

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2016.0123

董明, 宋卫锋, 程亚杰. 2016. 苯胺黑药高效降解菌 (*Bacillus vallismortis*) 胞外聚合物去除重金属的研究 [J]. 环境科学学报, 36(12): 4367-4375
Dong M, Song W F, Cheng Y J. 2016. Study on heavy metals removal by extracellular polymeric substances extracted from aniline aerofloat-degradating bacterium (*Bacillus vallismortis*) [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 36(12): 4367-4375

苯胺黑药高效降解菌 (*Bacillus vallismortis*) 胞外聚合物去除重金属的研究

董明, 宋卫锋*, 程亚杰

广东工业大学环境科学与工程学院, 广州 510006

收稿日期: 2015-12-28

修回日期: 2016-03-23

录用日期: 2016-03-23

摘要: 微生物胞外聚合物 (Extracellular Polymeric Substances, EPS) 在废水中重金属的吸附去除过程中起着非常重要的作用. 苯胺黑药高效降解菌 (*Bacillus vallismortis*) 对苯胺黑药有良好的降解能力, 但对其吸附重金属的性能研究还不充分. 因此, 本文采用 3 种方法提取苯胺黑药高效降解菌的 EPS, 主要考察了 pH、温度、底物浓度和时间对重金属去除效果的影响. 结果表明, 热提法提取的效率较高; pH 对金属离子吸附影响很大, 当 pH < 7 时, 随着 pH 变大吸附量逐渐升高, 而温度对吸附量影响不大. EPS 对 Cu²⁺、Zn²⁺ 的去除为快速表面吸附过程, 在第 8 min 时对 Cu²⁺、Zn²⁺ 的去除率分别达到了 90.7%、52.3%, EPS 对 Cu²⁺、Zn²⁺ 的吸附表现上符合拟二级动力学规律. 在单一体系中, 根据 Langmuir 方程计算出 EPS 对 Cu²⁺ 的最大吸附量为 2.155 mg·mg⁻¹, 对 Zn²⁺ 的最大吸附量为 0.508 mg·mg⁻¹; Cu²⁺ 吸附过程与 Freundlich 方程拟合效果较好, Zn²⁺ 吸附过程与 Langmuir 方程拟合效果较好. 红外光谱分析结果表明, EPS 表面的羟基、氨基、酰胺基团、羧基和 C—O—C 基团都参与了吸附, 且 Cu²⁺ 和 Zn²⁺ 的吸附位点基本一致, 本文的研究结果对工程实践具有一定的理论指导意义.

关键词: 苯胺黑药高效降解菌; 胞外聚合物; Cu²⁺、Zn²⁺; 吸附

文章编号: 0253-2468(2016)12-4367-09

中图分类号: X703

文献标识码: A

Study on heavy metals removal by extracellular polymeric substances extracted from aniline aerofloat-degradating bacterium (*Bacillus vallismortis*)

DONG Ming, SONG Weifeng*, CHENG Yajie

School of Environmental Science and Engineering, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006

Received 28 December 2015;

received in revised form 23 March 2016;

accepted 23 March 2016

Abstract: Extracellular polymeric substances (EPS) play a very important role in heavy metals removal from wastewater through adsorption. *Bacillus vallismortis* has been found to be efficient in degradation of aniline aerofloat, however, its potential for heavy metal removal is still unexplored. In this study, three methods were employed to extract EPS, and effects of pH, temperature, substrate concentration and time on removal efficiency of heavy metals were investigated. The results show the highest extraction efficiency of EPS was achieved by using heat extraction method and pH played a greater influence than other factors on heavy metals removal. The adsorption capacity of the EPS to heavy metals increased with pH under pH below 7, but the effect of temperature was negligible. Cu²⁺/Zn²⁺ removal by the EPS was found to be a rapid surface adsorption process. Cu²⁺ and Zn²⁺ were removed up to 90.7% and 52.3% within eight minutes respectively. The adsorption process of heavy metals onto EPS followed pseudo second order model. The maximum adsorption capacity of Cu²⁺ and Zn²⁺ calculated from Langmuir isotherm model were 2.155 mg·mg⁻¹ and 0.508 mg·mg⁻¹ respectively, under single metal system. The adsorption process of Cu²⁺ was well fitted with Langmuir isotherm model, while the adsorption process of Zn²⁺ was better fitted with Freundlich isotherm model. Infrared spectrum analysis results demonstrate the presence of hydroxyl, amino, amide groups, carboxyl and C—O—C group on the surface of EPS which could be involved in the adsorption of heavy metals, and the Cu²⁺ and Zn²⁺ adsorption sites on the EPS were almost the same. These results will provide a theoretical guidance for practical application of using EPS to remove heavy metals from aqueous solution.

Keywords: aniline aerofloat-degradating bacteria (*Bacillus vallismortis*); extracellular polymeric substances (EPS); Cu²⁺ and Zn²⁺; adsorption

基金项目: 广东省科技计划项目 (No.2014A020209077)

Supported by the Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, China (No.2014A020209077)

作者简介: 董明 (1989—), 男, E-mail: 995416246@qq.com; * 通讯作者 (责任作者), E-mail: weifengsong@263.net

Biography: DONG Ming (1989—), male, E-mail: 995416246@qq.com; * Corresponding author, E-mail: weifengsong@263.net

1 引言 (Introduction)

美国环保署提出的一份关于首要污染物的报告中列举了 10 种有毒重金属离子,其中就包括铜和锌 (Shipley *et al.*, 2013).铜、锌矿产资源的广泛开发及其大量使用产生了一系列严重的环境问题,同时,碱性锌锰电池也逐步取代了汞电池从而用量越来越大,这些电池如不被及时处理也将会导致环境污染.有关铜的危害性早已被证明 (Kazemipour *et al.*, 2008),由于其非生物降解性和持续性,可通过食物链在环境中积累,最终会给人类健康带来很严重的危害 (Hadi *et al.*, 2013),因此,它们在环境中的浓度被严格地控制在一定的范围内以符合相关的环境法规 (Abdolali *et al.*, 2015).

传统去除金属离子的方法大多数具有成本高、易产生二次污染等不足.研究发现,当金属离子浓度在 $1\sim 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时物理法对金属离子的去除效率很低 (Gupta *et al.*, 2008; Lodeiro *et al.*, 2006).一些废弃生物材料如海藻、花生壳、木屑和甘蔗等在吸附方面的用途都已被研究 (De Luna *et al.*, 2015; Gwenzi *et al.*, 2014),尽管这些吸附材料具有很好的吸附效果,但都需要经高温处理后才能发挥作用,从而导致高能耗.而生物吸附由于具有高效性和低能耗的优势从而引起广大研究人员的极大兴趣 (Feng *et al.*, 2013).

研究表明,胞外聚合物 (Extracellular Polymeric Substances, EPS) 对废水中的金属离子具有很好的吸附性能 (Moon *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2008; 胡学伟等, 2014).Liu 等 (2001) 提取了 4 种不同细菌的胞外聚合物吸附重金属,结果表明,其对同一种金属离子的最大吸附量分别比树脂高 83.8%、92.5%、96.3% 和 64.8%.因此,有关胞外聚合物的研究已迅速成为一个热点 (Guo, 2015).EPS 上含有丰富的官能团 (如羧基、氨基、羟基和羰基等),可以和水中的金属元素 (如铜、铅、锌等) 进行络合、螯合,能够捕捉和吸附水中的重金属 (杨敏等, 2011).本实验室前期针对在微生物降解中应用非常广泛的浮选药剂 (如苯胺黑药) 进行了大量研究,但关注点仅限于铅、锌、铜矿选矿废水中的有机药剂,而实际上,选矿废水中的金属离子特别是 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Pb^{2+} 也不能忽略.虽然人们对 EPS 吸附重金属进行了广泛的研究,但在综合考虑选矿废水中的有机药剂和重金属方面,特别是本实验室分离出的苯胺黑药降

解菌 (*Bacillus vallismortis*) 吸附重金属方面的研究还远不够充分.因此,本文以提取自 *Bacillus vallismortis* 的 EPS 作为一种生物吸附剂,去除单一体系的 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} ,研究吸附过程中的影响因子,探讨吸附等温线和动力学模型,并采用 FTIR 进行分析.以期选矿废水中有机药剂和重金属的同时去除提供理论基础,并为制备一种同时去除选矿废水中有机药剂和重金属的生物制剂提供参考.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 供试菌株

苯胺黑药高效降解菌从广州市沥滘污水处理厂沉淀池回流污泥中选育,于 2014 年由实验室分离纯化获得,将这种细菌驯化后制成 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的菌悬液保存在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中备用.由图 1 可知,固定脱水处理较好地保持了苯胺黑药降解菌的形态,呈短棒状结构,平均粒径约为 649.7 nm ,长度约为 $1.67\text{ }\mu\text{m}$.经 16S rRNA 测序,确定该降解菌为死亡谷枯草芽孢杆菌 *Bacillus vallismortis* (宋卫锋等, 2012),对苯胺黑药有优异的降解性能.

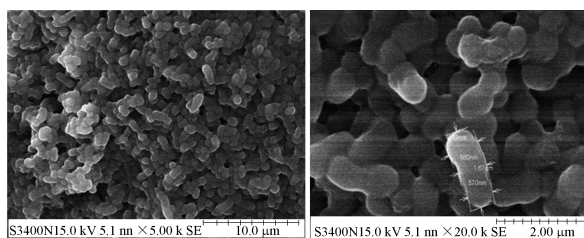


图 1 试验所用苯胺降解菌扫描电镜照片

Fig.1 SEM photos of *Bacillus vallismortis*, an aniline-degrading bacterium

2.2 培养基

无机盐培养基:1.6 g 磷酸二氢钾,0.4 g 磷酸氢二钾,0.06 g 硫酸镁,0.001 g 氯化钙,1.0 g 氯化铵溶,1 L 蒸馏水.

富集培养基:1.25 g 牛肉膏,2.5 g 蛋白胨,1.25 g 氯化钠,250 mL 蒸馏水.

2.3 胞外聚合物的提取与测定

胞外聚合物采用高速离心法 ($12000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 冷冻离心 15 min,2 次离心后再用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤) (D'Abzac *et al.*, 2010; Adav *et al.*, 2008)、热提法 ($80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 2 h, $16800\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,上清液用滤膜过滤) (Comte *et al.*, 2006)、超声波法 (40 kHz 、 50 W 进行超声处理) (D'Abzac *et al.*,

2010)3种方法提取,提取的EPS于-18℃下保存,备用。

EPS的化学成分比较复杂,但其中的多糖和蛋白质含量达到70%~80%,因此,上述EPS的提取量以多糖和蛋白质之和来表征。其中,多糖含量采用蒽酮比色法测定,蛋白质含量采用考马斯亮蓝G-250法测定(刘美等,2007),所有实验结果均为3次平行试验的平均值。

2.4 Cu²⁺、Zn²⁺吸附试验

取一定体积的金属离子浓度为10 mg·L⁻¹的硫酸盐(分析纯)溶液,按照EPS质量与金属离子质量比为2:1的比例,在Cu²⁺、Zn²⁺溶液中加入EPS;然后分别改变pH、温度、离子浓度和吸附时间,于150 r·min⁻¹下振荡3 h后放入经过预处理的透析袋中,在装有100 mL蒸馏水的烧杯中透析12 h,用火焰原子吸收分光光度计测量烧杯水溶液的Cu²⁺、Zn²⁺浓度。用相同体积的水代替EPS,其他条件不变,作为空白实验。

废水中Cu²⁺、Zn²⁺浓度采用火焰原子吸收分光光度计测定(日立22000型,检出限0.001 mg·L⁻¹,日本日立仪器有限公司),pH用PHS-3C型pH计测定。去除率和吸附量计算公式如下:

$$r = \frac{C_0V_0 - C_tV_t}{C_0V_0} \quad (1)$$

$$Q = \frac{C_0V_0 - C_tV_t}{m} \quad (2)$$

式中, r 为金属离子去除率; Q 为单位EPS吸附量(mg·mg⁻¹); C_0 为金属离子初始浓度(mg·L⁻¹); V_0 为吸附前溶液体积(mL); C_t 为某时刻金属离子浓度(mg·L⁻¹); V_t 为某时刻溶液体积(mL); m 为EPS质量(mg)。

2.5 吸附等温模型

EPS对Cu²⁺、Zn²⁺的吸附可以用吸附等温式表示,在30℃、pH=6.5±0.1、EPS质量与金属离子质量比为2:1的条件下,将EPS分别加入初始浓度为5、10、15、20、25、30、40 mg·L⁻¹的Cu²⁺、Zn²⁺溶液中,吸附平衡后分析金属离子浓度。通常情况下,吸附剂的吸附量取决于吸附金属离子的平衡浓度,常用的吸附等温方程为Freundlich吸附等温方程(3)和Langmuir吸附等温方程(4)。

$$Q_e = kC_e^{1/n} \quad (3)$$

$$Q_e = Q_m \frac{bC_e}{1 + bC_e} \quad (4)$$

式中, Q_e 为吸附平衡时单位EPS的吸附量(mg·mg⁻¹); Q_m 为单位EPS的最大吸附量(mg·mg⁻¹); k 、 n 、 b 为常数(一般认为0.1<1/ n <0.5时易于吸附,1/ n >2时则难以吸附);其余符号含义同前。

2.6 吸附热力学研究

为了描述EPS吸附Cu²⁺、Zn²⁺的热力学行为,选择20、30、40℃时测得的吸附量计算吸附热力学参数,Gibbs自由能变(ΔG)、焓变(ΔH)及熵变(ΔS)可通过方程(5)~(7)计算。

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (5)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (6)$$

$$K = \frac{Q_e}{C_e \times 1000} \quad (7)$$

式中, K 为平衡常数(L·g⁻¹); R 为摩尔气体常数(8.314 J·mol⁻¹·K⁻¹); T 为温度(K); C_e 为吸附平衡时金属离子浓度(mg·L⁻¹),其余符合含义同前。焓变 ΔH 、熵变 ΔS 可由 ΔG - T 线性图的斜率和截距求得。

2.7 红外光谱分析

取一定量95%乙醇于-18℃下保存2 h,将EPS原样或吸附了金属离子的EPS与冰乙醇按1:5的比例混合,继续放置在-18℃的条件下约12 h直至出现沉淀,取沉淀物进行冷冻干燥;然后将冻干的EPS原样或吸附了金属离子的EPS样品与KBr按照质量比为1:150混合,在玛瑙研钵中研磨,然后将适量的粉末放入压片机中,进行压片,制备样品,采用傅里叶变换红外光谱仪(Nicolet380,美国THERMO Fisher Scientific)在波数4000~400 cm⁻¹范围内对样品进行分析。

3 结果与讨论(Results and discussion)

3.1 三种提取方法的效果对比

按2.3节所述方法对*Bacillus vallismortis*进行EPS提取,3种提取方法的效果对比见图2。由图2可知,菌悬液浓度为20 g·L⁻¹时,热提法的提取效率最高,提取的EPS浓度为71.659 mg·L⁻¹,其中,多糖占86.4%,蛋白质占13.6%;离心法和超声波法提取的EPS浓度相对较低,分别为5.675 mg·L⁻¹和41.303 mg·L⁻¹,说明该降解菌比较适合热提法提取。因此,后续实验采用热提法提取EPS,将其稀释1倍后使用,浓度为35.83 mg·L⁻¹。

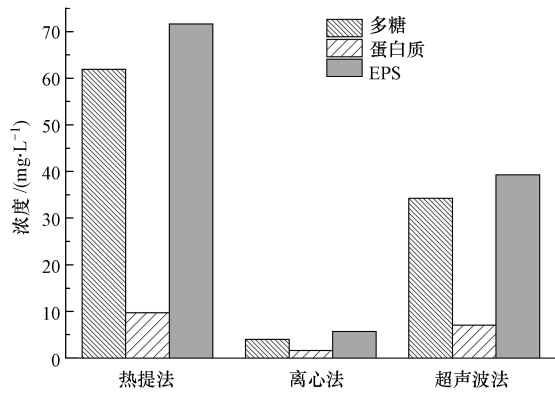


图2 三种不同的提取方法效果对比

Fig.2 Comparison of the extraction efficiency of EPS by three different methods

3.2 pH对EPS去除Cu²⁺、Zn²⁺的影响

pH是影响胞外聚合物吸附重金属的重要因素,对胞外聚合物表面的官能团(—COOH、—NH₂、=NH、—SH、—OH)活性有显著影响(Guibaud *et al.*, 2009).由图3可知,当pH=7时,EPS对Cu²⁺去除率达到最高值96%,吸附量为0.643 mg·mg⁻¹;当pH=8时,EPS对Zn²⁺的去除率达到最高值79.1%,吸附量为0.527 mg·mg⁻¹;当pH=3时,Cu²⁺和Zn²⁺的去除率最低,分别只有38%和20.9%,吸附量也分别只有0.251和0.139 mg·mg⁻¹.这是因为在低pH条件下,溶液中大量的H⁺与金属离子竞争EPS表面的吸附位点,EPS表面的排斥力增强,使金属离子难以和EPS表面的带电基团接触,不利于吸附的进行;当pH逐渐升高时,去除率随之升高,吸附量也随之增大.这是因为EPS表面去质子化且呈负电性,提供了更多的结合位点,Cu²⁺和Zn²⁺与EPS迅速接触,Cu²⁺和Zn²⁺去除率上升,吸附量也随之升

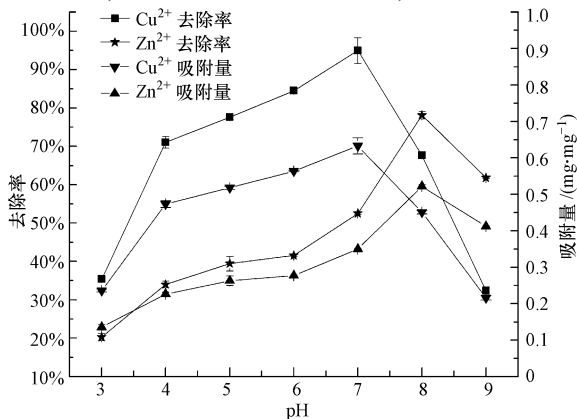


图3 pH对吸附去除重金属的影响

Fig.3 Effect of pH on heavy metals removal ration and adsorption by the EPS

高;当pH值过高时,去除率迅速降低,溶液呈碱性,OH⁻和金属离子结合生成沉淀析出(Comte *et al.*, 2006),此时金属离子的去除就不仅仅是EPS的吸附作用了;当pH=9时,EPS对Cu²⁺和Zn²⁺去除率分别降至31%和61.8%,吸附量也分别只有0.207和0.412 mg·mg⁻¹.上述结果说明,溶液pH会严重影响EPS对重金属离子的吸附,pH过高或过低,去除率都会明显下降,这与其他研究者用细菌EPS吸附重金属试验结果吻合(Pérez *et al.*, 2008; Bhaskar *et al.*, 2006).在后续试验中为了排除pH过高产生沉淀的干扰,选择最佳pH为6.5±0.1.

3.3 温度对EPS吸附Cu²⁺、Zn²⁺的影响

不同温度下EPS对Cu²⁺、Zn²⁺的去除率和吸附量如图4所示.由图4可知,随着温度的逐渐上升,溶液中粒子布朗运动加快,Cu²⁺、Zn²⁺与EPS接触的几率也随之升高,在试验范围内,EPS对Cu²⁺、Zn²⁺的去除率和吸附量逐渐升高.Cu²⁺去除率由20℃时的89.7%升高到40℃时的91.9%,吸附量也由0.5978 mg·mg⁻¹升高到0.6127 mg·mg⁻¹;Zn²⁺去除率由20℃时的45.8%升高到40℃时的51.8%,吸附量也由0.3053 mg·mg⁻¹升高到0.3453 mg·mg⁻¹.当温度继续升高至50℃,EPS对Cu²⁺、Zn²⁺的去除率和吸附量都开始下降,可能是因为EPS受到温度影响,其中的蛋白质组分由于温度升高活性下降.当温度升到60℃时,Cu²⁺的去除率和吸附量都略有升高,而Zn²⁺的去除率和吸附量都降至最低的42.6%和0.284 mg·mg⁻¹.整体过程中温度对EPS吸附金属离子的影响表现得不是很明显.

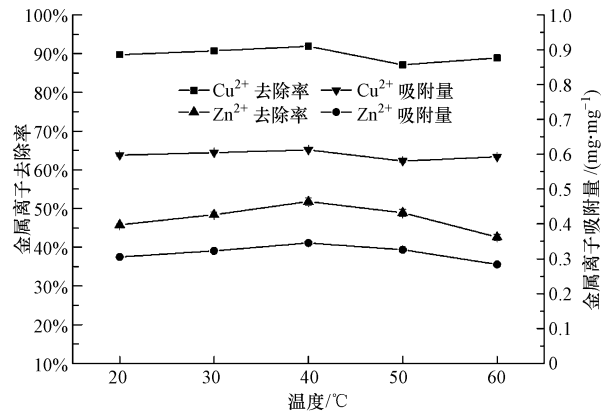


图4 温度对EPS吸附去除重金属的影响

Fig.4 Effect of temperature on heavy metals removal ration and adsorption by the EPS

3.4 吸附动力学研究

3.4.1 时间对吸附效率的影响 在pH=6.5±0.1、

温度为常温的条件下, Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 浓度和去除率随吸附时间的变化关系见图 5。由图 5 可知, 吸附时间也是影响 EPS 吸附 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的重要因素, 吸附属于动态的过程, 前 3 min 内, Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的去除率分别达到了 70.1%、28.6%; 随着时间的增加, 其去除率不断升高, 8 min 时 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的去除率分别达到最高的 90.7%、52.3%; 但随后去除率稍有下降, 30 min 后, 去除率逐渐回升并呈现出轻微波动; 80 min 后, EPS 对 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 吸附基本达到平衡状态, 表明 EPS 对 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的吸附是一个快速表面吸附过程, 对 Cu^{2+} 的吸附较 Zn^{2+} 更为明显。整个吸附过程都大致可以分为 3 个阶段: 快速吸附-慢速吸附-吸附平衡。在生

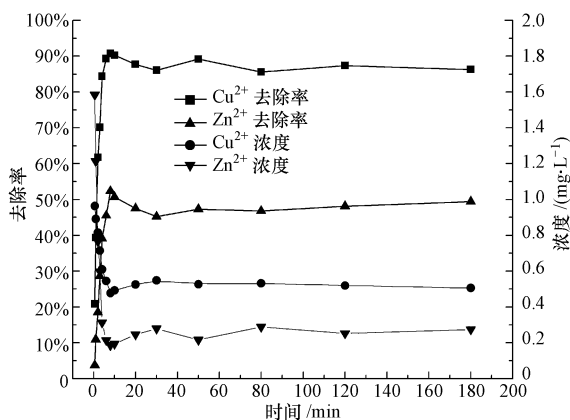


图 5 EPS 吸附金属离子的吸附平衡图

Fig.5 Adsorption equilibrium of Cu^{2+} and Zn^{2+} by the EPS

物体吸附重金属的研究中这 3 个阶段的吸附已经被广泛报道 (Sağ *et al.*, 1996; Sari *et al.*, 2009), 胞外聚合物同 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 吸附主要通过络合、螯合、离子交换等作用进行, 官能团通过这种方式同重金属结合不需要耗费大量的能量, 因此, 反应进行的很快, 均能很快能达到吸附平衡。

3.4.2 吸附动力学参数 为研究吸附过程的控速步骤和吸附机理, 分别采用拟一级动力学模型 (8) 和拟二级动力学模型 (9) 来拟合动力学数据。

$$\frac{1}{Q} = \frac{k_1}{Q_e t} + \frac{1}{Q_e} \quad (8)$$

$$\frac{t}{Q} = \frac{1}{k_2 Q_e^2} + \frac{t}{Q_e} \quad (9)$$

式中, k_1 为拟一级反应速率常数 (min^{-1}); t 为吸附时间 (min); k_2 为拟二级反应速率常数 ($\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$); 其余符号含义同前; k_1 和 Q_e 可以根据 $1/Q \sim 1/t$ 拟合曲线的斜率与截距得到; k_2 和 Q_e 可以根据 $t/Q \sim t$ 拟合曲线的斜率与截距得到。

由表 1 可知, EPS 吸附 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的拟一级反应模型的 R^2 分别为 0.9374 和 0.7942, 而采用拟二级反应模型能较好地拟合动力学数据, 吸附 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的 R^2 分别为 0.9897 和 0.9998。EPS 对 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 吸附大致分为 3 个阶段, 第一阶段为 0~8 min 的拟二级动力学吸附阶段, 第二阶段为 8~120 min 的波动吸附阶段, 第三阶段为 120 min 后的吸附平衡阶段。

表 1 EPS 吸附 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的动力学方程及可决系数

Table 1 Kinetic equations and correlation coefficients of adsorption of Cu^{2+} and Zn^{2+} on EPS

金属离子	动力学方程	反应方程式	k	R^2	$Q_e / (\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1})$
Cu^{2+}	拟一级动力学方程	$y = 0.276x + 1.8521$	0.149	0.9374	0.5390
	拟二级动力学方程	$y = 1.8027x + 0.3912$	8.308	0.9897	0.5547
Zn^{2+}	拟一级动力学方程	$y = 0.0794x + 1.9687$	0.0403	0.7492	0.5079
	拟二级动力学方程	$y = 1.9243x + 0.1896$	19.527	0.9998	0.5197

注: y 分别代表对应方程中的 $1/Q$ 、 t/Q ; x 分别代表 $1/t$ 、 t ; k 针对拟一级和拟二级动力学方程分别表示为 k_1 和 k_2 。

3.5 吸附热力学研究

3.5.1 金属离子初始浓度对吸附效率的影响 在 $\text{pH} = 6.5 \pm 0.1$ 、温度为常温条件下, 改变金属离子初始浓度后去除率和吸附量的变化情况见图 6。由图 6 可知, 随着初始金属离子浓度的增加吸附量也随之增大, 且 Cu^{2+} 比 Zn^{2+} 表现得更明显。

在决定吸附效率方面, 平衡吸附是很重要的。关于单一系统中 EPS 对 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的吸附数据常用 Freundlich 吸附等温方程和 Langmuir 吸附等温方程来拟合, 拟合曲线如图 7、8 所示。

Langmuir 模型主要用于研究最大单分子层吸附量, Freundlich 模型通常能较好地描述水溶液中的吸附 (熊芬等, 2009)。表 2 结果表明, EPS 对 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的吸附都能较好地用 Freundlich 和 Langmuir 等温吸附方程拟合。等温线的相关参数可通过回归方程计算, 其中, k 和 n 值与吸附剂的吸附量和吸附强度密切相关, k 值常用来表征吸附剂对金属离子的亲和力, 吸附 Cu^{2+} 的 k 值为 1.81, 说明 EPS 对 Cu^{2+} 表现出较强的亲和力, n 值都介于 1~10 之间, 说明 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 在 EPS 上的吸附是向着有利于吸附的方

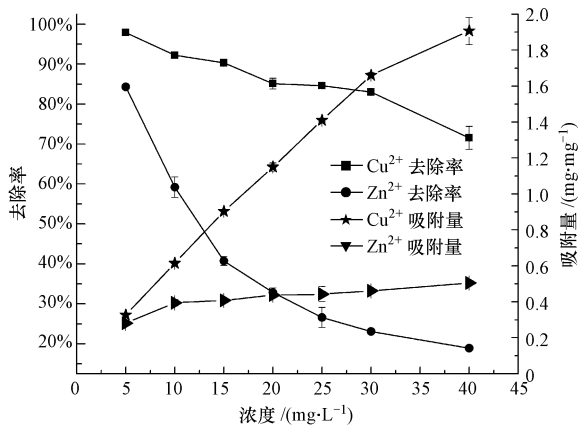


图6 金属离子浓度对 EPS 去除重金属效率和吸附量的影响

Fig.6 Effect of metal ion concentration on removal efficiency and adsorption capacity of heavy metals by the EPS

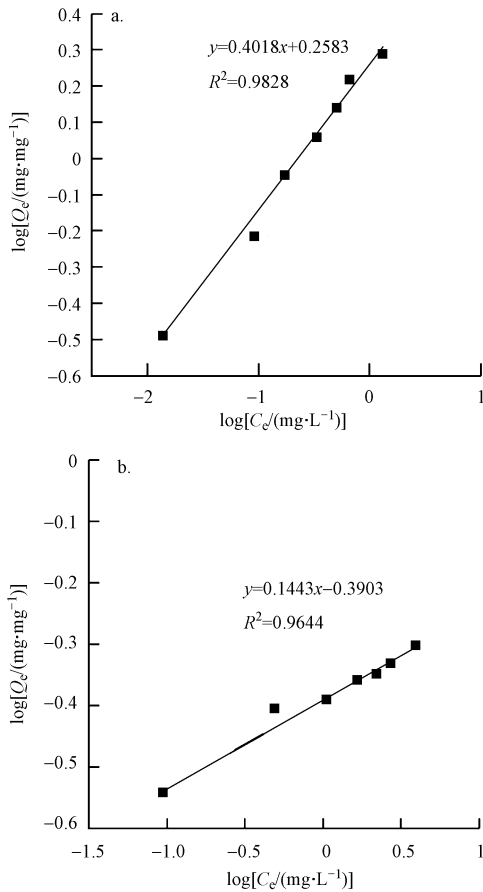


图7 Cu²⁺(a)和Zn²⁺(b)的 Freundlich 吸附模型拟合结果

Fig.7 Freundlich adsorption isotherm of Cu²⁺(a) and Zn²⁺(b)

向进行 (Mishra *et al.*, 2009), 对 Cu²⁺ 吸附的 R² 值分别为 0.982 和 0.976, 对 Zn²⁺ 吸附的 R² 值分别为 0.964 和 0.992, 这表明在本实验条件下, 吸附 Cu²⁺ 实验值用 Freundlich 方程拟合效果较好, 吸附 Zn²⁺ 实

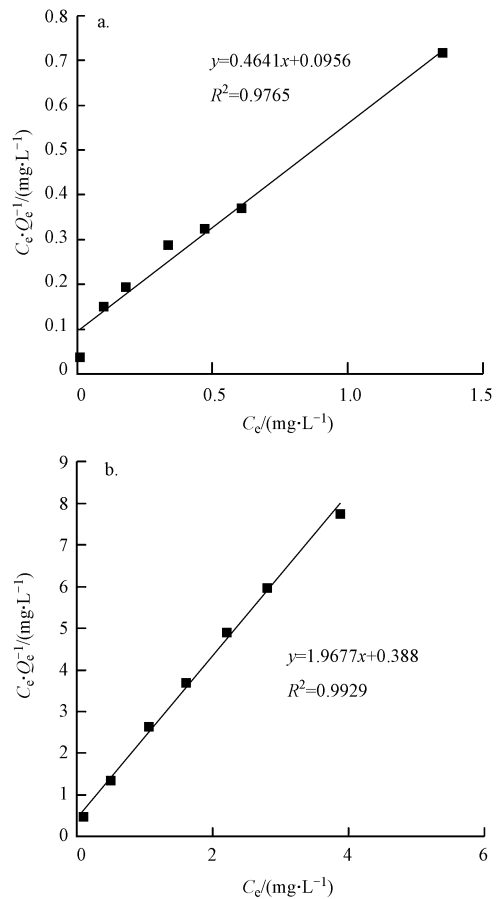


图8 Cu²⁺(a)和Zn²⁺(b)的 Langmuir 吸附模型拟合结果

Fig.8 Langmuir adsorption isotherm of Cu²⁺(a) and Zn²⁺(b)

验值用 Langmuir 方程拟合效果较好. 方程中的最大吸附量 Q_m 也反映了吸附剂的吸附能力、吸附剂与金属离子结合的稳定性、吸附受溶液金属离子浓度影响程度 (郑蕾等, 2008), 以 EPS 吸附金属离子为单分子层吸附时通过 Langmuir 方程计算得到 Cu²⁺、Zn²⁺ 最大单分子层吸附量分别为 2.155、0.508 mg·mg⁻¹.

表2 EPS 对 Cu²⁺和 Zn²⁺ 吸附的热力学方程拟合系数

Table 2 Fitting coefficient of the thermodynamic equation of adsorption of Cu²⁺ and Zn²⁺ on the EPS

金属离子	Freundlich 等温吸附方程			Langmuir 等温吸附方程		
	k	n	R ²	b	Q _m / (mg·mg ⁻¹)	R ²
Cu ²⁺	1.81	2.494	0.982	4.878	2.155	0.976
Zn ²⁺	0.41	6.944	0.964	5.076	0.508	0.992

3.5.2 吸附热力学参数 利用公式(6)作 ΔG 与 T 之间的曲线, 进行热力学参数求解, 结果见表 3. 由表 3 可知, 在不同温度 (293.15、303.15、313.15K) 条件

下,计算得到的 $\Delta G < 0$, 温度越高, ΔG 越低, 表明温度升高有利于吸附的进行; 在温度变化范围内 $\Delta H > 0$, 表明吸附是吸热过程; ΔS 为正值说明到达吸附平衡时体系自由度有所增加, 吸附质和吸附剂之间能量再分配, 吸附质和吸附剂的结构可能发生了改变 (Feng *et al.*, 2013; Guo *et al.*, 2014). 由热力学参数值推断, 苯胺黑药高效降解菌 EPS 吸附 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的反应是一个自发过程, 且属于吸热反应. ΔG 随温度变化的幅度非常一致, 变化趋势与其他研究结果类似 (Guo, 2015). 然而, 表中各参数的绝对值均比上述文献高, 文献中 308 K 下不同初始 Cu^{2+} 浓度 (80~120 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 吸附过程的 ΔG 为 $-8.46 \sim -9.38 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, ΔH 为 $13.86 \sim 46.2 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, ΔS 为 $0.074 \sim 0.186 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$, 这可能是由于菌种和初始金属离子浓度不同所致.

表 3 吸附热力学参数

Table 3 Thermodynamics parameters of biosorption of heavy metals on the EPS

温度/K	$\Delta G/$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)		$\Delta H/$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)		$\Delta S/$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)	
	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Cu^{2+}	Zn^{2+}
293.15	-18.99	-14.99				
303.15	-19.92	-15.77	101.7	111.8	10.08	12.1
313.15	-20.97	-16.64				

3.6 吸附金属离子前后 EPS 红外光谱分析

为明确胞外聚合物中对重金属离子起吸附作用的活性基团, 对吸附重金属离子前后的 EPS 进行红外光谱 ($400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$) 分析, 结果如表 4、图 9 所示. 图 9 曲线 a 中存在着一些蛋白质和多聚糖基团对应的强频段, 它们的谱峰都特别明显. 有一些强度较弱的基团表明存在着以酸性或碱性盐存在的

表 4 FTIR 观察到的 EPS 的主要基团

Table 4 Main functional groups of EPS observed in FTIR spectra		
波数/ cm^{-1}	振动类型	基团类型
3404	OH 伸缩振动	—OH、氨基
2931.14	CH_2 不对称收缩振动	
1642.35	C=O 和 C—N 伸缩振动	酰胺 I (蛋白质肽键)
1552.17	C=O 伸缩振动	酰胺 II (蛋白质肽键) 羧基
1383.36	C—N 伸缩振动、C—N 弯曲振动	酰胺 III (蛋白质肽键) 羧基
1222.44	C=O 弯曲振动、OH 伸缩振动	羧酸、酚
1064.80	C—O—C 伸缩振动	多聚糖
<1000	指纹区	含硫、磷基团

羧酸, 而 EPS 中一些含量很低的组分, 如脂类和核酸, 在红外光谱分析中一般很难检测到, 在指纹区的一些频段表明核酸组成基团之一的磷酸盐的存在.

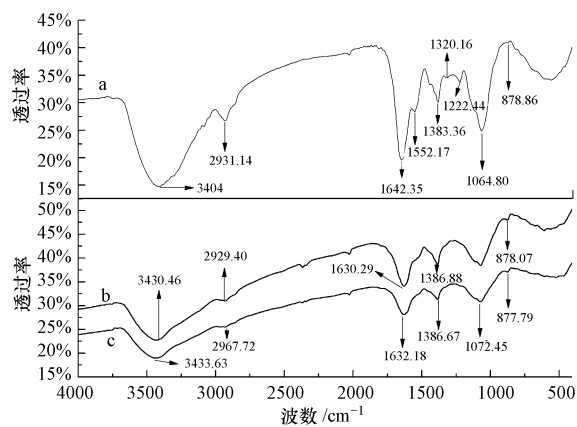
图 9 EPS 原样和吸附 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 后 EPS 的红外光谱图 (a. EPS, b. EPS-Zn, c. EPS-Cu)Fig.9 Fourier-transformed infrared (FTIR) spectra of unloaded EPS (a), Cu^{2+} -loaded EPS (b) and Zn^{2+} -loaded EPS (c)

表 4 列出了红外光谱分析中观察到的 EPS 主要基团, 从表 4 和图 9 可以看出, 吸附金属离子后, 一些官能团的峰发生了漂移或者消失, 3404 cm^{-1} 处的 —OH、氨基发生了漂移, 可以推断 O—H 键和 N—H 键参与了金属离子吸附; 1552.17 cm^{-1} 处的酰胺 II 的 C=O 伸缩振动谱消失, 说明参与了对金属离子的吸附; 1222.44 cm^{-1} 处的 C=O 弯曲振动、—OH 伸缩振动消失, 这是典型的羧基阴离子基团通过与金属阳离子共价键络合造成的. 通常这种情况下, 大多数羧基阴离子已经结合、络合或螯合了金属离子 (吴谨光, 1994). 1642.35 cm^{-1} 处的酰胺 I 的 C=O 和 C—N 伸缩振动漂移, 1383.36 cm^{-1} 处的酰胺 III 的 C—N 伸缩振动、C—N 弯曲振动发生漂移, 说明酰胺中的 O 和 N 原子对 EPS 吸附重金属离子贡献很大; 1064.80 cm^{-1} 处表征多聚糖的 C—O—C 伸缩振动的谱峰也发生漂移, 所有的这些变化表明金属离子和 EPS 表面的带电基团发生了化学反应, 这与其他研究者的结果类似 (Yahya *et al.*, 2012). EPS 吸附 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 起主要作用的官能团是羟基、氨基、酰胺基团、羧基和 C—O—C 基团.

图 9 中 EPS 吸附 Cu^{2+} 和吸附 Zn^{2+} 后的谱图相似, 表明 EPS 对两者的吸附机理类似, EPS 中参与吸附 Cu^{2+} 的官能团也都参与了 Zn^{2+} 的吸附.

4 结论(Conclusions)

1) 相对于离心法和超声波法, 苯胺黑药高效降解菌 *Bacillus vallismortis* 的胞外聚合物用热提法提取效果最佳, 当菌悬液浓度为 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 提取出的胞外聚合物浓度是 $71.659 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中, 葡萄糖占 86.4%, 蛋白质占 13.6%。

2) EPS 对 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的吸附性能良好, 当 $\text{pH} < 7$ 时, 随着 pH 变大去除率和吸附量都逐渐升高。

3) 本实验中温度对 EPS 吸附金属离子的影响不明显, 在 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 时 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的去除率和吸附量都达到最大的 91.9%、51.8% 和 0.6127 、 $0.3453 \text{ mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

4) EPS 对 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的吸附都属于表面快速吸附, 分为快速-慢速-平衡 3 个阶段, 最佳吸附时间都在 8 min 左右, 此时 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的去除率已经达到了最高的 90.7%、52.3%。

5) 吸附 Cu^{2+} 的过程中 Freundlich 方程拟合效果较好, 吸附 Zn^{2+} 的过程中 Langmuir 方程拟合效果较好, EPS 对 Cu^{2+} 的吸附能力、吸附稳定性和亲和力都要大于 Zn^{2+} , 由 Langmuir 方程计算的 Cu^{2+} 的最大吸附量为 $2.155 \text{ mg} \cdot \text{mg}^{-1}$, Zn^{2+} 最大吸附量为 $0.508 \text{ mg} \cdot \text{mg}^{-1}$, 吸附 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的反应属自发进行的反应, 且是吸热反应。

6) EPS 对 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的吸附机理类似, 主要起作用的官能团是羟基、氨基、酰胺基团、羧基和 C—O—C 基团。

参考文献(References):

Abdolali A, Ngo H H, Guo W S, *et al.* 2015. Characterization of a multi-metalbinding biosorbent: chemical modification and desorption studies[J]. *Bioresource Technology*, 193: 477-487

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

Bhaskar P V, Bhosle N B. 2006. Bacterial extracellular polymeric substance (EPS): a carrier of heavy metals in the marine food-chain[J]. *Environment International*, 32(2): 191-198

Comte S, Guibaud G, Baudu M. 2006. Relations between extraction protocols for activated sludge extracellular polymeric substances (EPS) and EPS complexation properties: Part I. Comparison of the efficiency of eight EPS extraction methods[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(1/2): 237-245

D'Abzac P, Bordas F, VanHullebusch E, *et al.* 2010. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from anaerobic granular sludges: comparison of chemical and physical extraction protocols [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(5): 1589-1599

De Luna M D G, Flores E D, Cenia M C B, *et al.* 2015. Removal of copper ions from aqueous solution by adlai shell (*Coix lacryma-jobi* L.) adsorbents[J]. *Bioresource Technology*, 192: 841-844

Feng J, Yang Z H, Zeng G M, *et al.* 2013. The adsorption behavior and mechanism investigation of Pb(II) removal by flocculation using microbial flocculant GA1[J]. *Bioresource Technology*, 148: 414-421

Guibaud G, vanHullebusch E, Bordas F, *et al.* 2009. Sorption of Cd(II) and Pb(II) by exopolymeric substances (EPS) extracted from activated sludges and pure bacterial strains: modeling of the metal/ligand ratio effect and role of the mineral fraction[J]. *Bioresource Technology*, 100(12): 2959-2968

Guo J Y, Yu J. 2014. Sorption characteristics and mechanisms of Pb(II) from aqueous solution by using bioflocculant MBFR10543 [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(12): 6431-6441

Guo J Y. 2015. Characteristics and mechanisms of Cu(II) sorption from aqueous solution by using bioflocculant MBFR10543 [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(1): 229-240

Gupta V K, Rastogi A. 2008. Equilibrium and kinetic modelling of cadmium(II) biosorption by nonliving algal biomass *Oedogonium* sp. from aqueous phase[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 53(1/2): 759-766

Gwenzi W, Musarurwa T, Nyamugafata P, *et al.* 2014. Adsorption of Zn^{2+} and Ni^{2+} in a binary aqueous solution by biosorbents derived from sawdust and water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) [J]. *Water Science & Technology*, 70(8): 1419-1427

Hadi P, Barford J, McKay G. 2013. Toxic heavy metal capture using a novel electronic waste-based material-mechanism, modeling and comparison [J]. *Environmental Science & Technology*, 47(15): 8248-8255

胡学伟, 李姝, 荣焱, 等. 2014. 不同 EPS 组成生物膜对 Cu^{2+} 吸附的研究[J]. *中国环境科学*, 34(7): 1749-1753

Kazempour M, Ansari M, Tajrobehkar S, *et al.* 2008. Removal of lead, cadmium, zinc, and copper from industrial wastewater by carbon developed from walnut, hazelnut, almond, pistachioshell, and apricot stone[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 150(2): 322-327

Levankumar L, Muthukumar V, Gobinath M B. 2009. Batch adsorption and kinetics of chromium (VI) removal from aqueous solutions by *Ocimum americanum* L. seed pods [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2/3): 709-713

刘美, 王湛. 2007. 胞外聚合物对膜污染的影响[J]. *水处理技术*, 33(10): 7-13

Liu Y, Lam M C, Fang H H P. 2001. Adsorption of heavy metals by EPS of activated sludge [J]. *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 43(6): 59-66

Lodeiro P, Barriada J L, Herrero R, *et al.* 2006. The marine macroalga *Cystoseira baccata* as biosorbent for cadmium (II) and lead (II) removal: kinetic and equilibrium studies [J]. *Environmental Pollution*, 142(2): 264-273

Mishra P C, Patel P K. 2009. Removal of lead and zinc ions from water by low cost adsorbents [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 168(1): 319-325

- Moon S H, Park C S, Kim Y J, *et al.* 2006. Biosorption isotherms of Pb (II) and Zn (II) on Pestan, an extracellular polysaccharide, of *Pestalotiopsis* sp. KCTC8637P [J]. *Process Biochemistry*, 41 (2): 312-316
- Pérez J A M, Garcia-Ribera R, Quesada T, *et al.* 2008. Biosorption of heavy metals by the exopolysaccharide produced by *Paenibacillus jamilae* [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24: 2699-2704
- Sağ Y, Kutsal T. 1996. The selective biosorption of Chromium (VI) and Copper (II) ions from binary metal mixtures by *R. arrhizus* [J]. *Process Biochemistry*, 31 (6): 561-572
- Sarı A, Tuzen M. 2009. Kinetic and equilibrium studies of biosorption of Pb (II) and Cd (II) from aqueous solution by macrofungus (*Amanita rubescens*) biomass [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 164 (2/3): 1004-1011
- Shiple H J, Engates K E, Grover V A. 2013. Removal of Pb(II), Cd(II), Cu(II), and Zn(II) by hematite nanoparticles: effect of sorbent concentration, pH, temperature, and exhaustion [J]. *Environmentsl Science and Pollution Research*, 20 (3): 1727-1736
- 宋卫锋, 邓琪. 2012. 一株苯胺黑药降解菌的分离鉴定及其降解特性 [J]. *中国矿业大学学报*, 41 (6): 1018-1023
- 吴谨光. 1994. 近代傅利叶变换红外光谱技术及应用 (下卷) [M]. 北京: 科学技术文献出版社
- 熊芬, 胡勇有, 银玉容. 2009. 烟曲霉胞外聚合物对 Pb²⁺ 的吸附特性 [J]. *环境科学学报*, 29 (11): 2289-2294
- Yahya S K, Zakaria Z A, Samin J, *et al.* 2012. Isotherm kinetics of Cr (III) removal by non-viable cells of *Acinetobacter haemolyticus* [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 94: 362-368
- 杨敏, 胡学伟, 宁平, 等. 2011. 废水生物处理中胞外聚合物 (EPS) 的研究进展 [J]. *工业水处理*, 31 (7): 7-12
- Zhang Y, Fang X L, Ye Z L, *et al.* 2008. Biosorption of Cu (II) on extracellular polymers from *Bacillus* sp. F19 [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 20 (11): 1288-1293
- 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 Cd²⁺、Zn²⁺ 特征 [J]. *环境科学*, 29 (10): 2850-2855