~242
- [101] Tiravanti G, Petruzzelli D, Passino, R. Pretreatment of tannery wastewaters by an ion exchange process for Cr(III) removal and recovery. *Water Sci. Technol.*, 1997, 36(2-3): 197~207
- [102] Zheng S, Yin D, Miao W, et al. Cr(VI) photoreduction catalysed by ion-exchangeable layered compounds. *J. Photochem. Photobiol.*, 1998, 117(2): 105~109
- [103] Lalvani S B, Wiltowski T, Hubner A, et al. Removal of hexavalent chromium and metal cations by a selective and novel carbon adsorbent. *Carbon*, 1998, 36 (7-8): 1219~1226
- [104] Yuan Y C, Zhang M Q, Rong M Z. Study on the Adsorption Behavior of Crosslinked Chitosan for Ni(II). *Acta Chim. Sinica*, 2005, 63(18): 1753~1758(in Chinese)
- [105] Galardi F, Corrales I, Mengoni A, et al. Intra-specific differences in nickel tolerance and accumulation in the Ni-hyperaccumulator *Alyssum bertolonii*. *Environ. Exp. Bot.*, 2007, 60(3): 377~384
- [106] Wang M, Zou J H, Duan X C, et al. Cadmium accumulation and its effects on metal uptake in maize (*Zea mays L.*). *Bioresour. Technol.*, 2007, 98(1): 82~88
- [107] Deng D M, Shu W S, Zhang J, et al. Zinc and cadmium accumulation and tolerance in populations of *Sedum alfredic*. *Environ. Pollut.*, 2007, 147(2): 381~386
- [108] Zhang X H, Liu J, Huang H T, et al. Chromium accumulation by the hyperaccumulator plant *Leersia hexandra Swartz*. *Chemosphere*, 2007, 67 (6): 1138~1143
- [109] Gardea-Torresdey J L, Tiemann K J, Armendariz V, et al. Characterization of Cr(VI) binding and reduction to Cr(III) by the agricultural byproducts of *Avena monida* (Oat) biomass. *J. Hazard. Mater. B*, 2000, 80(14): 175~188
- [110] Malkoc E, Nuhoglu Y. Determination of kinetic and equilibrium parameters of the batch adsorption of Cr(VI) onto waste acorn of *Quercus ithaburensis*. *Chem. Eng. Process.*, 2007, 46(10): 1020~1029
- [111] Yilmaz A, Kayab A, Korkmaz-Alpoguz H, et al. Kinetic analysis of chromium(VI) ions transport through a bulk liquid membrane containing *p-tert-butylcalix[4]arene dioxaoctylamide* derivative. *Sep. Purif. Technol.* 2008, 59(1): 1~7
- [112] Gode F, Pehlivan E. Removal of Cr(VI) from aqueous solution by two Lewatit-anion exchange resins. *J. Hazard. Mater. B*. 2005, 119: 175~182
- [113] Rayle D L, Cleland R. Enhancement of Wall Loosening and Elongation by Acid Solutions. *Plant Physiol.* 1970, 46(2): 250~253
- [114] Mohanty K, Jha M, Meikap B C. Biswas, M.N. Biosorption of Cr(VI) from aqueous solutions by *Eichhornia crassipes*. *Chem. Eng. J.* 2006, 117: 71~77
- [115] Goyal N, Jain S C, Banerjee U C. Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals. *Adv. Environ. Res.* 2003, 7(2): 311~319
- [116] Ferraz A I, Tavares T. Teixeira, J.A. Cr(III) removal and recovery from *Saccharomyces cerevisiae*. *Chem. Eng. J.* 2004, 105: 11~20

- [117] Aksu Z. Equilibrium and kinetic modelling of cadmium(II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature. *Sepa. Purif. Technol.*, 2001, 21(3): 285~294
- [118] Benquella B, Benaissa H. Cadmium removal from aqueous solutions by chitin: kinetic and equilibrium studies. *Water Res.*, 2002, 36(10): 2463~2474
- [119] Vieira M G A, Oisioviçi R M, Gimenes M L, et al. Biosorption of chromium(VI) using a *Sargassum* sp. packed-bed column. *Bioresour. Technol.*, 2008, 99(8):3094~3099
- [120] Malkoc E, Nuhoglu Y. Potential of tea factory waste for chromium(VI) removal from aqueous solutions: Thermodynamic and kinetic studies. *Sep. Purif. Technol.*, 2007, 54 (3): 291~298
- [121] Wang Y H, Lan Y, Hu Y H. Adsorption mechanisms of Cr(VI) on the modified bauxite tailings. *Miner. Eng.*, 2008, 21(12-14): 913~917
- [122] Basha S, Murthy Z V P. Kinetic and equilibrium models for biosorption of Cr(VI) on chemically modified seaweed, *Cystoseira indica*. *Process Biochem.*, 2007, 42 (11): 1521~1529
- [123] Jain M, Garga V K, Kadirvelu K. Chromium(VI) removal from aqueous system using *Helianthus annuus* (sunflower) stem waste. *J. Hazard. Mater.*, 2009, 162(1): 365~372
- [124] Kiran B, Kaushik A, Kaushik C P. Biosorption of Cr(VI) by native isolate of *Lyngbya putealis* (HH-15) in the presence of salts. *J. Hazard. Mater.*, 2007, 141 (3): 662~667
- [125] Wang X S, Li Z Z, Tao S R. Removal of chromium (VI) from aqueous solution using walnut hull. *J. Environ. Manage.*, 2009, 90: 721~729
- [126] Oguz E. Adsorption characteristics and the kinetics of Cr(VI) on the Thuja orientalis. *Colloids Surf. A*, 2005, 252 (2-3): 121~128
- [127] Hu J, Chen G, Lo-Irene M C. Removal and recovery of Cr(VI) from wastewater by maghemite nanoparticles. *Water Res.*, 2005, 39 (18): 4528~4536
- [128] Alloway B J, Ayres D C. *Chemical Principles of Environmental Pollution*, second ed., Springer, Netherlands, 1996.
- [129] Yun Y S, Park D, Park J M, et al. Biosorption of trivalent chromium on the brown seaweed biomass. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, 35(21): 4353~4358
- [130] Sethunathan N, Megharaj M, Smith L, et al. Microbial role in the failure of natural attenuation of chromium(VI) in long-term tannery waste contaminated soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2005, 105 (4): 657~661
- [131] Persson P, Axe K. Adsorption of oxalate and malonate at the water-goethite interface: Molecular surface speciation from IR spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 2005, 69(3): 541~552
- [132] Kiran I, Akar T, Tunali S. Biosorption of Pb(II) and Cu(II) from aqueous solutions by pretreated biomass of *Neurospora crassa*. *Process Biochem.*, 2005, 40(11): 3550~3558
- [133] Adamczyk Z. Particle adsorption and deposition: role of electrostatic interactions. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2003, (100-102): 267~347
- [134] Mor S, Ravindra K, Bishnoi N R. Adsorption of chromium from aqueous solution by activated alumina and activated charcoal. *Bioresour. Technol.*, 2007, 98 (4): 954~957

- [135] E-Sikaily A, Nemr A E, Khaled A, et al. Removal of toxic chromium from wastewater using green alga *Ulva lactuca* and its activated carbon. *J.Hazard. Mater.*, 2007,148(1-2): 216~228
- [136] Holan Z R, Volesky B, Prasetyo I. Biosorption of cadmium by biomass of marine alge. *Biotechnol. Bioeng.*, 1993, 41(8): 819~825
- [137] Treybal R E, Mass transfer operations. McGraw Hill Publishers, New York. 1980.
- [138] Elangovan R, Philip L, Chandraraj K. Biosorption of chromium species by aquatic weeds: Kinetics and mechanism studies. *J. Hazard.Mater.*, 2008,152 (1): 100~112
- [139] Li Q, Zhai J P, Zhang W Y, et al. Kinetic studies of adsorption of Pb(II), Cr(III) and Cu(II) from aqueous solution by sawdust and modified peanut husk.*J. Hazard. Mater.*, 2007,141 (1): 163~167
- [140] Debnath S, Ghosh U C. Kinetics, isotherm and thermodynamics for Cr(III) and Cr(VI) adsorption from aqueous solutions by crystalline hydrous titanium oxide. *J. Chem. Thermodyn.*, 2008,40 (1): 67~77
- [141] Wu Y, Zhang S Z, Guo X Y, et al, Adsorption of chromium(III) on lignin. *Bioresour. Technol.*, 2008, 99 (16):7709~7715
- [142] Iddou A, Ouali M S. Wase-activated sludge(WAS) as Cr(III) sorbent biosolid from wastewater effluent.*Colloids Surf., B*, 2008,66,240~245
- [143] Kobya M, Demirbas E, Senturk E,et al. Adsorption of heavy metal ions from aqueous solutions by activated carbon prepared from apricot stone. *Bioresour. Technol.*, 2005, 96(13) :1518~1521
- [144] Mohan D, Singh K P, Singh V K. Trivalent chromium removal from wastewater using low cost activated carbon derived from agricultural waste material and activated carbon fabric cloth. *J. Hazard.Mater.B.*, 2006,135(1-3): 280~295
- [145] Han X, Wong Y S, N F Y Tam. Surface complexation mechanism and modeling in Cr(III) biosorption by a microalgal isolate *Chlorella miniata*. *J.Colloid Interface Sci.*, 2006, 303 (2): 365~371
- [146] Massara H, Mulligan C N, Hadjinicolaou J.Hexavalent chromium removal by *viable, granular anaerobic* biomass. *Bioresour. Technol.*, 2008, 99(18): 8637~8642
- [147] Deng L P, Zhang Y, Qin J, et al. Biosorption of Cr(VI) from aqueous solutions by nonliving green algae *Cladophora albida*. *Miner. Eng.*, 2009, 22(4): 372~377
- [148] Bingol A, Aslan A, Cakici A. Biosorption of chromate anions from aqueous solution by a cationic surfactant modified lichen (*Cladonia rangiformis* (L.)). *J.Hazard. Mater.*, 2009, 161(2-3): 747~752
- [149] Khambhaty Y, Mody K, Basha S,et al. Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies on biosorption of hexavalent chromium by dead fungal biomass of marine *Aspergillus niger*.*Chem. Eng. J.*, 2009, 145(3): 489~495
- [150] Lakshmanraj L, Gurusamy A, Gobinath M B. Chandramohan R., Studies on the biosorption of hexavalent chromium from aqueous solutions by using boiled mucilaginous seeds of *Ocimum americanum*. *J. Hazard. Mater.*, *In Press, Accepted Manuscript.*
- [151] Li Z Y, Guo S Y, Li L. Study on the process, thermodynamical isotherm and mechanism of Cr(III) uptake by *Spirulina platensis*. *J. Food Eng.*, 2006, 75: 129~136

- [152] Anjana K, Kaushik A, Kiran B, et al. Biosorption of Cr(VI) by immobilized biomass of two indigenous strains of cyanobacteria isolated from metal contaminated soil. *J. Hazard. Mater.*, 2007, 148: 383~386
- [153] Gupta V K, Rastogi A. Biosorption of lead from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species: Kinetics and equilibrium studies. *J. Hazard. Mater.*, 2008, 152 (1): 407~414
- [154] Oliveira E A, Montanher S F, Andrade A D, et al. Equilibrium studies for the sorption of chromium and nickel from aqueous solutions using raw rice bran. *Process Biochem.*, 2005, 40: 3485~3490
- [155] Li J P, Lin Q Y, Zhang X H, Yan Y. Kinetic parameters and mechanisms of the batch biosorption of Cr(VI) and Cr(III) onto *Leersia hexandra Swartz* biomass. *J. Colloid Interface Sci.*, 2009, 333:71~77
- [156] Park D H, Yun Y S, Park J M. Studies on hexavalent chromium biosorption by chemically-treated biomass of *Ecklonia* sp. *Chemosphere*, 2005, 60: 1356~1364
- [157] Clesceri L S, Greenberg A E, Eaton A D.. *Standard Methods For The Determination Of Water And Wastewater*, 20th ed. United Book Press, Inc., Baltimore, 1998, pp. 365~368
- [158] Li X Q, Zhang W X. Sequestration of Metal Cations with Zerovalent Iron Nanoparticles-A Study with High Resolution X-ray Photoelectron Spectroscopy (HR-XPS). *J. Phys. Chem. C.*, 2007, 111, 6939~6946
- [159] 李建平, 林庆宇, 闫研. 超积累植物李氏禾叶细胞干粉对Cr(VI)的吸附特性研究. *化学学报*, 2008, 66(23): 2646~2652
- [160] Sharma D C, Forster C E. A preliminary examination into the adsorption of hexavalent chromium using low-cost adsorbents. *Bioresour. Technol.*, 1994, 47: 257~264
- [161] Fiol N, Escudero C, Villaescusa I. Chromium sorption and Cr(VI) reduction to Cr(III) By grape stalks and yohimbe bark. *Bioresour. Technol.*, 2008, 99: 5030~5036
- [162] Cimino G, Passerini A, Toscano G. Removal of toxic cations and Cr(VI) from aqueous solution by hazelnut shell. *Water Res.*, 2000,34(11): 2955~2962
- [163] Sarin V, Pant K K. Removal of chromium from industrial waste by using eucalyptus bark. *Bioresour. Technol.*, 2006, 97: 15~20
- [164] Namasvayam C, Yamuna R T. Adsorption of chromium(VI) by a low-cost adsorbent:biogas residual slurry. *Chemosphere*, 1995, 30(3): 561~578
- [165] De Jong B H W S, Ellerbroek D. Low-Temperature Structure of Lithium Nesosilicate, Li_4SiO_4 , and its Lils and Ols X-ray Photoelectron Spectrum. *Acta Cryst. B.*, 1994, 50(5): 511~518
- [166] 张学洪, 罗亚平, 黄海涛,等. 一种新发现的湿生铬超积累植物—李氏禾(*Leersia hexandra Swartz*). *生态学报*, 2006, 6(3): 980~953
- [167] 孙琴,王晓蓉,丁士明. 超积累植物吸收重金属的根际效应研究进展. *生态学杂志*, 2005,24(1): 30~36
- [168] Cui C, Adler J. Effect of potassium-efflux system on mechanonsitive channels in the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*. *J. Membr. Biol.*, 1996, 10: 143~152

- [169] Beer D, Schramm A, Santegoeds C M, et al. A nitrite microsensor for profiling environmental biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1997, 63: 973~977
- [170] Budde B B, Jakobsen M. Real-time measurements of the interaction between single cells of *Listeria monocytogenes* and nisin on a solid surface. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, 66: 3568~3591
- [171] 乐上旺. 铬修饰电极的研制及李氏禾根尖 Cr^{3+} 和 H^+ 离子流的表征: [硕士学位论文]. 广西: 桂林工学院, 2008
- [172] Zbigniew S, Kublik Z. Silver based mercury film electrode I general characteristics and stability of the electrode. *Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 1975, 60: 349~358
- [173] Stackelberg M V, Pilgram M, Toome W. *Z. Elektrochem*, 1953, 57, 342~350

致谢

即将完成我的硕士学业，在这三年的学习研究中，导师李建平教授给创造了良好的学习环境、和谐的科研氛围，导师敏锐而深刻的洞察力、严谨的治学态度、孜孜不倦的育人品格以及对学生无私的关爱，让我收获良多。在此，谨向我的导师致以最诚意的致敬、衷心的感谢！同时，非常感谢魏小平老师在整个读研期间对我的关心和帮助，感谢在我心情低落的时候给予的鼓励和安慰。

感谢材料与化学工程系应用化学教研室的各位老师，是他们丰富了我的专业知识，把我领进分析化学这个充满希望的领域。感谢胡存杰老师在原子吸收测定中给予的便利，感谢测试中心周素莲老师在实验以及生活中提供的诸多帮助。感谢桂林工学院图书馆给我们提供了方便快捷的文献搜索和下载。

感谢俞建国、赵钧、闫研、崔普选四位阶级战友的患难与共，感谢师弟熊志刚、蒋复阳、贾小飞、陈志强，师妹刘蓉、胡月芳，在学习和生活中，我们相互帮助，相互促进。轻松活泼，紧张有序的学术氛围，使我终身难忘。同时，感谢实验室2009届本科毕业生，他们使实验室充满了生气和活力。感谢读研期间认识的每一位朋友，是你们让我拥有了更多美好的回忆。

感谢参与论文评审和答辩的各位专家和教授，能在百忙之中对我的学位论文进行评阅和审议，谢谢各位老师。

最后，感谢我的家人对我的学业的大力支持，在我困惑彷徨、孤单无助的时候，是他们给予了我无私的精神鼓励和物质支持。在此表示深深的敬意和衷心的感谢！

林庆宇

2009年6月于桂林

个人简介

林庆宇, 男, 汉族, 1984年12月出生于山东临沂, 中共党员。2006年6月在山东轻工业学院获得应用化学专业学士学位。2006年9月至2009年6月在桂林理工大学攻读分析化学专业硕士学位, 研究方向: 电化学分析与生物传感器。

研究成果及发表论文:

- [1] 李建平, 林庆宇, 闫研. 超积累植物李氏禾叶细胞干粉对 Cr(VI) 的吸附特性研究. 化学学报, 2008, 66(23): 2646~2652
- [2] 林庆宇, 李建平, 闫研. 超积累植物富集机制研究方法进展. 分析化学, 2008, 36(3): 405~412
- [3] Jianping Li, Qingyu Lin, Xuehong Zhang, Yan Yan. Kinetic parameters and mechanisms of the batch biosorption of Cr(VI) and Cr(III) onto *Leersia hexandra Swartz* biomass. J. Colloid Interface Sci., 2009, 333, 71~77
- [4] 乐上旺, 李建平, 林庆宇. DTPA 修饰固体汞合金电极测定铬(VI)和无机态铬(III). 化学通报, 2008, 71(5): 378~383
- [5] Shangwang LE, Jianping LI, Qingyu LIN. Determination of Chromium Species Using Solid Amalgam Microelectrode Modified with DTPA. The Twelfth Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis (BCEIA 2007), 468~470