

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2015.0787

柴德芳, 宋萍, 申露文, 等. 2016. *Aeromonas veronii* N8 不同类型胞外聚合物的性质及其  $Zn^{2+}$  吸附特征[J]. 环境科学学报, 36(10): 3665-3674

Chai D F, Song P, Shen L W, et al. 2016. The properties of extracellular polymeric substances of *Aeromonas veronii* N8 and its adsorption for  $Zn^{2+}$  [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 36(10): 3665-3674

## *Aeromonas veronii* N8 不同类型胞外聚合物的性质及其 $Zn^{2+}$ 吸附特征

柴德芳<sup>1</sup>, 宋萍<sup>2</sup>, 申露文<sup>1</sup>, 沈宗泽<sup>1</sup>, 封磊<sup>1,\*</sup>

1. 福建农林大学资源与环境学院, 福州 350002

2. 福建农林大学林学院, 福州 350002

收稿日期: 2015-11-07      修回日期: 2015-12-04      录用日期: 2015-12-04

**摘要:**以 *Aeromonas veronii* N8 为研究对象, 对其松散型胞外聚合物(LB-EPS)和紧密型胞外聚合物(TB-EPS)的性质及其吸  $Zn^{2+}$  特征进行了研究. 结果表明, LB-EPS 和 TB-EPS 具有不同的多糖及蛋白组成比例; 与 TB-EPS 相比, LB-EPS 的分子量分布范围较窄, 但其平均分子量较大, TB-EPS 中含有一些 LB-EPS 不具有的富含芳香族氨基酸的蛋白质, 而 LB-EPS 则含有少量 TB-EPS 不具有的腐殖酸类物质;  $^1H$  NMR 与 XPS 分析发现, 两种 EPS 具有相似的结构与元素组成, 但各元素在两者中的组成比例并不相同; LB-EPS 和 TB-EPS 具有相似的  $Zn^{2+}$  吸附规律, 经 90 min 后二者均能达到吸附平衡, 但 LB-EPS 的吸附率一直大于 TB-EPS, 二者的吸附率则随着 EPS 浓度的增加而变大, 并随着  $Zn^{2+}$  浓度的增加而变小; 对比  $Zn^{2+}$  吸附前后, 两种 EPS 中属于核酸、多糖与蛋白质在内的一些特征官能团的强度或位置则发生了一定的变化, 表明这些特征峰在吸附过程具有不同的功能作用; 而 LB-EPS 和 TB-EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附过程则可分别采用 Freundlich 和 Temkin 模型进行描述.

**关键词:** *Aeromonas veronii*; 胞外聚合物; 重金属;  $Zn^{2+}$ ; 吸附

文章编号: 0253-2468(2016)10-3665-10      中图分类号: X172      文献标识码: A

## The properties of extracellular polymeric substances of *Aeromonas veronii* N8 and its adsorption for $Zn^{2+}$

CHAI Defang<sup>1</sup>, SONG Ping<sup>2</sup>, SHEN Luwen<sup>1</sup>, SHEN Zongze<sup>1</sup>, FENG Lei<sup>1,\*</sup>

1. College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002

2. College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002

Received 7 November 2015;      received in revised form 4 December 2015;      accepted 4 December 2015

**Abstract:** In this work, the properties and  $Zn^{2+}$  adsorption characterizations of the loosely bound extracellular polymer substances (LB-EPS) and the tight-binding extracellular polymeric substances (TB-EPS) from *Aeromonas veronii* N8 were studied. The results show that both EPS displayed the different composition proportion of protein and polysaccharide. Compared with TB-EPS, LB-EPS had the narrower molecule weight distribution and higher molecule weight. The ingredients of aromatic protein and humic acid were found in TB-EPS and LB-EPS, respectively. The spectrums of  $^1H$  NMR and XPS suggest that although TB-EPS and LB-EPS had the similar chemical structure and element composition, the composition ratio of various elements in both EPS was different. TB-EPS and LB-EPS also exhibited a similar  $Zn^{2+}$  adsorption performance, and the adsorption equilibrium of both EPS could be achieved in 90 minutes. Additionally, the adsorption rates of both EPS were increased with the EPS concentration and decreased with the  $Zn^{2+}$  concentration. After adsorption, the FTIR spectrums of both EPS show that some changes had taken place in the strength or position of some characteristic peaks originated from DNA, protein and polysaccharide, which implied that those functional groups acted the different function roles for the  $Zn^{2+}$  adsorption. Furthermore, the  $Zn^{2+}$  adsorption of LB-EPS and TB-EPS might be described by Freundlich and Temkin models, respectively.

**基金项目:** 国家自然科学基金 (No. 31470577); 福建省自然科学基金 (No. 2015J01089); 福建省高等学校新世纪优秀人才支持计划 (No. JA11070); 福建省高校杰出青年科研人才培育计划 (No. JA10088)

**Supported by** the National Natural Science Foundation of China (No. 31470577), the Natural Science Foundation of Fujian Province (No. 2015J01089), the New Century Excellent Talents of Fujian Province (No. JA11070) and the Excellent Youth Cultivation Program of Fujian Province (No. JA10088)

**作者简介:** 柴德芳 (1989—), 女, E-mail: 18046030680@163.com; \* 通讯作者 (责任作者), E-mail: fengleisp@126.com

**Biography:** CHAI Defang (1989—), female, E-mail: 18046030680@163.com; \* **Corresponding author**, E-mail: fengleisp@126.com

**Keywords:** *Aeromonas veronii*; extracellular polymeric substances; heavy metal;  $Zn^{2+}$ ; adsorption

## 1 引言 (Introduction)

伴随着采矿、冶炼、电镀等现代产业的快速发展,越来越多的重金属及其化合物被排放到环境中,致使重金属污染问题日趋严重.由于重金属无法降解,并且具有强烈的可移动性及复杂的化学存在形式,因此,如何从环境中去除及回收重金属一直是国内外的研究热点.传统的重金属污染治理技术主要包括化学沉淀、离子交换、膜分离、氧化还原等物理化学方法,但处理成本过高、易产生二次污染等问题一直制约着这些技术的发展(周东琴等, 2006; 张秀丽等, 2002).近年来,利用微生物吸附法对重金属进行回收处理引起人们的广泛关注,同其它传统手段相比,该技术具有成本低、能耗少、二次污染小等优点,具有明显的潜在应用价值,已成为重金属污染治理的重要研究方向之一(Hu *et al.*, 1996; 周健等, 2008; 吴涓等, 2001).

胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substances, EPS)是由微生物细胞分泌的一种粘性物质,由分布在内层且紧密结合在细胞表面的紧密粘附型EPS(TB-EPS)和松散分布在细胞表面外层的松散型EPS(LB-EPS)两部分组成(Adav *et al.*, 2008).EPS的化学成分主要包括蛋白质、多糖、核酸和脂类等,其中存在着大量的阴离子基团(羟基、羧基、硫酸根),这些基团使胞外聚合物不但具有离子交换特性,也可以与金属离子发生相互作用.已有的研究表明,胞外聚合物对重金属有良好的吸附性能,在生物吸附过程中扮演着重要角色(Duan *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2014).Sheng等(2013)采用热力学分析方法对活性污泥胞外聚合物的重金属吸附行为进行了分析,得出在EPS中蛋白质和腐殖酸均是 $Cu^{2+}$ 的强配位体,吸附主要受反应熵变的影响; Guibaud等(2005)研究了特定菌种提取的胞外聚合物与活性污泥中胞外聚合物对重金属吸附效果的对比,认为活性污泥胞外聚合物比特定菌种胞外聚合物吸附能力更强; Comte等(2008)研究了不同的pH对活性污泥胞外聚合物吸附Cd、Cu和Pb的影响,得出在pH=4时EPS对3种重金属的吸附量都是最少的,当pH=7时吸附量的顺序是 $Cu > Pb > Cd$ ; Wei等(2011)研究了细菌胞外聚合物对Cd的吸附效应等,发现在细菌表面存在的胞外聚合物促进了对Cd的吸附作用,并且对革兰氏阳性枯草芽孢杆菌细胞

比革兰氏阴性恶臭假单胞菌细胞的促进作用更显著.锌是环境中一种常见的重金属元素,摄入过量的锌元素会对人体皮肤组织及胃肠功能造成影响,严重时将导致贫血及免疫功能紊乱.截止目前,有关微生物胞外聚合物吸附重金属的研究仍大多停留在吸附量的理化条件等方面,且涉及的吸附离子也主要集中在 $Hg^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$ 及 $Pb^{2+}$ 等少数几种,而有关重金属 $Zn^{2+}$ 的微生物吸附机制,特别是松散型(LB-EPS)和紧密结合型(TB-EPS)两类不同胞外聚合物在该过程中的功能作用,则少见报道.

因此,本文以一株具有 $Zn^{2+}$ 吸附功能的*Aeromonas veronii* N8菌为对象,对其松散型胞外聚合物(LB-EPS)和紧密型胞外聚合物(TB-EPS)的性质及吸附 $Zn^{2+}$ 过程进行研究,其结果对于深入揭示微生物 $Zn^{2+}$ 吸附机制,促进重金属生物吸附技术的实际推广应用具有重要的意义.

## 2 材料与方法 (Materials and methods)

### 2.1 实验材料

2.1.1 菌株 实验所用的*Aeromonas veronii* N8菌为本实验室保藏的具有 $Zn^{2+}$ 吸附功能的菌株,该菌株筛选自活性污泥,为革兰氏阴性杆菌( $G^-$ ),菌落呈圆形,表面光滑,边缘无锯齿状且呈浅黄色,中央微微隆起.

2.1.2 实验试剂 胰蛋白胨、酵母提取粉、NaCl、琼脂粉、NaOH、 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 、浓 $H_2SO_4$ 、苯酚、考马斯、锌标液(硝酸为介质)、稀硝酸、碳酸氢钠、EDTA等购于国药集团.

2.1.3 培养基 实验所需培养基为LB培养基.

### 2.2 EPS的制备

EPS的提取采用热提取法(Ramesh *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2009),挑取在平板上培养的*A. veronii*单菌落,接种到液体培养基过夜培养作种子液.取种子液100  $\mu$ L接种到100 mL液体培养基中培养至稳定期取出,4  $^{\circ}C$ 、4000 g下离心10 min,弃上清液,加70  $^{\circ}C$ 超纯水5 mL振荡摇匀,4  $^{\circ}C$ 、4000 g离心10 min,取上清液为松散型胞外聚合物(LB-EPS);再次用超纯水补至原始体积,60  $^{\circ}C$ 水浴30 min,然后在4  $^{\circ}C$ 、4000 g下离心15 min,取上清液为紧密型胞外聚合物(TB-EPS).将两次取得的EPS样品于4  $^{\circ}C$ 保存,待测.

### 2.3 EPS 含量测定

蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝法 (Bradford, 1976), 多糖含量测定采用苯酚硫酸法 (Dubois *et al.*, 1956).

### 2.4 EPS 性质分析

2.4.1 凝胶色谱 (GFC) 分析 采用 Waters1515 凝胶渗透色谱仪 (RI2410 示差检测器) 对所提取 EPS 的分子量特征进行分析, 色谱柱为 PL aquagel-OH MIXED-M, 分子量标样为 PEG (孔毅等, 2003).

2.4.2 核磁共振 (NMR) 分析 <sup>1</sup>H NMR 光谱采用 AVANCEIII500 型核磁共振波谱仪, 在室温下以 500 MHz 操作, 配备 5 mm 逆探针和 z 梯度线圈. 化学位移相对于 TMS 以  $\delta$  记录 (Khan *et al.*, 2014).

2.4.3 荧光光谱 (EEM) 分析 EPS 样品用 Fluorolog-3 型荧光光谱仪进行荧光特性分析, 以氙弧灯为激发光源, 激发波长  $\lambda_{ex} = 220 \sim 450$  nm, 间隔 5 nm, 发射波长  $\lambda_{em} = 230 \sim 550$  nm, 间隔 2 nm, 荧光光谱在扫描完成后自动进行仪器校正 (Pan *et al.*, 2010).

2.4.4 X 射线能谱 (XPS) 分析 提取 EPS 样品, 冷冻干燥后压片, 采用美国 Thermo Scientific ESCALAB 250 型 X 射线能谱仪分析样品中的 C、H、O 高分辨能谱, 分析样品的化学组成 (Wang *et al.*, 2014).

### 2.5 吸附试验.

2.5.1 时间对 EPS 吸附 Zn<sup>2+</sup> 的影响 取 50 mg·L<sup>-1</sup> 的 Zn<sup>2+</sup> 溶液 50 mL 于 150 mL 聚乙烯瓶中, 14000D 的透析袋中放入 10 mL 200 mg·L<sup>-1</sup> 的 EPS 后, 放入 Zn<sup>2+</sup> 溶液中, 每组处理 3 个重复. 25 °C、150 r·min<sup>-1</sup> 摇床中培养, 分别于 0、20、40、60、90、120 min 时取样. 用 PinAAcle 900F 型原子吸收光谱仪测定剩余 Zn<sup>2+</sup> 的浓度 (Najera *et al.*, 2005; Raungsombon *et al.*, 2006).

2.5.2 Zn<sup>2+</sup> 浓度对 EPS 吸附 Zn<sup>2+</sup> 的影响 EPS 投加浓度为 200 mg·L<sup>-1</sup>, 分别添加 10、30、50、70、90 mg·L<sup>-1</sup> 的 Zn<sup>2+</sup> 初始溶液, 吸附方法同 2.5.1 节, 不同时间取样测定剩余 Zn<sup>2+</sup> 的浓度.

2.5.3 EPS 浓度对 EPS 吸附 Zn<sup>2+</sup> 的影响 分别将浓度为 20、40、50、100、200 mg·L<sup>-1</sup> 的 EPS 溶液放入 50 mg·L<sup>-1</sup> 的 Zn<sup>2+</sup> 溶液中, 吸附方法同 2.5.1 节, 不同时间取样测定剩余 Zn<sup>2+</sup> 的浓度.

2.6 EPS 吸附 Zn<sup>2+</sup> 前后的傅里叶红外光谱 (FTIR) 分析

将吸附 Zn<sup>2+</sup> 前后的 EPS 样品冷冻干燥后与溴化钾以 1:100 的比例混匀压片, 采用傅里叶衰减全反射红外光谱法 (ATR/FTIR) (美国尼高力 360 智能型红外光谱仪) 检测, 波数为 4000 ~ 400 cm<sup>-1</sup> (d'Abzac *et al.*, 2013).

### 2.7 吸附模型

分别利用 Langmuir 模型 (式 (1))、Freundlich 模型 (式 (2))、Redlich-peterson 模型 (式 (3))、Temkin 模型 (式 (4))、Sips 模型 (式 (5)) 对 LB-EPS 和 TB-EPS 的 Zn<sup>2+</sup> 吸附过程进行研究.

$$Q_e = Q_m b C_e / (1 + b C_e) \quad (1)$$

$$Q_e = K_F C_e^{1/n_e} \quad (2)$$

$$Q_e = a C_e / (1 + b C_e^m) \quad (3)$$

$$Q_e = B \ln^A + B \ln C_e \quad (4)$$

$$Q_e = Q_m \frac{K_1 C_e^{1/n}}{1 + (K_1 C_e)^{1/n}} \quad (5)$$

式中,  $Q_e$  为吸附剂的平衡吸附量 (mg·L<sup>-1</sup>);  $C_e$  为平衡浓度 (mg·L<sup>-1</sup>);  $Q_m$  为吸附剂的最大吸附量 (mg·L<sup>-1</sup>); Langmuir 模型中的  $b$  表示其经验常数; Freundlich 模型中的  $K_F$ 、 $n$  表示其常数; Redlich-peterson 模型中  $a$ 、 $b$ 、 $m$  均表示常数; Temkin 模型中的  $A$  和  $B$  为其常数; Sips 模型中  $K$  和  $n$  为其常数 (王远红等, 2010; Su *et al.*, 2014).

## 3 结果与讨论 (Results and discussion)

### 3.1 EPS 的组成

对 *A.veronii* N8 菌株所产 LB-EPS 与 TB-EPS 的蛋白质和多糖含量进行测定, 其组成特征如图 1 所示. 由图 1 可知, 该菌株的 LB-EPS 含量要明显高于 TB-EPS; 在成分组成方面, 两者也具有显著差别, 其

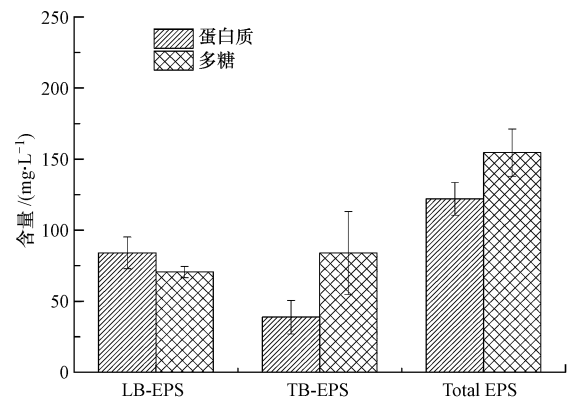


图 1 *A.veronii* N8 产 LB-EPS 与 TB-EPS 的组成特征

Fig.1 Composition of LB-EPS and TB-EPS produced by *A.veronii* N8

中, LB-EPS 的蛋白质含量为  $84 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 多糖含量为  $70.57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 蛋白质含量要高于多糖含量; 而在 TB-EPS 中, 多糖含量为  $83.99 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 蛋白质含量为  $38.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 多糖含量则大于蛋白质含量; 另外, LB-EPS 中的蛋白质含量要高于 TB-EPS, 但 TB-EPS 却含有更多的多糖. EPS 是微生物向胞外分泌的一类高分子集合物, 其产生受到营养条件、培养时间及环境因素等多方面的影响. 如王亮等 (2011) 对白腐真菌胞外聚合物的含量进行了测定, 得出在振荡培养 113 h 后, 获得最大的 EPS 总量为  $125.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 这少于 *A. veronii* N8 菌产生的 LB-EPS 和 TB-EPS 的量; 而熊芬等 (2009) 则对烟曲霉胞外聚合物的含量进行测定, 发现烟曲霉胞外聚合物的总量为  $220.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 也小于 *A. veronii* N8 菌的 EPS 总量.

### 3.2 不同类型 EPS 的性质特征

3.2.1 EPS 的 GFC 分析 利用 GFC 对两种 EPS 的分子量特征进行分析, 结果如图 2 所示. 两种 EPS 均具有较宽的分子量分布 ( $10 \sim 10000 \text{ kDa}$ ), 表明 EPS 是一类复杂多样的大分子有机物. 进一步分析发现 (表 1), LB-EPS 和 TB-EPS 的分子量分散指数 ( $M_w/M_n$ ) 分别为 1.68 和 1.82, TB-EPS 略大, 说明该类型 EPS 具有更宽的分子量分布范围; 而对比两者的平均分子量 ( $M_w$ ) 则发现, LB-EPS 的  $M_w$  ( $490752 \text{ Da}$ ) 要高于 TB-EPS 的  $M_w$  ( $418824 \text{ Da}$ ).

表 1 EPS 的分子量

Table 1 Molecular weight of EPS

EPS	$M_n/\text{Da}$	$M_w/\text{Da}$	$M_w/M_n$
LB-EPS	490752	825683	1.68
TB-EPS	418824	762335	1.82

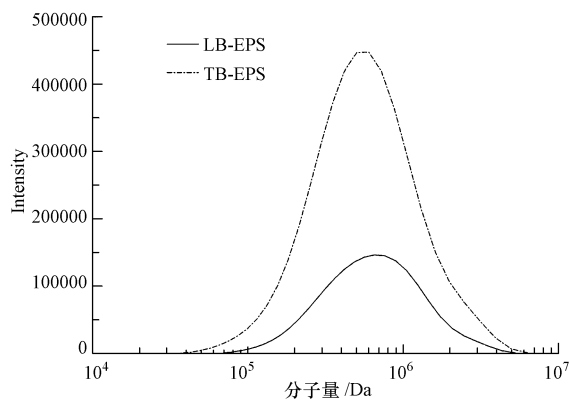
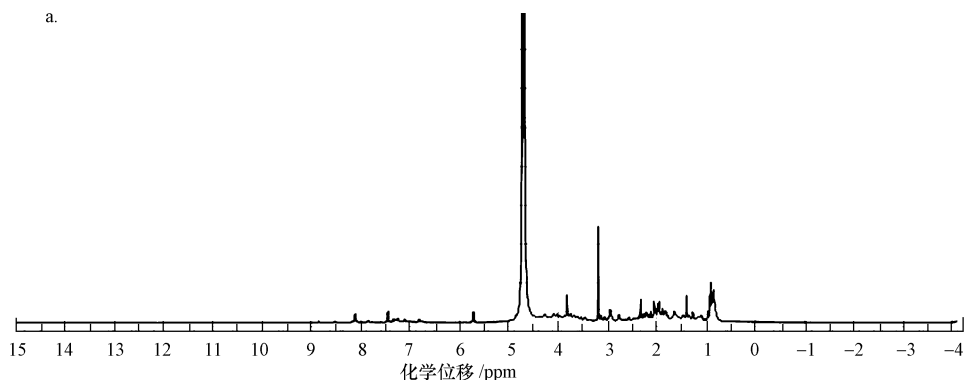


图 2 *A. veronii* N8 产 LB-EPS 与 TB-EPS 的分子量分布

Fig. 2 Molecular weight distribution of LB-EPS and TB-EPS produced by *A. veronii* N8

3.2.2 EPS 的 NMR 分析 对 LB-EPS 和 TB-EPS 进行  $^1\text{H}$  NMR 图谱分析. 其中, LB-EPS 由高场到低场存在的主要吸收峰化学位移分别 4.75、3.85、3.2、2.4、2、1.4 和 0.9 ppm, 而 TB-EPS 为 8.5~7.5、6~5.5、4.75 及 4.3~0.8 ppm, 其中, 4.3~0.8 ppm 区域信号重叠严重, 在化学位移 3.8、3.2、1.9、1.4 和 0.8 ppm 处有 5 个强峰. 进一步分析发现, TB-EPS 在化学位移 8.5~7.5 ppm 之间的信号峰应来自芳环结构, 而 LB-EPS 并不存在该信号峰; 在 5.0~3.0 ppm 位置的信号峰表示羟基上的氢, 主要是多糖的特征峰, TB-EPS 在此区域的信号峰强度要大于 LB-EPS; 在 3.0~0.5 ppm 的  $^1\text{H}$  化学位移范围内主要代表饱和的烷基伯氢、烷基仲氢和烷基叔氢, TB-EPS 在该区域的信号峰也要强于 LB-EPS; 0.89~0.97 ppm 则代表着甲基质子的特征吸收峰, 此处 TB-EPS 的峰强度仍要强于 LB-EPS; 而 1.2~1.23 ppm 则为亚甲基质子的特征吸收峰, 仅 TB-EPS 有此特征峰, LB-EPS 并没有 (图 3).



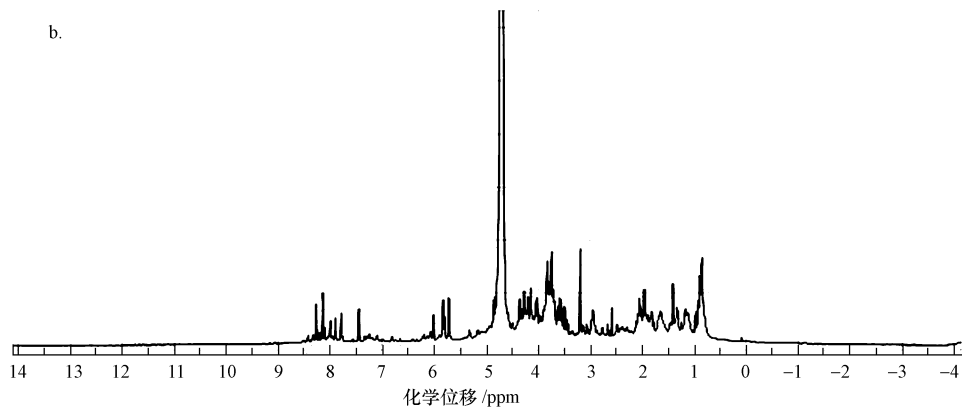


图3 *A. veronii* N8 产 LB-EPS 与 TB-EPS 的<sup>1</sup>H NMR 图谱(a.LB-EPS,b.TB-EPS)

Fig.3 <sup>1</sup>H NMR spectrum of LB-EPS and TB-EPS produced by *A. veronii* N8(a.LB-EPS,b.TB-EPS)

3.2.3 EPS 的 EEM 分析 对 *A. veronii* N8 菌株所产 LB-EPS 与 TB-EPS 进行 EEM 检测,发现 LB-EPS 与 TB-EPS 各具有两个特征峰,分别是 A、C 和 A、D(图 4).Chen 等(2003)通过对不同有机物的荧光特征进行研究,将三维荧光光谱图分为 5 个区域(I ~ V),分别对应 5 类常见的有机物.本研究中 Peak A 属于区域 IV,是溶解性的微生物副产物,如色氨酸类蛋白等;Peak C 属于区域 V,是腐殖酸类物质;Peak D

属于区域 II,是简单的芳香类蛋白质.另外,三维荧光光谱中荧光强度可以体现有机物的含量,通常有机物含量越高与其对应的荧光强度也越强,本文两种 EPS 在 Peak A 区域均具有较强的荧光,表明两者都含有较多的色氨酸类蛋白微生物副产物;由于具有 Peak D 区域,说明 TB-EPS 中含有一定数量的芳香类蛋白质;而 LB-EPS 中具有 Peak C 区域,则表明其成分中含有腐殖酸类物质.

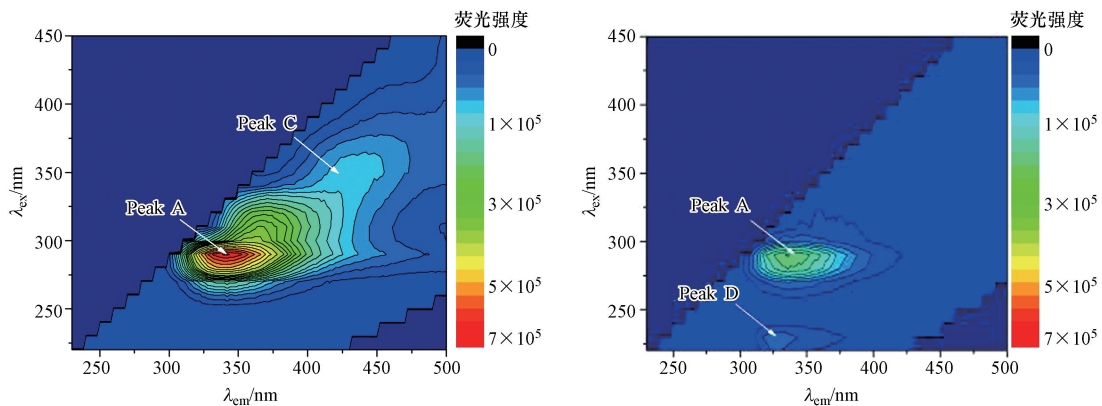


图4 *A. veronii* N8 产 LB-EPS 与 TB-EPS 的 EEM 图谱(a.LB-EPS,b.TB-EPS)

Fig.4 EEM spectrum of LB-EPS and TB-EPS produced by *A. veronii* N8(a.LB-EPS,b.TB-EPS)

3.2.4 EPS 的 XPS 分析 对 *A. veronii* N8 所产 LB-EPS 和 TB-EPS 的 C、O 和 N 3 种元素的 XPS 高分辨图谱进行分析.LB-EPS 和 TB-EPS 中的 C 谱、O 谱和 N 谱基团种类相似,但各个元素所占的比例却不同(图 5).LB-EPS 和 TB-EPS 的 C 谱中 284.59~284.65 eV 处的峰是 C—(C,H),为脂类或者氨基酸侧链,该峰值所占比例最高分别为 41.1%和 43.1%.对于 O

谱,LB-EPS 和 TB-EPS 中 532.18~532.57 eV 处的 C=O 和 O—C—O 来自醇,半缩醛或乙缩醛基在两个峰中比例也都为最高,分别为 78.4%和 60.6%,LB-EPS 相对更高.对于 N 谱,非质子化的 N 所占比例都大于质子化的 N,LB-EPS 和 TB-EPS 中非质子化的 N 分别为 65.5%和 66.6%,这些都表明两种 EPS 的组成具有明显的差别.

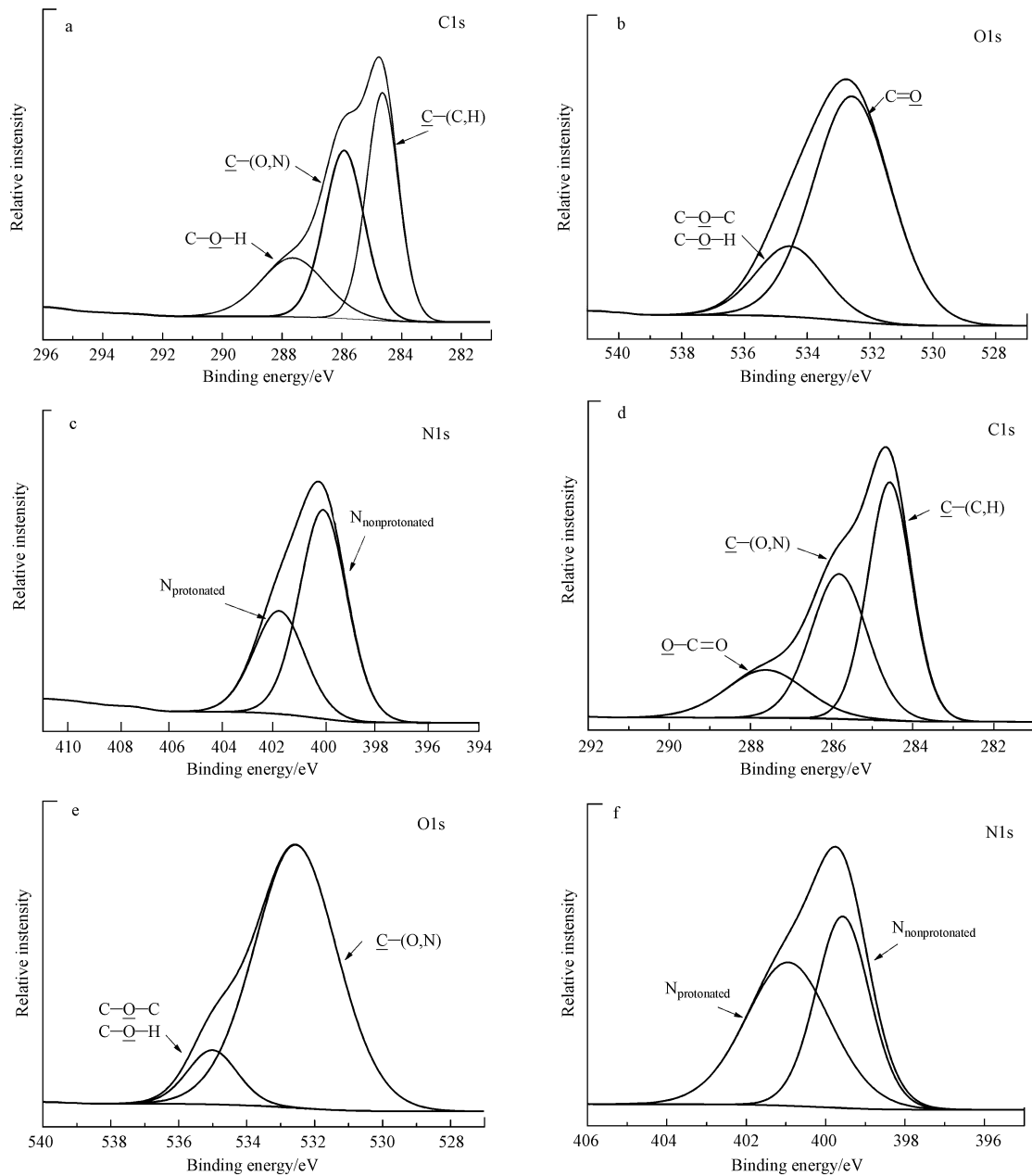


图5 *A. veronii* N8 产 LB-EPS 与 TB-EPS 的 XPS 图谱(a~c.LB-EPS,d~f. TB-EPS)

Fig.5 XPS spectrum of LB-EPS and TB-EPS produced by *A. veronii* N8 (a~c.LB-EPS, d~f.TB-EPS)

### 3.3 EPS 的 $Zn^{2+}$ 吸附特征

3.3.1 吸附时间的影响 通过研究 LB-EPS 和 TB-EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附率随时间的变化得出, 两种类型 EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附过程具有类似的特征, 都经历了 3 个阶段: 快速吸附、慢速吸附和吸附平衡(图 6). 其中, 0~20 min 为快速吸附阶段, 在这段时间内, 两类 EPS 的吸附率均迅速增加, 在 20 min 时 LB-EPS 和 TB-EPS 对  $Zn^{2+}$  的吸附率分别为 46.2% 和 38.1%, LB-EPS 的吸附要快于 TB-EPS; 20~90 min 为慢速吸附阶段, 此阶段两种 EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附率增速放

慢, 在 90 min 时两者的吸附率均达到最大, 此时 LB-EPS 的吸附率为 51.96%, 吸附量为  $25.48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 而 TB-EPS 的吸附率为 39%, 吸附量为  $19.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 同第一阶段相比, 该阶段两种 EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附能力差距更为显著, LB-EPS 具有明显的吸附优势; 而经过 90 min 以后, 两种 EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附率均变化缓慢, 表明两者的吸附活动进入了吸附平衡阶段. EPS 的重金属吸附是一个动态平衡过程, 在反应初期两种 EPS 的吸附率都迅速增加, 因为此时的吸附位点比较充足, 而随着吸附时间的增加, 吸附位点越来

越少,吸附率的增加变得缓慢,最终吸附率随着吸附位点的饱和而达到平衡,这与郑蕾等(2005)的研究结果相一致.微生物 EPS 对重金属阳离子的吸附能力与其组成及化学性质密切相关.相关研究已表明,蛋白质与多糖比例及化学官能团种类的不同都会导致 EPS 重金属吸附特征的差异(郑蕾等,2008;熊芬等,2007).在本研究中,LB-EPS 与 TB-EPS 具有不同的蛋白质和多糖组成比例,并且 LB-EPS 还含有少量的腐殖酸类物质,这些成分组成方面的不同使得两类 EPS 呈现出不同的化学性质,而上述 GFC、NMR 及 XPS 性质分析结果也直接证实了两类 EPS 在分子量分布及化学基团构成等方面具有显著差别.综上所述,正是由于 LB-EPS 和 TB-EPS 在成分组成及化学性质方面的差异,才导致两者呈现出不同的  $Zn^{2+}$  吸附特征.

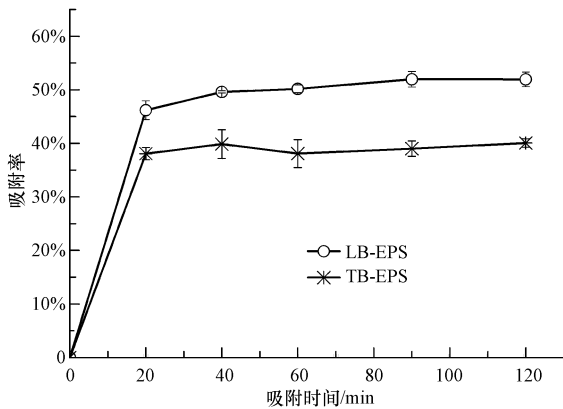


图 6 吸附时间对 LB-EPS 与 TB-EPS 吸附  $Zn^{2+}$  的影响

Fig.6 Effect of adsorption time on the  $Zn^{2+}$  absorption ratios of LB-EPS and TB-EPS

3.3.2  $Zn^{2+}$  浓度对吸附的影响 研究了不同  $Zn^{2+}$  添加浓度对 TB-EPS 与 LB-EPS 对  $Zn^{2+}$  吸附率的影响.结果(图 7)发现,两类 EPS 对  $Zn^{2+}$  的吸附率都随着  $Zn^{2+}$  浓度的增加而降低,当添加  $Zn^{2+}$  浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时 LB-EPS 与 TB-EPS 的吸附率都达到了最大,分别为 88% 和 63.4%,而当  $Zn^{2+}$  浓度为  $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时 LB-EPS 与 TB-EPS 的吸附率则最小,分别为 43.47% 和 34.58%;另外,尽管两类 EPS 呈现出相似的  $Zn^{2+}$  吸附特征,但从图 7 可以看出,在相同  $Zn^{2+}$  浓度条件下,LB-EPS 的吸附率要明显高于 TB-EPS.之所以出现上述结果,除了 LB-EPS 和 TB-EPS 在性质和组分方面存在差异之外,主要是因为低  $Zn^{2+}$  初始浓度下,EPS 的吸附位点更充足,随着  $Zn^{2+}$  浓度的增加吸附位点达到饱和,吸附量缓慢增加,而吸

附量占总量的比例在不断减少(沈祥信,2007).

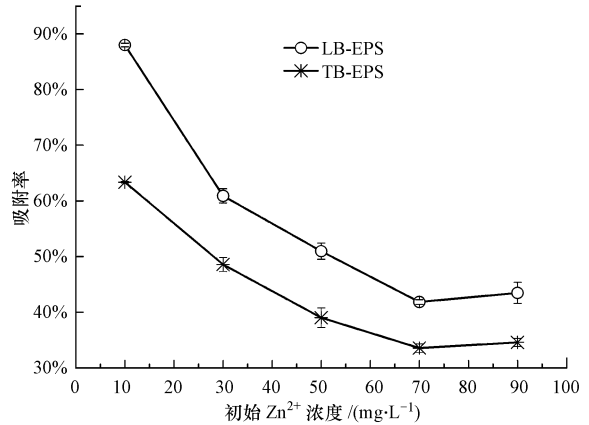


图 7  $Zn^{2+}$  浓度对 LB-EPS 与 TB-EPS 吸附  $Zn^{2+}$  的影响

Fig.7 Effect of  $Zn^{2+}$  concentration on the  $Zn^{2+}$  absorption ratios of LB-EPS and TB-EPS

3.3.3 EPS 浓度对吸附的影响 不同浓度 EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附特征如图 8 所示.由实验结果可以得出, LB-EPS 和 TB-EPS 对  $Zn^{2+}$  的吸附率随 EPS 浓度的增加而上升,当 EPS 浓度小于  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,两者的  $Zn^{2+}$  吸附率随着浓度的增加增幅明显, LB-EPS 的吸附效率从最初的 40.3% 增加到 44.4%, TB-EPS 的吸附率从 30.4% 增加到 36.76%,由于吸附位点充足该阶段吸附效果受 EPS 浓度的影响明显;而当 EPS 的浓度高于  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,两者的  $Zn^{2+}$  吸附率则增幅较小,受 EPS 浓度的影响较小.在整个吸附过程中, EPS 浓度的增加带来吸附位点的增多,因此,胞外聚合物对  $Zn^{2+}$  的吸附率随之增加.而后增加变得缓慢,并且逐渐达到平衡,这可能是 EPS 量的增加降低了其比表面积的大小和参与反应的单位官能团数量,

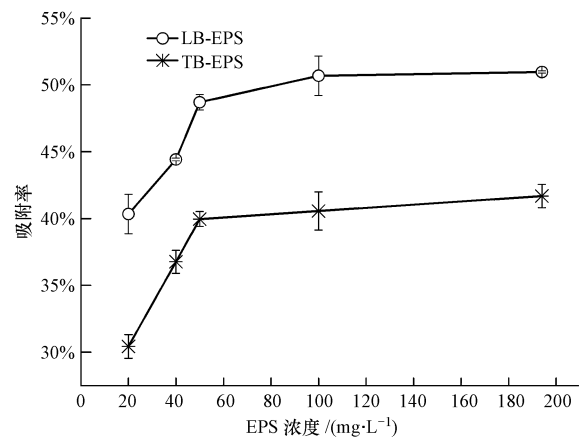


图 8 EPS 浓度对 LB-EPS 与 TB-EPS 吸附  $Zn^{2+}$  的影响

Fig.8 Effect of EPS concentration on the  $Zn^{2+}$  absorption ratios of LB-EPS and TB-EPS

此外,还有静电相互作用及反应集团间的相互干扰等原因.而熊芬等(2009)研究胞外聚合物投加量对吸附  $Pb^{2+}$  影响时也发现随着投加量的增加,吸附率增加变得缓慢,最终达到平衡(熊芬等, 2009).另外,尽管 LB-EPS 和 TB-EPS 呈现相似的吸附特征,但 LB-EPS 吸附率一直大于 TB-EPS,而这也是两者在成分组成和化学性质上均存在差异所致.

### 3.4 吸附前后的 FTIR 分析

图 9 为 *A. veronii* N8 产生的 LB-EPS 和 TB-EPS 吸附  $Zn^{2+}$  前后的红外对比图谱. LB-EPS 吸附  $Zn^{2+}$  后在  $531\text{cm}^{-1}$  附近核酸的吸收峰强度明显减弱,且发生了移位现象,由  $531\text{cm}^{-1}$  移位到  $620\text{cm}^{-1}$ . 而 TB-EPS 吸附重金属  $Zn^{2+}$  后,在  $531\text{cm}^{-1}$  附近核酸的吸收峰强度几乎没发生变化,但也发生了由  $531\text{cm}^{-1}$  到  $607\text{cm}^{-1}$  的移位现象; LB-EPS 和 TB-EPS 在  $1074\text{cm}^{-1}$  多糖特征峰区,吸附前后峰的位置变化不大,吸附  $Zn^{2+}$  后峰的强度有略微增加;在  $1399\text{cm}^{-1}$  区为多糖的 C—O 的伸缩振动峰,当 LB-EPS 吸附  $Zn^{2+}$  后,峰值明显减弱,而 TB-EPS 在此区并没出现 C—O 的伸缩振动峰.

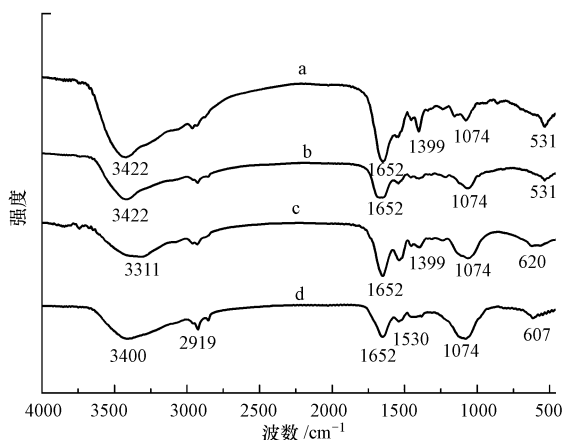


图 9 LB-EPS 和 TB-EPS 吸附  $Zn^{2+}$  前后的红外图谱 (a、b 分别为吸附前的 LB-EPS 和 TB-EPS; c、d 分别为吸附后的 LB-EPS 和 TB-EPS)

Fig.9 FTIR comparison spectrum of LB-EPS and TB-EPS for  $Zn^{2+}$  adsorption (a and b represent LB-EPS and TB-EPS before  $Zn^{2+}$  adsorption, respectively; c and d represent LB-EPS and TB-EPS after  $Zn^{2+}$  adsorption, respectively)

LB-EPS 和 TB-EPS 在  $1652\text{cm}^{-1}$  蛋白质特征峰区,吸附  $Zn^{2+}$  后峰的强度大大减弱,但位置并没有发生变化.而在  $3422\text{cm}^{-1}$  区的峰是—OH 的伸缩振动峰,两类 EPS 吸附后特征峰的强度都明显变弱,并且发生了移位现象.本研究中 EPS 吸附  $Zn^{2+}$  前后官

能团特征峰变化的这一现象与 Zhang 等(2014)报道中所观察到的基团是相似的.

### 3.5 不同类型 EPS 的 $Zn^{2+}$ 吸附模型

采用 Langmuir、Freundlich、Redlich-peterson、Temkin 和 Sips 5 种吸附等温模型对 EPS 吸附  $Zn^{2+}$  的过程进行拟合分析,结果如表 2 所示.对比 5 种模型的拟合结果发现, LB-EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附数据采用 Freundlich 模型具有较高的拟合度,而 TB-EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附过程则更符合 Temkin 模型.重金属的 EPS 吸附是一个复杂的物理化学过程,与重金属类型和 EPS 的自身组成密切相关.从前面的研究结果可知,两类 EPS 在成份组成、分子量分布、化学基团等多个方面均具有区别,这直接导致了两类 EPS 吸附特征的不同. Freundlich 模型通常能较好地描述水溶液中的吸附, LB-EPS 用 Freundlich 拟合得到的  $n$  值 (Freundlich 经验常数) 为 2.67,可判断吸附是容易进行的. Temkin 模型考虑到当吸附剂吸附溶质时,被吸附溶质间发生相互作用力,则必会对等温吸附行为产生影响,说明 TB-EPS 吸附  $Zn^{2+}$  过程中,被吸附溶质之间有发生力的作用,说明随着吸附剂表面覆盖率增大,吸附热呈线性降低.

表 2 EPS 对  $Zn^{2+}$  吸附的热力学方程拟合参数

Table 2 Regression parameter for the isotherm equations of  $Zn^{2+}$  adsorbed by EPS

模型	样品	$R^2$
Langmuir	LB-EPS	0.9008
	TB-EPS	0.6995
Freundlich	LB-EPS	0.9762
	TB-EPS	0.9467
Redlich-peterson	LB-EPS	0.8875
	TB-EPS	0.7725
Temkin	LB-EPS	0.8448
	TB-EPS	0.9586
Sips	LB-EPS	0.9699
	TB-EPS	0.9447

## 4 结论 (Conclusions)

1) *A. veronii* N8 所产两种 EPS 的主要成份均为蛋白质和多糖,但两者的组成比例各不相同; TB-EPS 的分子量分布范围较广,而 LB-EPS 则具有更大的平均分子量;而 EEM 图谱则发现,两种 EPS 均含有一定数量的色氨酸类蛋白微生物副产物,同时, TB-EPS 含有简单的芳香型类蛋白质, LB-EPS 则含有少量腐殖酸类物质;  $^1\text{H}$  NMR 与 XPS 图谱则表明,两种 EPS 的具有相似的结构组成,但在元素比



例方面具有差异。

2) LB-EPS 和 TB-EPS 均具有良好的  $Zn^{2+}$  吸附特性, 经过 90 min 吸附时间, 两者均能达到吸附平衡, 与 TB-EPS 相比, LB-EPS 的吸附效果更好; 两种 EPS 对  $Zn^{2+}$  的吸附率均随着  $Zn^{2+}$  浓度的增加而降低, 而随着 EPS 投加量的增加而上升; 对比吸附  $Zn^{2+}$  前后红外图谱可以看出, 参与  $Zn^{2+}$  吸附反应的主要有 C—O、—OH 基团及蛋白质等。

3) 采用 5 种热力学模型对两种 EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附过程进行描述, 发现 LB-EPS 的  $Zn^{2+}$  吸附过程符合 Freundlich 模型, 而 TB-EPS 则采用 Temkin 模型更为合适, 这表明两种 EPS 可能具有不同的  $Zn^{2+}$  吸附机制。

**责任作者简介:** 封磊 (1977—), 男, 博士, 副教授, 主要从事环境生物技术研究. E-mail: fengleisp@126.com.

#### 参考文献 (References):

- Adav S S, Lee D J. 2008. Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 154(1/3): 1120-1126
- Bradford M M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 72(1/2): 248-254
- Chen W, Westerhoff P, Leenheer J A, et al. 2003. Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 37(24): 5701-5710
- Comte S, Guibaud G, Baudu M, et al. 2008. Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) towards Cd, Cu and Pb for different pH values[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 151(1): 185-193
- d'Abzac P, Bordas F, Joussein E, et al. 2013. Metal binding properties of extracellular polymeric substances extracted from anaerobic granular sludges[J]. *Environmental Science Pollution Research*, 20(7): 4509-4519
- Duan L, Jiang W, Song Y H, et al. 2013. The characteristics of extracellular polymeric substances and soluble microbial products in moving bed biofilm reactor-membrane bioreactor [J]. *Bioresource Technology*, 148: 436-442
- DuBois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Analytical Chemistry*, 28(3): 350-356
- Guibaud G, Comte S, Bordas F, et al. 2005. Comparison of the complexation potential of extracellular polymeric substances (EPS), extracted from activated sludges and produced by pure bacteria strains, for cadmium, lead and nickel[J]. *Chemosphere*, 59(5): 629-638
- Hu X C, Boyer G L. 1996. Siderophore-mediated aluminum uptake by *Bacillus megaterium* ATCC 19213[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(11): 4044-4048
- Khan M T, Busch M, Molina V G, et al. 2014. How different is the composition of the fouling layer of wastewater reuse and seawater desalination RO membranes? [J]. *Water Research*, 59: 271-282
- 孔毅, 吴梧桐, 吴如金. 2003. 蛋白质分子量测定方法比较研究[J]. *分析仪器*, (2): 44-47
- Najera I, Lin C C, Kohbodi G A, et al. 2005. Effect of chemical speciation on toxicity of mercury to *Escherichia coli* biofilms and planktonic cells[J]. *Environmental Science & Technology*, 39(9): 3116-3120
- Pan X L, Liu J, Zhang D Y. 2010. Binding of phenanthrene to extracellular polymeric substances (EPS) from aerobic activated sludge: a fluorescence study [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 80(1): 103-106
- Ramesh A, Lee D J, Lai J Y. 2007. Membrane biofouling by extracellular polymeric substances or soluble microbial products from membrane bioreactor sludge[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(3): 699-707
- Raungsomboon S, Chidthaisong A, Bunnag B, et al. 2006. Production, composition and  $Pb^{2+}$  adsorption characteristics of capsular polysaccharides extracted from a cyanobacterium *Gloeocapsa gelatinosa*[J]. *Water Research*, 40(20): 3759-3766
- 沈祥信. 2007. 好氧颗粒污泥快速培养及其吸附重金属的研究[D]. 长沙: 湖南大学
- Sheng G P, Xu J, Luo H W, et al. 2013. Thermodynamic analysis on the binding of heavy metals onto extracellular polymeric substances (EPS) of activated sludge[J]. *Water Research*, 47(2): 607-614
- Song C, Sun X F, Xing S F, et al. 2014. Characterization of the interactions between tetracycline antibiotics and microbial extracellular polymeric substances with spectroscopic approaches [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(3): 1786-1795
- Su X Y, Tian Y, Zuo W, et al. 2014. Static adsorptive fouling of extracellular polymeric substances with different membrane materials [J]. *Water Research*, 50: 267-277
- 王亮, 陈桂秋, 曾光明, 等. 2011. 白腐真菌胞外聚合物及其对菌体吸附  $Pb^{2+}$  的影响[J]. *环境科学*, 32(3): 773-778
- 王远红, 张红波, 罗世田, 等. 2010. 胞外聚合物对水中 Cd(II) 的吸附性能研究[J]. *环境工程学报*, 4(10): 2185-2189
- Wang Z C, Gao M C, Wang S, et al. 2014. Effect of hexavalent chromium on extracellular polymeric substances of granular sludge

- from an aerobic granular sequencing batch reactor [J]. *Chemical Engineering Journal*, 251: 165-174
- Wang Z W, Wu Z C, Tang S J. 2009. Extracellular polymeric substances (EPS) properties and their effects on membrane fouling in a submerged membrane bioreactor [J]. *Water Research*, 43(9): 2504-2512
- Wei X, Fang L C, Cai P, *et al.* 2011. Influence of extracellular polymeric substances (EPS) on Cd adsorption by bacteria [J]. *Environmental Pollution*, 159(5): 1369-1374
- 吴涓, 李清彪. 2001. 黄孢原毛平革菌吸附铅离子机理的研究[J]. *环境科学学报*, 21(3): 291-295
- 熊芬, 胡勇有, 银玉容. 2009. 烟曲霉胞外聚合物对  $Pb^{2+}$  的吸附特性[J]. *环境科学学报*, 29(11): 2289-2294
- Zhang P, Chen Y P, Guo J S, *et al.* 2014. Adsorption behavior of tightly bound extracellular polymeric substances on model organic surfaces under different pH and cations with surface plasmon resonance[J]. *Water Research*, 57: 31-39
- 郑蕾, 丁爱中, 王金生, 等. 2008. 不同组成活性污泥胞外聚合物吸附  $Cd^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  特征[J]. *环境科学*, 29(10): 2850-2855
- 张秀丽, 刘月英. 2002. 贵、重金属的生物吸附[J]. *应用与环境生物学报*, 8(6): 668-671
- 周东琴, 魏德洲. 2006. 沟戈登氏菌对重金属的生物吸附-浮选和解吸性能[J]. *环境科学*, 27(5): 960-964
- 周健, 栗静静, 龙腾锐, 等. 2008. 胞外聚合物 EPS 在废水生物除磷中的作用[J]. *环境科学学报*, 28(9): 1758-1762