



(10) 授权公告号 CN 113249246 B

(45) 授权公告日 2022. 09. 13

(21) 申请号 202110361746.5

CN 108130294 A, 2018.06.08

(22) 申请日 2021.04.02

CN 108866105 A, 2018.11.23

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 102965406 A, 2013.03.13

申请公布号 CN 113249246 A

CN 107904263 A, 2018.04.13

CN 108866104 A, 2018.11.23

(43) 申请公布日 2021.08.13

审查员 李硕

(73) 专利权人 江苏大学

地址 212013 江苏省镇江市京口区学府路
301号

(72) 发明人 王慧蕾 孙建中 乐易林

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

C12P 3/00 (2006.01)

C12R 1/145 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101402972 A, 2009.04.08

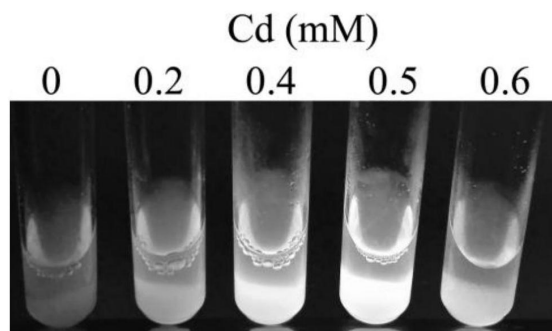
权利要求书1页 说明书4页 附图3页

(54) 发明名称

一种硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系及其
构建方法 和应用

(57) 摘要

本发明提供了一种硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系及其构建方法 和应用,属于生物科学和纳米材料制备技术领域;在本发明中,首先构建了具有不同催化性能的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系,所述硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系在镉富集生物资源化处理中得到了很好的应用,在去除镉离子的同时还提高了产氢量,所述硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系还可用于合成尺寸可控的硫化镉量子点。



1. 硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系在镉富集生物质资源化处置中的应用,所述应用具体包括:

将热纤梭菌接种到以含镉生物质为底物的培养基中进行暗培养,得到硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系,然后将其转入可见光光照培养进行光催化反应,最后转入暗照培养发酵产氢;

硫化镉量子点的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系的构建方法包括:将热纤梭菌接种到含 Cd^{2+} 离子和半胱氨酸的培养基中培养4~16h,得到硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系。

2. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述 Cd^{2+} 离子的添加量为0.1mM~0.6mM。
3. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述半胱氨酸的添加量为0.1~5mM。
4. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述生物质为甘蔗渣、结晶纤维素。

一种硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系及其构建方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物科学和纳米材料制备技术领域,具体涉及一种硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系及其构建方法和应用。

背景技术

[0002] 硫化镉量子点因其具有优异的可见光响应受到广泛的关注,其可以通过物理化学法和生物法制备得到。生物法可以利用微生物,如黄孢原毛平革菌、酿酒酵母、粟酒裂殖酵母、光滑假丝酵母等制备合成硫化镉量子点,具有方法简单、成本低、环境友好的优点,并且合成的量子点性质稳定,毒性小。但是,生物法合成过程中,硫化镉量子点的可控合成难度较大。

[0003] 重金属镉污染是全球主要环境问题之一,并可能通过农作物进入人类食物链,严重影响食品安全并危及人类健康。通过镉富集植物修复镉污染土壤是当前土壤修复主要技术之一。然而,随着植物修复技术的推广应用,由此带来的大量的重金属镉富集植物生物需要进行合理处置。重金属镉富集植物生物质的累积存在对土壤环境造成二次污染的潜在风险,这将极大地限制植物修复的大规模应用。目前,重金属镉富集植物传统处置技术主要包括:焚烧法、堆肥法、填埋法、液相萃取法、高温分解法等方法。这些方法虽然对重金属富集植物进行减量化和无害化处置,但是也造成了资源的浪费和环境的二次污染。

发明内容

[0004] 针对现有技术中存在不足,本发明提供了一种硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系及其构建方法和应用。在本发明中,首先构建了具有不同催化性能的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系,所述硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系在镉富集生物质资源化处置中得到了很好的应用,在去除镉离子的同时还提高了产氢量,所述硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系还可用于合成尺寸可调控的硫化镉量子点。

[0005] 本发明中首先提供了一种硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系,所述杂化体系由硫化镉量子点和热纤梭菌构建,其中硫化镉量子点附着在热纤梭菌细胞表面。

[0006] 本发明中还提供了上述硫化镉量子点的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系的构建方法,具体包括如下步骤:将热纤梭菌接种到含 Cd^{2+} 离子和半胱氨酸的培养基中培养4~16h,得到硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系。

[0007] 进一步的,所述热纤梭菌为嗜热厌氧菌,最适生长温度55℃。

[0008] 进一步的,所述 Cd^{2+} 离子的添加量为0.1mM~0.6mM。

[0009] 进一步的,所述半胱氨酸的添加量为0.1~5mM。

[0010] 本发明中还提供了上述硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系用于制备硫化镉量子点的用途,具体包括:将硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系超声破碎,离心,得到硫化镉量子点。

[0011] 本发明中还提供了上述硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系在镉富集生物质资源化

处置中的应用。

[0012] 进一步的,所述应用为镉富集生物质为底物经过热纤梭菌厌氧发酵后,达到无害化处置并转化为氢气。

[0013] 进一步的,所述应用为硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系可见光培养发酵镉富集生物质提高产氢量。

[0014] 进一步的,所述应用为硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系光催化镉富集生物质产氢。

[0015] 进一步的,所述应用具体包括:

[0016] 将热纤梭菌接种到含镉的生物质为底物的培养基中进行暗培养,得到硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系,然后将其转入可见光光照培养进行光催化反应,最后转入暗照培养发酵产氢。

[0017] 进一步的,所述生物质为甘蔗渣、结晶纤维素。

[0018] 与现有技术相比,本发明的有益效果在于:

[0019] 本发明中,利用微生物介导的纳米颗粒合成技术,将纳米颗粒附着在细胞表面或细胞内从而形成杂化体系,将硫化镉(CdS)纳米粒子附着到热纤梭菌细胞表面,两者形成的杂化体通过细胞表面附着的CdS将可见光催化产生的电子和空穴对,可以进一步加强生物质发酵产氢。

[0020] 本发明中,所述硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系能够将镉富集植物资源化利用并转化为高值化学品,既可以获得较好的经济收益,又能避免“二次污染”,减小环境风险,将镉富集植物合理处置的同时,将其转化为清洁的生物能源,不仅可以避免环境二次污染,又有利于缓解能源紧缺的问题。

[0021] 本发明中通过调整镉离子浓度制备出不同粒径的硫化镉量子点,实现了硫化镉量子点尺寸的可控合成,进而获得不同粒径的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系,具有不同的光催化特性,在可见光催化下,电子和空穴对的分离效率不同,从而产生不同的羟基自由基,在木质纤维素氧化降解效率不同,使得产氢量增加程度不同。所述硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系在可见光照射条件下进行培养,在除去富集镉生物质中的镉离子外,还可以提高发酵产氢量,采用1-2nm左右的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体光催化下发酵产氢量最高,为182.1 μmol (27毫升厌氧管加入10毫升培养基厌氧发酵),而同样条件下热纤梭菌产氢量为133.8 μmol ,提高了36%。

附图说明

[0022] 图1为不同浓度镉离子合成的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系在紫外灯302 nm照射下的图。

[0023] 图2为不同浓度镉离子合成的硫化镉量子点和杂化体系透射电镜图,其中,A:野生型热纤梭菌,B:硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系,C:添加0.1 mM镉离子合成的硫化镉量子点,D:添加0.4 mM镉离子合成的硫化镉量子点。

[0024] 图3为不同浓度的镉离子条件下制备的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系的荧光光谱(A)和紫外-可见光光谱(B)。

[0025] 图4为野生型热纤梭菌与硫化镉量子点/热纤梭菌杂化细胞荧光显微镜图,其中,

A1:野生型热纤梭菌明场图,A2:同样场景下采用红色标记的荧光图,A3:明场与荧光叠加图,B1:硫化镉/热纤梭菌杂化体明场图,B2:硫化镉/热纤梭菌杂化体同样场景下采用红色标记的荧光图,B3:硫化镉/热纤梭菌杂化体明场和荧光叠加图。

[0026] 图5 为含有不同浓度镉离子的甘蔗渣为底物发酵产氢量。

[0027] 图6为培养基中含有0.5 mM镉离子的结晶纤维素为底物发酵产氢量。

具体实施方式

[0028] 下面结合附图以及具体实施例对本发明作进一步的说明,但本发明的保护范围并不限于此。

[0029] 实施例1:

[0030] 将热纤梭菌(德国微生物菌种保藏中心DSMZ ,Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen)接种在培养基DSMZ Medium122中,当菌体生长到指数初期, OD_{600} 大约为0.6左右时,分别添加终浓度为0.1mM,0.2mM,0.3mM,0.4mM,0.5mM,0.6mM的 $CdCl_2$,以及5mM的半胱氨酸,继续培养5小时,得到硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系,超声破碎,离心,得到所述硫化镉量子点。

[0031] 上述培养基的配方为:硫酸铵 1.3 g/L,六水氯化镁 2.6 g/L,三水磷酸氢二钾 7.2 g/L,磷酸二氢钾 1.43 g/L,氯化钙 0.13 g/L, β -甘油磷酸钠 6 g/L,硫酸亚铁 0.0001 g/L,酵母粉 4.5 g/L,半胱氨酸:0.5 g/L,刃天青 0.1% w/v,纤维二糖 5 g/L。

[0032] 图1为不同浓度镉离子合成的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系在紫外灯302 nm照射下的图,从图中可以看出,在紫外波长照射下会发出不同颜色的荧光。

[0033] 图2为不同浓度镉离子合成的硫化镉量子点和杂化体系透射电镜图,其中,A:野生型热纤梭菌,B:硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系,C:添加0.1 mM镉离子合成的硫化镉量子点,D:添加0.4 mM镉离子合成的硫化镉量子点。从图中可以看出,透射电镜结果表明不同浓度的镉离子可以合成不同粒径的量子点,随着镉离子浓度增加粒径减小。

[0034] 图3为不同浓度的镉离子条件下制备的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系的荧光光谱(A)和紫外-可见光光谱(B),荧光光谱结果表明随着镉离子浓度增加,杂化细胞的荧光峰位置发生蓝移,这与紫外-可见光光谱结果一致。同时,从图3A中还可以看出,0.6mM镉离子合成的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化细胞的荧光发射峰在467 nm,而0.5mM镉离子合成的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化细胞的荧光发射峰在475 nm,0.3 mM镉离子合成的硫化镉量子点/热纤梭菌杂化细胞的荧光发射峰在483 nm,随着镉离子浓度减少,杂化体系荧光强度变弱,对照组是不含镉离子的培养基中培养的热纤梭菌也没有荧光。

[0035] 图4为野生型热纤梭菌与硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系荧光显微镜图,其中,A1:野生型热纤梭菌明场图,A2:同样场景下采用红色标记的荧光图,A3:明场与荧光叠加图,B1:硫化镉/热纤梭菌杂化体系明场图,B2:硫化镉/热纤梭菌杂化体系同样场景下采用红色标记的荧光图,B3:硫化镉/热纤梭菌杂化体系明场和荧光叠加图。从图中可以看出,硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系在荧光显微镜中可以明显观察到,而对照组是不含镉离子的培养基中培养的热纤梭菌在荧光显微镜中不能观察到,说明硫化镉量子点附着在细胞上。

[0036] 实施例2:

[0037] 本实施例中通过分析实施例1中分析了培养基初始镉离子浓度以及发酵后培养基残留的镉离子浓度来验证硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系对镉离子的去除能力,结果表明培养基上清液中初始镉离子浓度为0.4mM时,发酵培养6小时后,培养基上清液残留的镉离子浓度为0.0017mM,上清液中镉离子基本已去除,去除效率达到99.5%。

[0038] 实施例3 :

[0039] 本实施例中考察了硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系以含有不同镉离子浓度的甘蔗渣为底物进行暗-光-暗培养方式进行发酵产氢的能力,具体包括如下步骤:

[0040] 以甘蔗渣为底物的培养基,所述培养基中含有不同浓度的镉离子和5mM 半胱氨酸,并在接热纤梭菌时补加1g/L的纤维二糖,促进热纤梭菌快速增殖,暗培养9小时后,将热纤梭菌转移到可见光光照培养环境中,进行光催化反应过夜,再转入到暗培养中继续培养8小时。

[0041] 图5是含有不同浓度镉离子的甘蔗渣为底物发酵产氢量,从图中可以看出,将甘蔗渣作为培养基的底物对热纤梭菌进行暗-光-暗交替培养,当镉离子浓度分别为0.4mM, 0.5mM, 0.6mM时,形成的杂化体系产氢量增加最明显,而且镉离子浓度为0.5mM时,杂化体系产氢量最高,比不含镉离子的对照组产氢量提高了36%。

[0042] 实施例4:

[0043] 本实施例中考察了硫化镉量子点/热纤梭菌杂化体系以结晶纤维素为底物进行暗-光-暗培养方式进行发酵产氢的能力,具体包括如下步骤:

[0044] 以结晶纤维素为底物的培养基,所述培养基中含有不同浓度的镉离子和5mM 半胱氨酸,并在接热纤梭菌时补加1g/L的纤维二糖,促进热纤梭菌快速增殖,暗培养9小时后,将热纤梭菌转移到可见光光照培养环境中,进行光催化反应过夜,再转入到暗培养中继续培养8小时。

[0045] 图6是培养基中含有0.5 mM镉离子的结晶纤维素为底物发酵产氢量,从图中可以看出,将结晶纤维素作为培养基的底物对热纤梭菌进行暗-光-暗交替培养,含0.5 mM镉离子的培养基发酵产氢量增加,比不含镉离子的对照组产氢量提高了11.7%。

[0046] 所述实施例为本发明的优选的实施方式,但本发明并不限于上述实施方式,在不背离本发明的实质内容的前提下,本领域技术人员能够做出的任何显而易见的改进、替换或变型均属于本发明的保护范围。

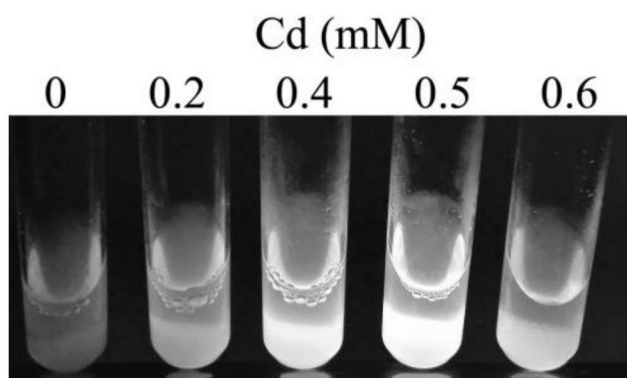


图1

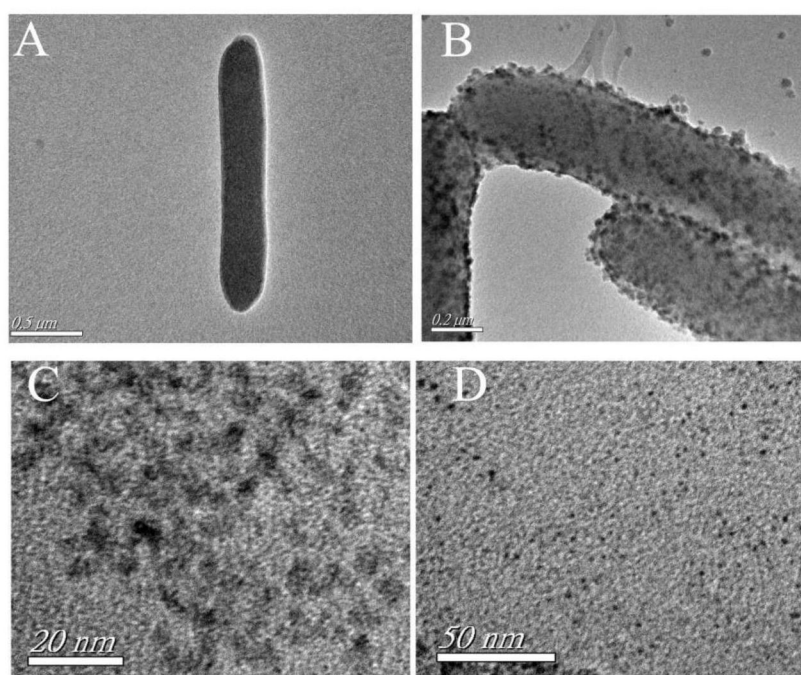


图2

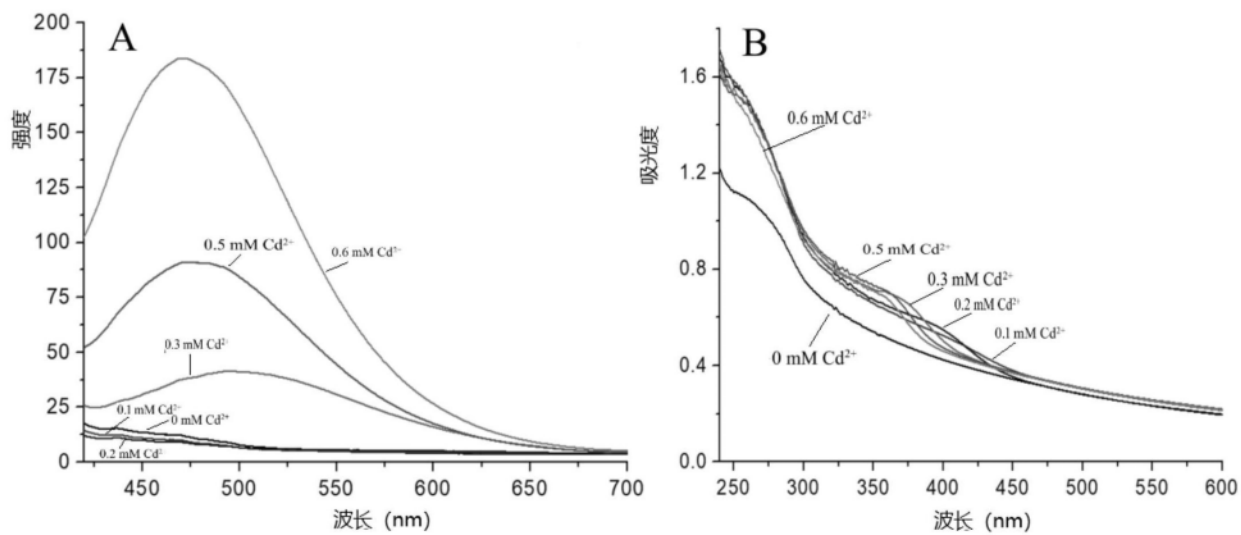


图3

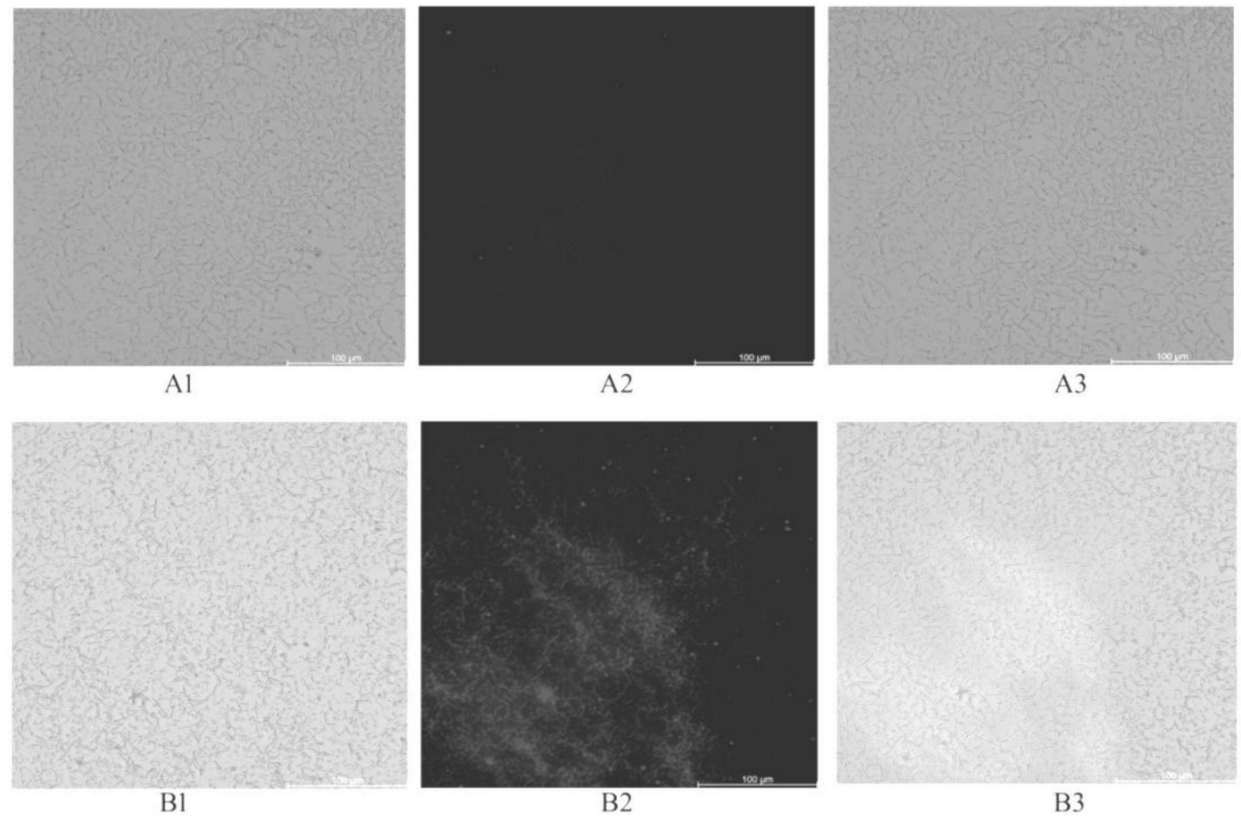


图4

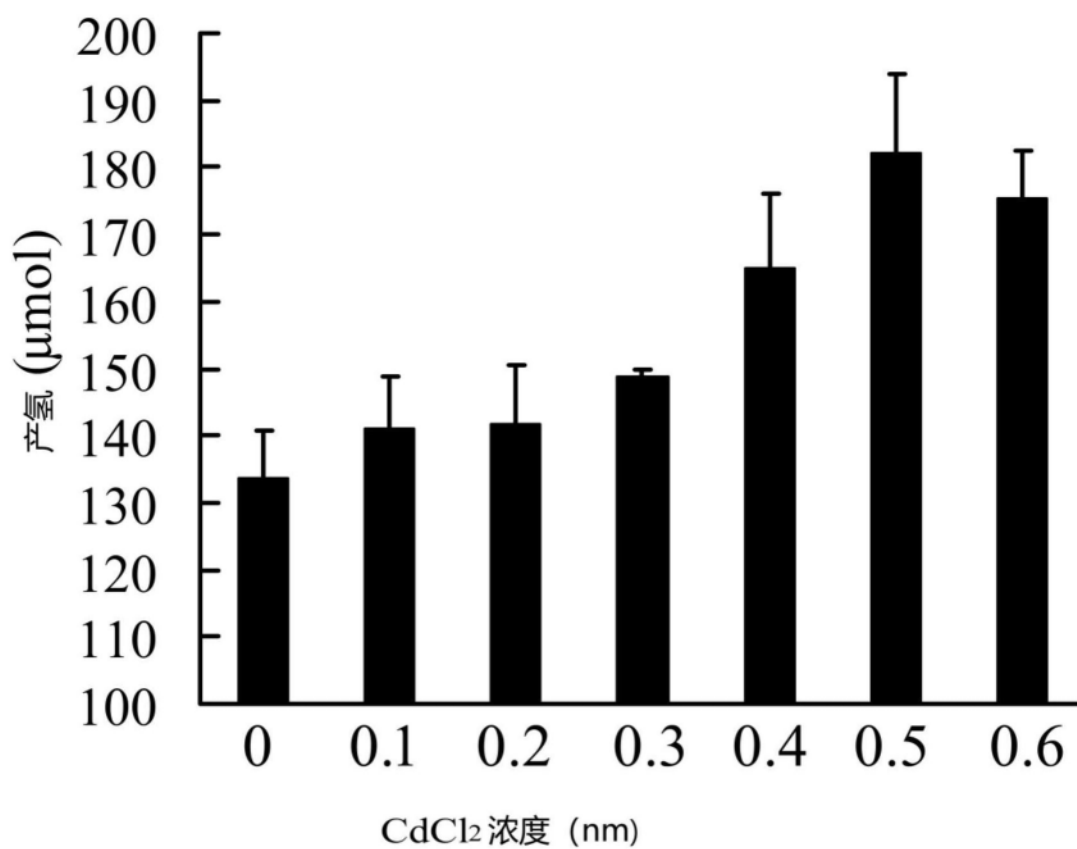


图5

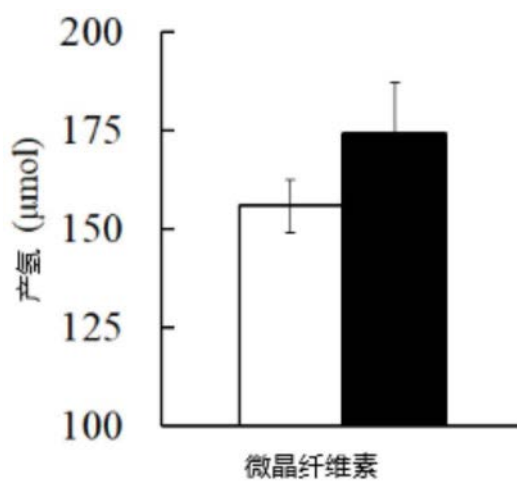


图6