

硫酸盐还原菌混合菌群胞外聚合物 对 Zn^{2+} 的吸附和机理

潘响亮^{1,2}, 王建龙², 张道勇¹, 王凡³

(1. 中国科学院地球化学研究所, 贵州 贵阳 550002; 2. 清华大学核能与新能源技术设计研究院 环境技术研究室, 北京 100084; 3. 中国环境科学研究院, 北京 100012)

摘要: 硫酸盐还原菌(SRB)混合菌群分泌的胞外聚合物(EPS)能有效地吸附水溶液中的 Zn^{2+} , 在初始 $\rho(Zn^{2+})$ 为 500 mg/L 时, EPS 对 Zn^{2+} 的吸附量达到 326.07 mg/g。Freundlich 方程能相对较好地拟合实验所得吸附数据。SRB 混合菌群分泌的 EPS 的 IR 分析表明, EPS 吸附 Zn^{2+} 起主要作用的官能团是多聚糖 C—O—C、羧基和脂类官能团, 而蛋白质和多聚糖的—OH 对 Zn^{2+} 的结合能力有限。

关键词: 硫酸盐还原菌; 胞外聚合物; Zn^{2+} ; 生物吸附

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-6929(2005)06-0053-03

Zn^{2+} Sorption and Mechanism by EPS of Mixed SRB Population

PAN Xiang-liang^{1,2}, WANG Jian-long², ZHANG Dao-yong¹, WANG Fan³

(1. Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China; 2. Institute of Nuclear Energy Technology, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3. Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China)

Abstract: The extracellular polymeric substances (EPS) excreted by mixed sulfate-reducing bacteria (SRB) was effective in adsorbing Zn^{2+} . When the initial mass concentration of Zn^{2+} was 500 mg/L, the sorption capacity was 326.07 mg/g. The Freundlich model could well describe the experimental data, indicating zinc sorption by EPS involving chemical reaction. IR analysis demonstrated that the group of carboxyl, C—O—C of polysaccharide and lipid was involved in binding Zn^{2+} , and the binding capacity of hydroxyl group and amide to Zn^{2+} was weak.

Key words: sulfate-reducing bacteria (SRB); extracellular polymeric substances (EPS); Zn^{2+} ; biosorption

在含重金属废水的处理技术中, 生物吸附法是一种新兴的、颇具应用前景的技术。与传统处理技术相比, 生物吸附法具有去除效率高和运行成本低等优点^[1-3]。生物吸附法去除重金属的机理主要有细胞外积累/沉淀、细胞表面吸附/沉淀和细胞内积累^[4]。研究表明, 胞外聚合物(EPS)在去除水溶液中的重金属中起重要作用^[5-9]。虽然已有大量的关于细菌、真菌等微生物吸附重金属的文献报道, 但是关于微生物分泌的 EPS 吸附重金属的行为和机理方面的研究还相对有限。笔者主要研究硫酸盐还原菌(SRB)分泌的 EPS 对 Zn^{2+} 的吸附行为及其机理。

1 材料与方法

1.1 混合 SRB 菌群的驯化、培养和富集

实验用厌氧污泥取自北京北小河污水厂厌氧消解池, 每 L 污泥加入 5 g 无水硫酸钠, 35 °C 振荡培养(120

r/min) 驯化 1 周。然后用 Postgate B 培养基^[10]进一步驯化培养, 每周更换新鲜培养基 1 次。培养 8 周后获得实验用混合 SRB 菌液, 其 $\rho(VSS)$ 为 2 g/L。

用总挥发性固体(VSS)代表生物量, 取一定浓度的菌液, 10 000 g 离心 1 min, 弃去上清液, 用去离子水冲洗 1~2 次, 离心弃去上清液, 转移到烘烤至恒重的蒸发皿内, 在 550~600 °C 的马福炉内灼烧至恒重, 放到干燥器内, 待温度冷却到 100 °C 以下, 转移到干燥器内冷却 30 min 后称重, 得到挥发性固体质量。

1.2 胞外聚合物的制备

取 1 000 mL 富集培养 8 周后 $\rho(VSS)$ 为 2 g/L 的菌液, 加入 8.5 g NaCl, 轻轻搅拌, 使菌液的 $\rho(NaCl)$ 为 8.5 g/L, 80 °C 水浴加热 2 h, 20 000 g 离心 20 min, 用 0.22 μ m 滤膜过滤, 收集滤液, 即为 EPS 溶液。用旋转蒸发器浓缩至 100 mL, 测定 EPS 的组成和浓度。

1.3 EPS 对 Zn^{2+} 的吸附

移取 2 mL 浓缩的 EPS(含 3 mg EPS)于透析袋中, 扎紧, 放入有 98 mL 含 Zn^{2+} 溶液的 150 mL 锥形瓶中, 初始 $\rho(Zn^{2+})$ 为 10~500 mg/L。25 °C, 静置吸附 24 h

收稿日期: 2004-11-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50278045)

作者简介: 潘响亮(1972-), 男, 浙江东阳人, 副研究员, 博士。

后采集 5 mL 水溶液测定 $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 。含 Zn^{2+} 溶液用分析纯 $\text{ZnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和去离子水配置。玻璃器皿用 0.1 mol/L HNO_3 浸泡 48 h, 然后用去离子水彻底冲洗, 烘干备用。

1.4 分析方法

EPS 的蛋白质用 Bradford 染色法测定^[11]: 称取 100 mg 考马斯亮蓝 G-250 溶于 50 mL 95% 乙醇中, 再加 100 mL 850 mg/L 的磷酸, 用水稀释至 200 mL, 将该溶液与去离子水按 1:5 (体积比) 稀释, 用滤纸过滤; 取 0.1 mL 样品加到 5.0 mL 染色液中, 轻轻混合, 于 595 nm 处比色测定蛋白质含量。EPS 的多聚糖用苯酚-硫酸比色法测定^[11]: 取 1 mL 浓缩 EPS 溶液放入清洁试管内, 加入 1 mL 50 g/L 的苯酚溶液, 经 10~20 s 的振荡混合, 加入 5 mL 95% 的硫酸溶液, 在黑暗中反应 10 min; 反应结束后, 再振荡 10 s, 置试管于 20~30 °C 水浴中 10 min, 在 490 nm 处比色。

水溶液中 $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 用原子吸收分光光度计火焰原子化法测定, 仪器为 Vario 6 AAS; pH 用 526 pH-mV 计测定; EPS 的基团用 Perkin Elmer Spectrum GX 红外光谱仪分析; EPS 含量用 TOC 仪测定。

2 结果和讨论

2.1 SRB 混合菌群 EPS 的组成

pH 为 7 时, SRB 混合菌群的 EPS 为 29.33 mg/g, 其中蛋白质占 46.74%, 多糖占 53.26%。

2.2 EPS 对 Zn^{2+} 的吸附效率

从图 1, 2 可以看出, EPS 对 Zn^{2+} 具有良好的吸附性能。总体上, 在初始 $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 为 10~500 mg/L 时, 随溶液中初始 $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 的增加, 去除率下降, 平衡吸附量增加。在初始 $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 为 10 mg/L 时, EPS 对 Zn^{2+} 的平衡吸附量为 28.01 mg/g, 而初始 $\rho(\text{Zn}^{2+})$ 为 500 mg/L 时, EPS 对 Zn^{2+} 的平衡吸附量为 326.07 mg/g。

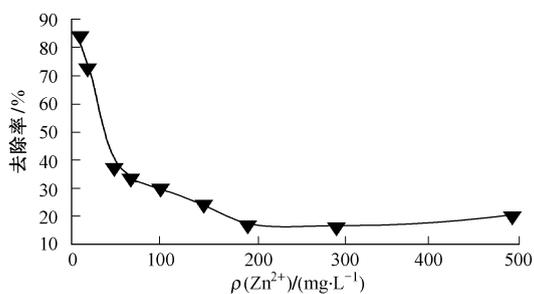


图 1 SRB 混合菌群 EPS 对 Zn^{2+} 的去除率

Fig. 1 Removal efficiency of Zn^{2+} by EPS produced by mixed SRB population

2.3 SRB 混合菌群 EPS 的等温吸附行为

正常情况下, 一种吸附剂的吸附量取决于被吸附金属的平衡浓度。等温吸附方程通常也就是对这 2 类

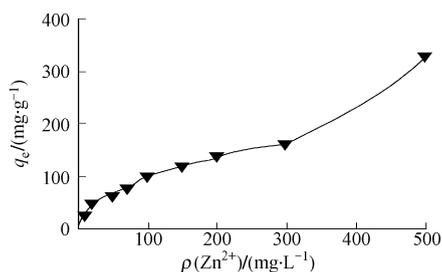


图 2 SRB 混合菌群 EPS 对 Zn^{2+} 的平衡吸附量

Fig. 2 Equilibrium sorption capacity of Zn^{2+} by EPS produced by mixed SRB population

参数之间的相关性进行拟合。常用的等温吸附方程是 Freundlich 方程(见式(1))和 Langmuir 方程(见式(2))。

$$q_e = kC_e^{1/n} \quad (1)$$

$$q_e = q_m b C_e / (1 + b C_e) \quad (2)$$

式中, q_e 为吸附量, mg/g; q_m 为最大吸附量; C_e 为被吸附物质的平衡浓度; k , n 和 b 为常数。

图 3 为 SRB 混合菌群 EPS 吸附 Zn^{2+} 的 Freundlich 方程, 表 1 为 2 个方程的参数值。由图 3 和表 1 可见, Freundlich 方程比 Langmuir 方程能更好地拟合 EPS 吸附 Zn^{2+} 的数据, 它们的相关系数 (R^2) 分别为 0.917 0 和 0.866 5。根据 Langmuir 方程模拟得到的最大吸附容量 (q_m) 为 113.60 mg/g, 这远远比实验测得数据 (326.07 mg/g) 要小, 说明 Langmuir 方程不适合描述 EPS 对 Zn^{2+} 的等温吸附行为。Freundlich 方程能相对较好地拟合实验数据, 说明 EPS 吸附 Zn^{2+} 的过程是物理化学吸附过程, Zn^{2+} 和 EPS 的基团之间存在某些化学反应。

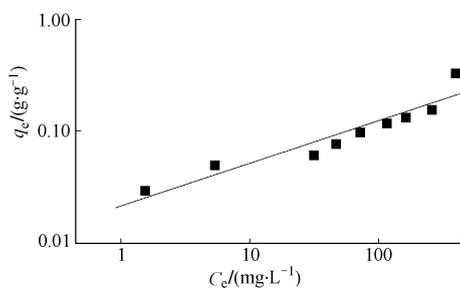


图 3 EPS 吸附 Zn^{2+} 的 Freundlich 方程

Fig. 3 Freundlich equation of Zn^{2+} sorption by EPS

表 1 Freundlich 方程和 Langmuir 方程系数

Table 1 Constants of Freundlich equation and Langmuir equation

| Freundlich 方程 | | | Langmuir 方程 | | |
|---------------|---------|---------|---|----------------------|---------|
| k | $1/n$ | R^2 | $q_m / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$ | b / mg^{-1} | R^2 |
| 0.021 3 | 0.382 4 | 0.917 0 | 113.60 | 0.198 4 | 0.866 5 |

2.4 EPS 吸附 Zn^{2+} 的机理

图 4 为 EPS 吸附 Zn^{2+} 前后的 IR 谱图。IR 光谱分析表明, 吸附 Zn^{2+} 之前的 EPS 存在许多基团(见

图 4(a)), 有特征明显的一些蛋白质和多聚糖基团对应的强频段。还有一些强度较弱的基团, 表明有以酸性或碱性盐存在的羧基, 当与其他频段相结合表明存在糖醛酸(糖类的显著频段)和腐殖酸(CH₂和酚)。EPS 中的一些含量低的组分, 如脂类或核酸, 在 IR 光谱中一般难以检测到。在指纹区的一些频段可能指示着核酸组成基团之一——磷酸盐的存在。CH₂和羧基的存在指示着脂类的存在。表 2 列出了 IR 观察到的 EPS 的主要基团。从吸附 Zn²⁺ 后的 IR(见图 4(b))可以看出, 表征多聚糖的 1 030~1 150 cm⁻¹ 的 C—O—C 基团、脂类的 CH₂ 和羧基参与了 Zn²⁺ 的结合。位于 1 137 ~ 1 460 cm⁻¹ 间的基团、2 926 和

2 853 cm⁻¹ 的 CH₂ 基本上消失, 表明 EPS 多聚糖中的 C—O—C 基团、脂类的 CH₂ 和羧基与 Zn²⁺ 有强的结合能力。而蛋白质和多聚糖的—OH 对 Zn²⁺ 的结合能力有限。

3 结论

SRB 混合菌群分泌的 EPS 在微生物吸附 Zn²⁺ 中起重要作用, 在初始 ρ(Zn²⁺) 为 500 mg/L 时, EPS 对 Zn²⁺ 的吸附量为 326.07 mg/g。用 Freundlich 方程可描述 EPS 吸附 Zn²⁺ 的等温吸附行为, 这说明 EPS 吸附重金属是个复杂的物理化学过程。IR 分析表明, EPS 吸附 Zn²⁺ 起主要作用的官能团是多聚糖 C—O—C、羧基和脂类官能团, 而蛋白质和多聚糖的—OH 对 Zn²⁺ 的结合能力有限。

参考文献:

[1] 王建龙, 韩英健, 钱易. 微生物吸附金属离子的研究进展[J]. 微生物学通报, 2000, 27(6): 449-452.
Wang Jianlong, Han Yingjian, Qian Yi. Advances in microbial sorption of heavy metals[J]. Microbiology, 2000, 27(6): 449-452.

[2] Su M C, Cha D K, Aderson P R. Influence of selector technology on heavy metal removal by activated sludge: secondary effects of selector technology [J]. Water Res, 1995, 29(3): 971-976.

[3] Chang W C, Ouyang C F, Su M C, et al. Heavy metal adsorption by activated sludge from a biological nutrient removal process [A]. Proceedings of the 7th IAWQ Asia-Pacific Regional Conference [C]. Taipei: IWA Publishing, 1999. 167-172.

[4] Veglio F, Beolchini. Removal of metals by biosorption: a review [J]. Hydrometallurgy, 1997, (44): 301-316.

[5] Geesey G G, Jang L. Interactions between metal ions and capsular polymers [A]. Beveridge T J, Doyle R J. Metal ions and bacteria [M]. New York: John Wiley and Sons, 1989. 325-358.

[6] Fukushi K, Kato S, Auntsuki T, et al. Isolation of copper binding proteins from activated sludge Znture [J]. Water Sci Technol, 2001, 44: 453-459.

[7] Beech I B, Cheung C W S. Interactions of exopolymers produced by sulphate reducing bacteria with metal ions [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 1995, 35(1/3): 59-72.

[8] 董德明, 康春莉, 李忠华, 等. 天然水中细菌胞外聚合物对重金属的吸附规律[J]. 吉林大学学报(理学版), 2003, 41(1): 94-96.
Dong Deming, Kang Chunli, Li Zhonghua, et al. The adsorption of heavy metals on extracellular polymers of bacteria in natural water [J]. Journal of Jilin University (Science Edition), 2003, 41(1): 94-96.

[9] 张道勇, 赵勇胜, 潘响亮. 胞外聚合物 (EPS) 在藻菌生物膜去除污水中 Cd 的作用[J]. 环境科学研究, 2004, 17(5): 52-56.
Zhang Daoyong, Zhao Yongsheng, Pan Xiangliang. The role of extracellular polymeric substances (EPS) in removing cadmium from sewage by algae-bacteria biofilm [J]. Research of Environmental Sciences, 2004, 17(5): 52-56.

[10] Postgate J R. The sulfate reducing bacteria [M]. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1984.

[11] 刘雨, 赵庆良, 郑兴灿. 生物膜法污水处理技术 [M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2000. 215.
Liu Yu, Zhao Qingliang, Zheng Xingcan. Sewage treatment technology by biofilm [M]. Beijing: Chinese Architecture Industry Press, 2000. 215.

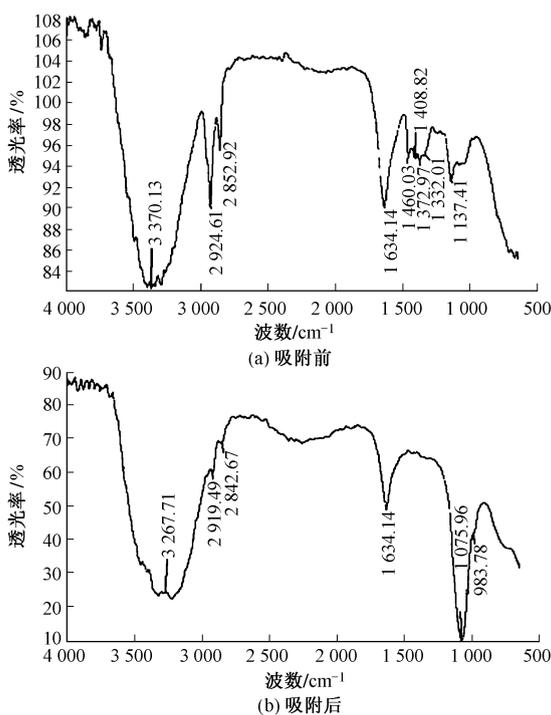


图 4 EPS 的 IR 谱图

Fig. 4 IR spectra of EPS

表 2 IR 观察到的 EPS 的主要基团

Table 2 The main functional groups observed in IR spectra

| 波数 cm ⁻¹ | 振动类型 | 基团类型 |
|---------------------|-------------------------|--------------|
| 3 000~ 3 750 | O—H 伸缩振动 | 多聚糖和蛋白质的一OH |
| 2 926±10 | CH ₂ 不对称收缩振动 | |
| 2 853±10 | CH ₂ 不对称收缩振动 | |
| 1 630~ 1 680 | C=O 收缩振动 | 酰胺 iv(蛋白质肽键) |
| 1 580~ 1 630 | C—N 伸缩振动 N—H 弯曲振动 | 酰胺 Ⅲ(蛋白质肽键) |
| 1 455 | CH ₂ 弯曲振动 | |
| 1 240 | C=O 弯曲振动 OH 伸缩振动 | 羧酸 酚 |
| 950~ 1 120 | CH 面内弯曲振动 | 苯环 |
| 1 030~ 1 150 | C—O—C 伸缩振动 | 多聚糖 |
| < 1 000 | 指纹区 | 含硫、磷基团 |

(责任编辑 孔 欣)