



重金属抗性菌及其去除 CMP 废水中 Cu^{2+} 的研究进展

王小雨, 黄小霞, 高 磊

(东北师范大学环境学院, 吉林长春 130017)

[摘要] 环境中重金属主要来源于工业废水的排放, 如何经济有效地去除工业废水中的重金属是水处理领域的难点。重金属抗性菌比通常微生物具有更高的重金属抵抗能力, 可以在重金属胁迫的情况下生长, 这为重金属废水的微生物处理提供了新的思路。但是, 目前人们对重金属抗性微生物的特性和应用仍然知之甚少。基于此, 综述了重金属抗性菌的发现过程及其分离状况, 对重金属抗性菌抗性能力的评价方法进行了介绍, 着重分析了重金属抗性菌抗性机制中可作为去除重金属离子理论基础的胞外吸附与胞内累积机制, 并以集成电路板生产关键工艺, 即化学机械研磨(CMP)过程产生的低浓度含铜废水为处理对象, 总结了重金属抗性菌对铜离子的去除原理及其在 CMP 废水处理中的应用, 最后对今后的研究方向进行了展望, 以期应用重金属抗性菌生物膜处理含铜废水的研究提供参考。

[关键词] 重金属抗性菌; 微生物; 生物吸附; 生物累积; 含铜废水

[中图分类号] X703 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-829X(2023)03-0031-08

Research progress on heavy metal resistant bacteria and their removal of Cu^{2+} from CMP wastewater

WANG Xiaoyu, HUANG Xiaoxia, GAO Lei

(School of Environment, Northeast Normal University, Changchun 130017, China)

Abstract: Heavy metals from industrial effluent are the main resource of environmental heavy metal contamination. How to effectively remove heavy metal ions in industrial effluent is the difficulty of wastewater treatment. Heavy metal resistant bacteria have higher resistance to heavy metals than the common microorganisms and can grow under heavy metal stress, which provides a new approach for the microbial treatment of heavy metal wastewater. However, the knowledge about the characteristics and applications of heavy metal resistant bacteria remain unclear. Based on these, the discovery and separation process of heavy metal resistant bacteria was summarized, and the evaluation methods for the resistance of heavy metal resistant bacteria were introduced. The extracellular adsorption and intracellular accumulation mechanisms that could be used as the theoretical basis for removing heavy metal ions in the resistance mechanism of heavy metal resistant bacteria were emphatically analyzed. Then take the low concentration copper-containing wastewater produced in the chemical mechanical planarization/polishing (CMP) process in the key process of integrated circuit board production as the treatment object, the removal principle of copper ions by heavy metal resistant bacteria and its application in CMP wastewater treatment were summarized. Finally, the future research direction was prospected. It hopes to provide a reference for the application of heavy metal resistant bacteria biofilm in the treatment of copper containing wastewater.

Key words: heavy metal resistant bacteria; microbes; biosorption; bioaccumulation; copper-containing wastewater

重金属污染是一个漫长且不可完全逆转的过程, 其治理难度大、成本高, 是世界各国面临的最棘手的环境问题之一。众所周知, 工业源排放是环境重金属污染的主要贡献者, 因此, 在重金属排放到环

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(52070037); 首批吉林省专业学位研究生教学案例立项建设项目; 东北师范大学研究生院经费 2022 年重点资助项目

境之前,实施源头治理是重金属污染控制的有效保证。在当前污水处理行业既要追求卓越的污染物治理性能,又要降低能耗物耗、最大程度地减少碳排放的情况下,探索重金属行业废水处理新技术,对建设可持续环境友好型社会具有重要理论价值和实际意义。

吸附技术是简单、高效去除废水中污染物的方法之一。重金属微生物吸附是以细菌、真菌和藻类等微生物为吸附剂吸附液相中的重金属离子,之后再通过固液分离去除重金属离子的一种方法^[1]。根据微生物细胞的不同活性,微生物吸附重金属可分为活/生长细胞吸附和死细胞吸附2种方法。尽管二者各有优缺点,但利用微生物活细胞吸附重金属是未来生物吸附领域的研究方向^[2-3]。然而,到目前为止,重金属废水的微生物活细胞处理技术并没有在实际废水处理中得到广泛应用,其大多停留在实验室或中试研究水平^[4],导致这种情况的重要原因之一就是重金属对微生物具有毒性和生长抑制作用。

如何突破重金属废水微生物处理的技术瓶颈一直是工业水处理领域的研究热点。重金属抗性微生物是一类可以在重金属胁迫下生长,比普通微生物具有更高重金属抵抗能力的微生物,极具理论研究和应用价值,近年来在环境污染生物修复领域受到关注和重视^[5]。但是,目前人们对重金属抗性微生物的特性和应用仍然知之甚少。笔者分别以“Metal biosorption”、“Metal biosorption and resistant”为检索主题词在 Web of Science 数据库进行检索,结果见表1。

表1 国内外有关金属生物吸附的文章发表情况

Table 1 The publication of articles on metal biosorption in domestic and foreign

检索主题词	文章数量/篇	中英文综述文章数量/篇	中文综述文章数量/篇
Metal biosorption	12 864	629	47
Metal biosorption and resistant	508	30	1

注:检索数据库 Web of Science, 检索时间 2022.01.15。

由表1可知,国内外有关金属生物吸附研究进展的综述性文章较多(629篇),针对金属抗性生物吸附的综述文章数量比较少(30篇),而中文综述文章则更少,仅有1篇。因此,有必要对近年来国内外重金属抗性微生物理论和应用研究进展进行综述。

基于此,笔者综述了重金属抗性菌及其抗性能力评价方法和重金属细菌抗性机制的研究进展,以集成电路板生产关键工艺过程——化学机械研磨(Chemical mechanical planarization/polishing, CMP)过程产生的含铜废水为处理对象,对重金属抗性菌生长细胞处理低浓度含铜废水的应用进行了总结与展望,以期重金属抗性菌在含铜废水处理中的应用提供参考。

1 重金属抗性菌及其抗性能力评价方法

1.1 重金属抗性菌的发现及分离

作为一种开放的生命体,微生物在其生长过程中不可避免地受到极端环境条件(温度、pH、干旱)和重金属胁迫等影响。当栖息在重金属环境时,部分微生物被发现具有重金属抗性。重金属抗性是指微生物在多种有毒重(准)金属离子存在下能够连续生长的能力^[6]。重金属抗性微生物是某些可以在重金属胁迫条件下连续生长的特定微生物的总称,包括重金属抗性细菌、微藻和真菌等。相对而言,对重金属抗性微生物的研究目前多集中在对重金属抗性细菌的研究上^[7]。

对重金属抗性细菌的研究最早可追溯到20世纪60、70年代,其主要与硫酸铜在养猪和农业种植中的使用有关。硫酸铜可以使猪肠道内微生物菌群发生变化^[8],因此被用作饲料添加剂以使猪的体重增加,研究者在以硫酸铜作为饲料添加剂的养猪场废水中分离出具有铜抗性的 *Escherichia coli*^[9-10]。作为金属无机盐,硫酸铜还常被用作农作物病原菌的杀菌剂,其长期使用后,杀菌效果降低,原因是某些植物病原菌对铜离子产生了抗性,此外,研究人员还在喷洒硫酸铜作为杀菌剂的作物如烟草、土豆、番茄、胡椒、猕猴桃受病原菌侵扰的叶片上分离出多种重金属铜的抗性菌,如 *Xanthomonas campestris pathovar (pv.) vesicatoria*、*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*^[11-12]、*Escherichia coli*^[13-14] 和 *Mycobacterium scrofulaceum*^[15]。

由于细菌对重金属与抗生素具有协同抗性和交叉抗性,临床医学中也涉及到重金属抗性菌的分离,如银作为杀菌药物用于临床医学,研究人员在伤口附近分离出重金属银的抗性菌。在重金属抗性细菌研究早期,已报道的重金属抗性菌主要为肠杆菌科(Enterobacteriaceae)、假单胞菌科(Pseudomonadaceae)、无色细菌科(Achromobacteriaceae)和螺旋菌

科(Spirillaceae)细菌等^[16]。

自20世纪70年代后,不同种类的重金属抗性细菌陆续不断地被分离出来,为微生物重金属抗性机制的研究与应用奠定了基础。丁香假单胞菌、大肠杆菌和海氏肠球菌是重金属抗性细菌抗性机制研究的模式菌。此外,贪铜菌属细菌(*Cupriavidus*)在重金属抗性机制研究中占有重要的地位,是目前已有报道的重金属抗性细菌中比较特殊的一类。贪铜菌属细菌分布广泛,在比利时、美国、中国、德国、新西兰和日本等地都有检出。该菌属最显著的特征是其对铜离子具有抗性,铜离子对贪铜菌属细菌的细胞繁殖没有影响,甚至可能促进其生长。贪铜菌属细菌 *Cupriavidus metallidurans* CH34 是重金属抗性外排系统研究的典型代表菌种,该菌株在比利时炼锌厂滗析槽污泥中被分离获得。由于滗析槽中含有较高浓度的重金属锌、镉和铜等^[17-18],菌株CH34对Cd、Co、Cu、Hg、Ni、Pb、Tl、Zn、Cr等多种重金属具有抗性作用。菌株CH34的抗性基因位于pMOL28(171 kb)和pMOL30(234 kb)2个大质粒上,质粒pMOL28携带铬、镍、钴抗性基因,质粒pMOL30携带锌、钴、铅、铜抗性基因^[19]。

1.2 重金属抗性能力评价

在重金属抗性细菌研究过程中,如何判断某种细菌对重金属具有抗性是一个首要问题。大多数研究采用最小抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)评价细菌对某种抑菌剂(抗生素、重金属离子或杀菌剂)的抗性能力^[20]。为了确定细菌对某种重金属的MIC,通常在细菌培养基中添加不同剂量的重金属盐,能完全抑制细菌生长的该重金属离子的最小浓度即为MIC。尽管MIC性能测试实验可能由于重金属离子与细菌培养基的某种成分产生螯合作用导致重金属离子浓度与实际浓度不完全相符,但其仍然是评估细菌对重金属抗性作用的一种有效方法^[21]。

目前,国内外对重金属铜抗性细菌的筛选研究相当活跃,相当数量的铜抗性细菌被分离出来。表2总结了已报道的重金属抗性菌对常见重金属的MIC值。对于铜而言,假单胞菌属 *Pseudomonas putida* CZ1 的抗性能力最强,其MIC值为5 mmol/L,其次是贪铜菌属 *C. metallidurans* CH34、*C. gilardii* CR3,二者MIC值均为3 mmol/L。对于锌而言,贪铜

菌属中最引人瞩目的是 *C. gilardii* CR3 和 *C. metallidurans* CH34,其MIC值分别为>24、12 mmol/L。

表2 重金属抗性菌及其最小抑菌浓度(MIC)

Table 2 Heavy metal resistant bacteria and their minimum inhibitory concentration(MIC)

细菌	编号	MIC/(mmol·L ⁻¹)					参考文献
		Cd	Co	Cu	Zn	Hg	
<i>Bacillus thuringiensis</i>	/	1.2	0.05	0.5	0.5	0.06	[21]
<i>Cupriavidus metallidurans</i>	CH34	4	25	3	12	0.002 7	[22]
<i>Cupriavidus gilardii</i>	CR3	4	2	3	>24	>0.04	[23]
<i>Citrobacter freundii</i>	JPG1	—	—	2	—	—	[24]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S7	1.5	0.6	1.6	1.5	0.05	[25]
<i>Pseudomonas cepacia</i>	S14	0.2	0.2	1.2	0.2	0.04	[25]
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	S12	0.2	0.2	1.5	0.5	0.05	[25]
<i>Pseudomonas putida</i>	CZ1	—	—	5	5	—	[26]

注:—表示无测定值。

2 重金属抗性菌的抗性机制

为了避免过量重金属离子对细胞的生物毒性,细菌在长期的进化过程中形成了复杂多样的重金属抗性机制以维持正常的细胞内重金属离子浓度。依据不同的角度和理解,研究者对细菌的重金属抗性机制有着不同的划分^[27-28],如R. M. MAIER等^[28]认为重金属抗性机制包括一般抗性机制和依赖金属的特殊抗性机制;J. A. LEMIRE等^[29]把细菌的重金属抗性机制归纳为如图1所示的5个方面,包括细胞外隔离、减少摄取、外排系统、胞内累积和解毒机制,其认为当环境中存在过量重金属时,细菌可通过渗透屏障、胞外蛋白/螯合剂与被动容忍作用减少对重金属离子的摄取,当重金属离子跨膜进入胞内后,细菌可通过外排系统将胞内重金属离子主动运输到胞外。此外,细菌还可通过重金属与胞内蛋白/螯合剂结合、酶解毒、降低重金属靶标敏感性等多重作用使重金属在胞内进行累积和解毒^[27,30]。

鉴于对于重金属胞内外排机制国内外已经有大量专门的综述类文章^[31-32],以下仅对细菌的重金属抗性机制中的生物吸附和胞内累积进行综述。

2.1 生物吸附

生物吸附(Biosorption)是一个概括性的术语,它包括多种作用机制,A. ROBALDS等^[33]把生物吸附机理归纳为物理吸附、化学吸附、离子交换和微沉淀,其中化学吸附包括螯合作用与共价作用。对于重金属抗性菌而言,生物吸附是指其通过细胞外部

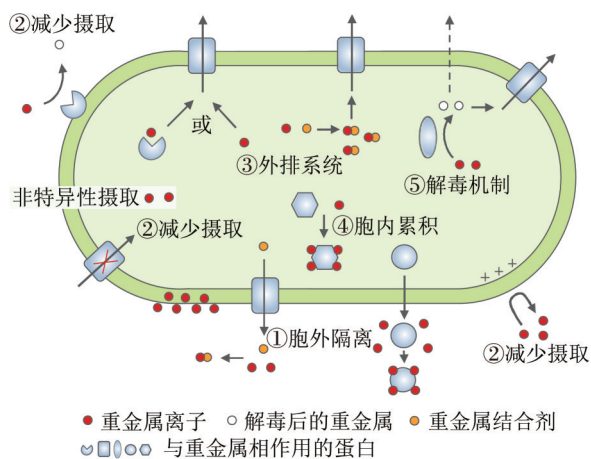


图1 细菌的重金属抗性机制

Fig. 1 Mechanisms of heavy metal resistance in bacteria

和细胞表面的吸附位点将重金属离子吸附在细胞表面,减少细胞对重金属的摄入量,以提高自身抵抗重金属能力的重要机制^[34]。

重金属细胞外部吸附的主体是胞外聚合物(Extracellular polymeric substance, EPS),它是微生物活细胞代谢过程分泌在细胞表层的高分子聚合物,主要成分为不定比例的蛋白质和多糖,以及少量的核酸、脂类和腐殖酸等^[35-36]。

EPS中的大分子含有多种可以与重金属离子结合的阴离子基团,如羧基、羟基、巯基和磷酸根基团等,各阴离子基团通过配位、吸附、沉淀和架桥絮凝等作用吸附重金属离子,防止重金属离子与细胞作用^[37]。研究发现适当的重金属离子浓度可以诱导细菌增加EPS的分泌,即在一定浓度的重金属环境中,细菌对重金属胁迫产生响应而上调胞外聚合物基因的表达,从而增加胞外聚合物对重金属离子的捕获,如 *Pseudomonas putida*^[26]、*Pseudomonas aeruginosa*^[38]、*B. subtilis*^[39]在铜的作用下,EPS都有明显的增加。反之,如果去除菌属细菌产生的胞外多糖,细菌吸附重金属能力明显降低,对重金属的敏感性增加。

随着研究的不断深入,细胞外部吸附和细胞表面吸附机理逐渐明晰。研究表明,除了EPS,构成细菌细胞壁的化学组分也可以吸附重金属离子。这是因为细菌细胞壁组分中所含的大量肽聚糖、脂多糖、脂类和磷壁酸等也可与重金属离子发生物理、化学作用,通过离子交换、表面络合、氧化还原、无机微沉淀和静电作用等吸附重金属离子从而减少进入胞内

的重金属离子。如革兰氏阳性菌的细胞壁中含有90%的肽聚糖以及较多的磷壁酸,带有较强的负电荷,能吸附重金属阳离子,而革兰氏阴性菌细胞壁中脂多糖内的磷酸基团和磷脂已被证明是与重金属相互作用的主要活性位点^[40]。需要指出的是,细胞表面吸附是不依赖微生物代谢活动的被动吸附过程,即使是微生物的死细胞,其生物质作为吸附剂同样可以吸附重金属离子。

2.2 胞内累积

对于重金属抗性细菌而言,EPS吸附和细胞壁吸附构成了细菌抵御重金属进入胞内的第一道防线,当胞外EPS和细胞壁表面官能团上与重金属离子结合的位点饱和后,过量的重金属离子会进入胞内,导致酶失活、蛋白质氧化、DNA损伤等。为使自身免受重金属的毒害,细菌会启动胞内累积(Bioaccumulation)与解毒机制。胞内累积是一种主动吸收过程,涉及重金属离子的跨膜转运、细胞内积累等多种生理代谢调节过程。

细菌对重金属的生物累积存在2种可能机制。一种是重金属离子通过细胞膜进入到细胞质中,在细胞内特定的区域被隔离,以防止其接触到重要的细胞组分或细胞器^[41],另一种是重金属离子与细菌体内有生物活性的配位体发生特异的生物化学反应后形成螯合物对细菌进行生物解毒^[42]。原核生物(如细菌)胞内含有谷胱甘肽(Glutathione, GSH)、金属硫蛋白等,这些物质可与重金属离子结合形成螯合物,对于重金属的解毒和防御重金属引起的氧化胁迫具有重要作用。GSH是由谷氨酸、半胱氨酸及甘氨酸组成的三肽,其含有的氨基、巯基、羧基和酰胺基等多种配位基团可与重金属离子结合,在生物体内对重金属进行累积。GSH还可以清除因重金属胁迫产生的活性氧自由基,以此来降低重金属离子对细胞的生物毒性^[43]。细菌的重金属抗性机制是菌细胞应对重金属胁迫产生的一系列复杂的生理生化反应,Ning HUANG等^[5]通过基因组与转录组学研究表明细菌对重金属的抗性往往不依赖于单一的机制,而是多种系统相互作用的结果。

3 重金属抗性菌对 Cu^{2+} 的去除原理及其在CMP废水处理中的应用

3.1 重金属抗性菌对 Cu^{2+} 的去除原理

细菌对重金属的抗性机制是其处理重金属废水

的理论基础。根据生物生长需要与否,重金属可分为生物必需的重金属(Biological heavy metals)和生物非需要的重金属(Non-biological heavy metals)。铜是生物生长所必需的一种微量元素,在生物新陈代谢中起着不可或缺的重要作用。但是,过量铜会产生毒性,诱导细胞产生过量的活性氧引起氧化胁迫,导致生物体酶失活、蛋白质氧化以及DNA损伤等。这种互为矛盾的“二重性”作用使铜成为微生物重金属抗性机制研究中一个代表性重金属。

重金属抗性菌去除废水中铜离子的机理见图2。

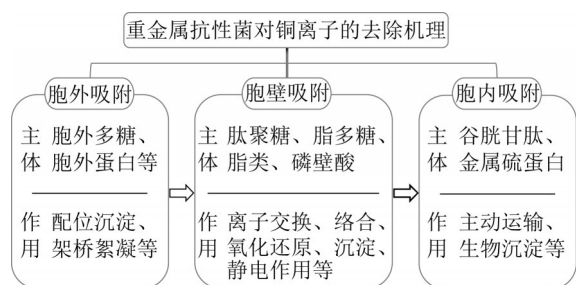


图2 重金属抗性菌对铜离子的去除机理

Fig. 2 Removal mechanism of Cu²⁺ by heavy metal resistant bacteria

综合图2来看,重金属抗性菌对铜离子的去除机理主要包括2个方面,一是重金属活性菌通过生物吸附和胞内累积对重金属离子进行绑定,二是重金属抗性菌具有复杂多样的重金属外排系统,这使得重金属抗性菌在浓度较高的重金属环境中可以维持胞内重金属离子稳态(Homestasis)并保持自身生长,是细菌提高重金属抗性的内在解毒机制。生物吸附中的细胞壁对重金属的去除作用属于被动吸附,与细胞代谢无关,而EPS吸附、胞内累积和外排系统均与细胞代谢有关,并且具有特异性。

3.2 重金属抗性菌对化学机械研磨废水中Cu²⁺的去除

3.2.1 化学机械研磨含铜废水特点与处理现状

铜是应用最广泛的重金属之一,含铜废水是重金属废水的典型代表。传统的含铜废水主要来自铜矿采选、冶炼、化工、印染、电镀等行业排放。近年来,随着新兴电子产业的发展,印刷电路板、集成电路制造行业生产过程中产生大量低浓度含铜废水[$\rho(\text{Cu}^{2+}) < 100 \text{ mg/L}$],此类废水的处理日益受到研究者的关注。化学机械研磨(CMP)已成为半导体集成

电路制造过程中实现晶圆全局均匀平坦化的关键工艺,该工艺需要大量超纯水清洗晶圆研磨过程中产生的铜离子、二氧化硅及多种化学药剂。因此,CMP废水排放量大,约占整个半导体制造过程废水总量的30%~40%^[44],且其水质成分复杂,悬浮物和Cu²⁺含量较高^[45-48]。

目前,CMP废水中Cu²⁺的处理方法主要有化学沉淀法、电化学方法^[49]、离子交换树脂法^[50]和膜过滤处理法^[51]。这些物理化学处理方法可实现Cu²⁺达标排放,但缺点是耗能大、费用高。因此,国内外研究者尝试采用生物法处理CMP废水中的Cu²⁺^[52-57]。

3.2.2 重金属抗性菌对CMP废水中Cu²⁺的去除

在去除CMP废水中Cu²⁺的研究中,所采用的重金属抗性菌有固定化^[52-56]和浮游态^[57]2种形式。从已有研究来看,绝大多数研究对细菌采用了固定化方式。一般来说,固定化微生物技术可使微生物固着生长,保持高的生物活性,是提高重金属抗性微生物活性的重要方法。国内外有大量关于采用生物膜及其胞外聚合物对Cu²⁺进行吸附处理的报道^[58]。

L. C. STANLEY等^[52]以分离自美国亚利桑那州绿谷市Cyprus Sierrita铜矿周边土壤的细菌*Staphylococcus sp. Soil 5Y*为重金属抗性菌,在进水流量为0.8~1.6 mL/min条件下,采用微生物填充柱连续吸附去除模拟和真实CMP废水中的Cu²⁺[$\rho(\text{Cu}^{2+}) = 10 \sim 40 \text{ mg/L}$],实验结果表明,该方法可以有效去除CMP废水中Cu²⁺,使其出水质量浓度低于1 mg/L,细菌*Staphylococcus sp. Soil 5Y*对于Cu²⁺的吸附量为(140±50) mg/g,且其再生过程无需处理大量的有害固废。A. P. MOSIER等^[53]和Xiaoyu WANG等^[54]同样采用类似的重金属抗性菌活细胞固定微生物吸附柱研究了重金属抗性菌对于CMP废水中Cu²⁺的去除。A. P. MOSIER等^[53]所采用的抗性微生物是重金属抗性细菌*Lactobacillus casei*和毕赤酵母*Pichia pastoris*的混合菌生物膜,细菌的固定化载体为活性炭,实验表明固定化混合生物膜对含5 mg/L Cu²⁺的模拟CMP废水中Cu²⁺的去除率为79%。此外,该研究采用1.0 mmol/L的HCl溶液对吸附Cu²⁺饱和后的微生物吸附柱进行冲洗,考察生物膜的再生功能,结果表明固定化生物膜具有再生和重复使用的潜力。Xiaoyu WANG等^[54]采用的模拟CMP废水成分除了Cu²⁺之外,还考虑了CMP工艺过程中存在的大量纳米二氧

化硅。实验中所采用的重金属抗性菌为 *C. gilardii* CR3, 菌株 CR3 的固定化载体为石英砂。实验结果表明, 当 CMP 废水中伴有纳米二氧化硅时不影响细菌对 Cu^{2+} 的吸附, 相较于 Langmuir 模型, Freundlich 模型对于该吸附行为的拟合度更高 ($R^2=0.99$), 但是当 CMP 废水中无纳米二氧化硅时, Langmuir ($R^2=0.99$) 模型则更适合细菌对于 Cu^{2+} 吸附行为的描述。

总体来说, 目前国内外对 CMP 含铜废水生物处理的报道不多, 这与该种废水水质复杂、毒性较大有关。从已有 CMP 含铜废水生物处理效果来看, 单独重金属抗性菌去除 CMP 废水中 Cu^{2+} 的方式仍然具有一定的局限性。鉴于此, 可以对 CMP 含铜废水进行适当的预处理后, 再通过重金属抗性菌强化技术进一步提高 Cu^{2+} 去除率。

4 结论与展望

重金属抗性微生物具有抵抗重金属的特性, 在低浓度重金属工业废水处理中显示出独特的优势, 为突破重金属废水微生物处理技术瓶颈提供了新的思路。目前, 有关重金属抗性菌的研究主要在环境微生物学与环境工程水处理 2 个领域开展。在环境微生物学领域, 对重金属抗性菌的研究相当活跃, 目前已有多种重金属抗性菌被分离, 重金属抗性机制的研究也为重金属废水微生物处理的基础创新性理论研究与应用提供了基础。相对而言, 重金属抗性菌在环境工程水处理中的应用研究尚较少, 其工程化应用更是面临诸多挑战。为引领和推动微生物在低浓度重金属废水处理中的实际应用, 今后对于重金属抗性菌的应用研究应重点关注以下几点: (1) 对于实验室规模的重金属去除实验, 应在模拟废水基础上采用实际废水进行研究; (2) 设计和构建处理废水的工艺放大体系, 确定关键工艺运行条件; (3) 与其他水处理技术相结合, 发挥重金属抗性微生物处理技术的优势。

参考文献

- [1] 王建龙, 陈灿. 生物吸附法去除重金属离子的研究进展[J]. 环境科学学报, 2010, 30(4): 673-701.
WANG Jianlong, CHEN Can. Research advances in heavy metal removal by biosorption[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2010, 30(4): 673-701.
- [2] MALIK A. Metal bioremediation through growing cells[J]. Environment International, 2004, 30(2): 261-278.
- [3] GADD G M. Biosorption: Critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment[J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2009, 84(1): 13-28.
- [4] 尹华, 陈烁娜, 叶锦韶, 等. 微生物吸附剂[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 75.
YIN Hua, CHEN Shuona, YE Jinshao, et al. Microbial Adsorbents[M]. Beijing: Science Press, 2015: 75.
- [5] HUANG Ning, MAO Juan, ZHAO Yan, et al. Multiple transcriptional mechanisms collectively mediate copper resistance in *Cupriavidus gilardii* CR3[J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(8): 4609-4618.
- [6] HARRISON J J, CERI H, TURNER R J. Multimetal resistance and tolerance in microbial biofilms[J]. Nature Reviews Microbiology, 2007, 5(12): 928-938.
- [7] PAL C, ASIANI K, ARYA S, et al. Metal resistance and its association with antibiotic resistance[J]. Advances in Microbial Physiology, 2017, 70: 261-313.
- [8] HASMAN H, AARESTRUP F M. *terB*, a gene conferring transferable copper resistance in *Enterococcus faecium*: Occurrence, transferability, and linkage to macrolide and glycopeptide resistance[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2002, 46(5): 1410-1416.
- [9] ELEK S D, HIGNEY L. Resistogram typing: A new epidemiological tool—Application to *Escherichia coli*[J]. Journal of Medical Microbiology, 1970, 3(1): 103-110.
- [10] KODITSCHKE L K, GUYRE P. Resistance transfer fecal coliforms isolated from the Whippany river[J]. Water Research, 1974, 8(10): 747-752.
- [11] GRIFFIN K, GAMBLEY C, BROWN P, et al. Copper-tolerance in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas* spp. and the control of diseases associated with these pathogens in tomato and pepper. A systematic literature review[J]. Crop Protection, 2017, 96: 144-150.
- [12] NAKAJIMA M, GOTO M, HIBI T. Similarity between copper resistance genes from *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and *P. syringae* pv. *tomato*[J]. Journal of General Plant Pathology, 2002, 68(1): 68-74.
- [13] DUNCAN R, CAMAKARIS J, LEE B T O, et al. Inducible plasmid-mediated copper resistance in *Escherichia coli*[J]. Microbiology, 1985, 131(4): 939-943.
- [14] TETAZ T J, LUKE R K. Plasmid-controlled resistance to copper in *Escherichia coli*[J]. Journal of Bacteriology, 1983, 154(3): 1263-1268.
- [15] ERARDI F X, FAILLA M L, FALKINHAM 3rd J O. Plasmid-encoded copper resistance and precipitation by *Mycobacterium scrofulaceum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1987, 53(8): 1951-1954.

- [16] VARMA M M, THOMAS W A, PRASAD C. Resistance to inorganic salts and antibiotics among sewage-borne Enterobacteriaceae and Achromobacteriaceae[J]. The Journal of Applied Bacteriology, 1976, 41(2): 347-349.
- [17] MERGEAY M, HOUBA C, GERITS J. Extrachromosomal inheritance controlling resistance to cadmium, cobalt, copper and zinc ions: Evidence from curing in a *Pseudomonas* proceedings[J]. Archives Internationales De Physiologie et De Biochimie, 1978, 86(2): 440-442.
- [18] MERGEAY M, MONCHY S, VALLAEYS T, et al. *Ralstonia metallidurans*, a bacterium specifically adapted to toxic metals: Towards a catalogue of metal-responsive genes[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2003, 27(2/3): 385-410.
- [19] VON ROZYCKI T, NIES D H. *Cupriavidus metallidurans*: Evolution of a metal-resistant bacterium [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2009, 96(2): 115-139.
- [20] ANDREWS J M. Determination of minimum inhibitory concentrations[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2001, 48(s1): 5-16.
- [21] HASSEN A, SAIDI N, CHERIF M, et al. Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis* [J]. Biore-source Technology, 1998, 65(1/2): 73-82.
- [22] MONSIEURS P, MOORS H, HOUDT R, et al. Heavy metal resistance in *Cupriavidus metallidurans* CH34 is governed by an intricate transcriptional network [J]. BioMetals, 2011, 24(6): 1133-1151.
- [23] WANG Xiaoyu, CHEN Meili, XIAO Jingfa, et al. Genome sequence analysis of the naphthenic acid degrading and metal resistant bacterium *Cupriavidus gilardii* CR3 [J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0132881.
- [24] WANG Xiaoyu, HUANG Ning, SHAO Jing, et al. Coupling heavy metal resistance and oxygen flexibility for bioremoval of copper ions by newly isolated *Citrobacter freundii* JPG1 [J]. Journal of Environmental Management, 2018, 226: 194-200.
- [25] HASSEN A, SAIDI N, CHERIF M, et al. Resistance of environmental bacteria to heavy metals [J]. Bioresource Technology, 1998, 64(1): 7-15.
- [26] CHEN Xincui, SHI Jiyang, CHEN Yingxu, et al. Tolerance and bio-sorption of copper and zinc by *Pseudomonas putida* CZ1 isolated from metal-polluted soil [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2006, 52(4): 308-316.
- [27] BRUINS M R, KAPIL S, OEHME F W. Microbial resistance to metals in the environment [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2000, 45(3): 198-207.
- [28] MAIER R M, PEPPER I L, GERBA C P. 环境微生物学: 下册[M]. 张甲耀, 宋碧玉, 郑连爽, 等, 译. 北京: 科学出版社, 2004: 546-549. MAIER R M, PEPPER I L, GERBA C P. Environmental Microbiology: Volume II [M]. ZHANG Jiayao, SONG Biyu, ZHENG Lianshuang, et al, translated. Beijing: Science Press, 2004: 546-549.
- [29] LEMIRE J A, HARRISON J J, TURNER R J. Antimicrobial activity of metals: Mechanisms, molecular targets and applications[J]. Nature Reviews Microbiology, 2013, 11(6): 371-384.
- [30] WHEATON G, COUNTS J, MUKHERJEE A, et al. The confluence of heavy metal biooxidation and heavy metal resistance: Implications for bioleaching by extreme thermoacidophiles [J]. Minerals, 2015, 5(3): 397-451.
- [31] 林稚兰, 田哲贤. 微生物对重金属的抗性及其解毒机理[J]. 微生物学通报, 1998, 25(1): 37-39. LIN Zhilan, TIAN Zhexian. Microbial resistance to heavy metals and detoxification mechanism [J]. Microbiology, 1998, 25(1): 37-39.
- [32] 朴永哲, 黄玮, 崔玉波. 细菌对重金属的抗性及其解毒机理研究进展[J]. 安全与环境学报, 2015, 15(6): 250-254. PIAO Yongzhe, HUANG Wei, CUI Yubo. On the research advances of the resistance and de-toxicity power of bacteria from heavy metals[J]. Journal of Safety and Environment, 2015, 15(6): 250-254.
- [33] ROBALDS A, NAJA G M, KLAVINS M. Highlighting inconsistencies regarding metal biosorption [J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, 304: 553-556.
- [34] FANG Linchuan, WEI Xing, CAI Peng, et al. Role of extracellular polymeric substances in Cu(II) adsorption on *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas putida* [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(2): 1137-1141.
- [35] SHENG Guoping, YU Hanqing, LI Xiaoyan. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review [J]. Biotechnology Advances, 2010, 28(6): 882-894.
- [36] 金睿男, 王小雨, 林雪, 等. 胞外聚合物及其对重金属吸附作用的研究进展[J]. 工业水处理, 2019, 39(1): 8-13. JIN Ruinan, WANG Xiaoyu, LIN Xue, et al. Research progress in the extracellular polymeric substances and their adsorption effects on heavy metals [J]. Industrial Water Treatment, 2019, 39(1): 8-13.
- [37] 陈亚刚, 陈雪梅, 张玉刚, 等. 微生物抗重金属的生理机制[J]. 生物技术通报, 2009(10): 60-65. CHEN Yagang, CHEN Xuemei, ZHANG Yugang, et al. The physiological mechanism of microbial heavy metals tolerance [J]. Biotechnology Bulletin, 2009(10): 60-65.
- [38] TEITZEL G M, PARSEK M R. Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(4): 2313-2320.
- [39] FANG Linchuan, YANG Shanshan, HUANG Qiaoyun, et al. Biosorption mechanisms of Cu(II) by extracellular polymeric substances from *Bacillus subtilis* [J]. Chemical Geology, 2014, 386:

- 143-151.
- [40] HANSDA A, KUMAR V, Anshumali. A comparative review towards potential of microbial cells for heavy metal removal with emphasis on biosorption and bioaccumulation[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2016, 32(10): 170.
- [41] 王晓伟, 姚国强, 高鹏飞, 等. 乳酸菌对重金属污染的生物修复作用[J]. 中国微生物学杂志, 2014, 26(8): 968-972.
- WANG Xiaowei, YAO Guoqiang, GAO Pengfei, et al. Bioremediation of heavy metal contamination by *Lactic acid bacteria*[J]. Chinese Journal of Microecology, 2014, 26(8): 968-972.
- [42] JIMÉNEZ I, SPEISKY H. Effects of copper ions on the free radical-scavenging properties of reduced glutathione: Implications of a complex formation[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2000, 14(3): 161-167.
- [43] 孙嘉龙, 肖唐付, 周连碧, 等. 微生物与重金属的相互作用机理研究进展[J]. 地球与环境, 2007, 35(4): 367-374.
- SUN Jialong, XIAO Tangfu, ZHOU Lianbi, et al. Studies on the mechanisms of interaction between microbes and heavy metals[J]. Earth and Environment, 2007, 35(4): 367-374.
- [44] YANG G C C, TSAI C M. Preparation of carbon fibers/carbon/alumina tubular composite membranes and their applications in treating Cu-CMP wastewater by a novel electrochemical process[J]. Journal of Membrane Science, 2008, 321(2): 232-239.
- [45] MAKETON W, OGDEN K L. Synergistic effects of citric acid and polyethyleneimine to remove copper from aqueous solutions[J]. Chemosphere, 2009, 75(2): 206-211.
- [46] SU Y N, LIN W S, HOU C H, et al. Performance of integrated membrane filtration and electrodialysis processes for copper recovery from wafer polishing wastewater[J]. Journal of Water Process Engineering, 2014, 4: 149-158.
- [47] CHOU W L, WANG C T, CHANG S Y. Study of COD and turbidity removal from real oxide-CMP wastewater by iron electrocoagulation and the evaluation of specific energy consumption[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 168(2/3): 1200-1207.
- [48] YANG Yushuang, HU Mingzhong, ZHOU Dandan, et al. Bioremoval of Cu^{2+} from CMP wastewater by a novel copper-resistant bacterium *Cupriavidus gilardii* CR3: Characteristics and mechanisms[J]. RSC Advances, 2017, 7(30): 18793-18802.
- [49] 罗助强, 王峰, 杨海真. 化学机械研磨废水处理及回用技术的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(3): 127-131.
- LUO Zhuqiang, WANG Feng, YANG Haizhen. Progress on treatment and reuse technologies of chemical mechanical polishing (CMP) wastewater[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 35(3): 127-131.
- [50] LAI C L, LIN S H. Treatment of chemical mechanical polishing wastewater by electrocoagulation: System performances and sludge settling characteristics[J]. Chemosphere, 2004, 54(3): 235-242.
- [51] HJ 2058—2018 印制电路板废水治理工程技术规范[S].
- HJ 2058—2018 Technical specification for wastewater treatment engineering for printed circuit boards[S].
- [52] STANLEY L C, OGDEN K L. Biosorption of copper (II) from chemical mechanical planarization wastewaters[J]. Journal of Environmental Management, 2003, 69(3): 289-297.
- [53] MOSIER A P, BEHNKE J, JIN E T, et al. Microbial biofilms for the removal of Cu^{2+} from CMP wastewater[J]. Journal of Environmental Management, 2015, 160: 67-72.
- [54] WANG Xiaoyu, BUER G, FAN Wei, et al. Copper removal from semiconductor CMP wastewater in the presence of nano- SiO_2 through biosorption[J]. Journal of Water Reuse and Desalination, 2021, 11(2): 289-300.
- [55] MOSIER A P, JIN E, BEHNKE J, et al. Bacterial biofilms for sequestration of Cu^{2+} from CMP wastewater[C]//2014 40th Annual Northeast Bioengineering Conference(NEBEC). Boston, USA. IEEE, 2014: 1-2.
- [56] RUIZ A, OGDEN K L. Biotreatment of copper and isopropyl alcohol in waste from semiconductor manufacturing[J]. IEEE Transactions on Semiconductor Manufacturing, 2004, 17(4): 538-543.
- [57] YANG Yushuang, HU Mingzhong, ZHOU Dandan, et al. Bioremoval of Cu^{2+} from CMP wastewater by a novel copper-resistant bacterium *Cupriavidus gilardii* CR3: Characteristics and mechanisms[J]. RSC Advances, 2017, 7(30): 18793-18802.
- [58] 胡学伟, 李姝, 荣烨, 等. Cu^{2+} 对生物膜及其胞外聚合物的影响[J]. 化工学报, 2014, 65(3): 1062-1067.
- HU Xuewei, LI Shu, RONG Ye, et al. Effect of Cu^{2+} on biofilm and extracellular polymeric substance[J]. CIESC Journal, 2014, 65(3): 1062-1067.
- [作者简介] 王小雨(1967—), 教授, 博士生导师。E-mail: xywang@nenu.edu.cn.
- [收稿日期] 2022-12-03(修改稿)