

生物膜及其各种组分对 4-氯酚化化合物的吸附特征

王文军^{1,2}, 王文华³, 张学林¹, 王东红², (1. 中国科学院长春地理研究所 长春 130021; 2. 中国科学院生态环境研究中心环境水化学国家重点实验室, 北京 100085; 3. 上海交通大学, 上海 200240)

摘要:对 4-氯酚化合物在生物膜不同组分上的吸附行为的实验中,生物膜不同组分包括生长有生物膜外壳的模拟水体悬浮颗粒物(高岭土)、细菌细胞、胞外多糖、高岭土及有胞外多糖存在时的高岭土。在所设计的这 5 种吸附体系中,前 4 种吸附较符合 Langmuir 和 Freundlich 等温吸附方式。在室温 25℃,pH 值为 6.1 的吸附条件下,细菌细胞和胞外多糖作为生物吸附物质,对 4-氯酚的吸附明显地大于高岭土;高岭土外的生物膜外壳影响对 4-氯酚的吸附,生长有生物膜外壳的高岭土对 4-氯酚的吸附量高于单独高岭土体系。

关键词:生物膜;细菌;颗粒物;胞外多糖;4-氯酚;吸附;等温线

中图分类号:X173 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2001)02-06-0019

Adsorption of p-Chlorophenol by Biofilm and Its Components

Wang Wenjun^{1,2}, Wang Wenhua³, Zhang Xuelin¹, Wang Donghong²(1. Changchun Institute of Geography, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130021, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Centre for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 3. Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: The p-chlorophenol (4-cp) adsorption to biofilm components was investigated by the experiment. Biofilm components included modeling water particulate (kaolin) with biofilm coating, bacterial cell, exopolysaccharide, kaolin and kaolin with exopolysaccharide. The adsorption of 4-cp in these systems could be described by Langmuir and Freundlich isotherm equations except the system of kaolin with exopolysaccharide. Under the condition of 25℃ and pH of 6.1 in these reaction systems, bacterial cell and EPS adsorbed more 4-cp than kaolin. The biofilm coating of kaolin affected its adsorption to 4-cp. Kaolin with biofilm coating adsorbed more 4-cp than that without biofilm coating.

Key words: biofilm; bacteria; particulate; exopolysaccharide; 4-cp; adsorption; isotherm

水环境中矿物颗粒物的绝大部分表面被由腐植酸和生物膜等物质构成的有机外壳覆盖着^[1],生物膜外壳能够影响污染物的吸附、解吸和分解。生物膜由细菌细胞和胞外聚合物组成^[2~5]。多糖、蛋白质是胞外聚合物的主要组分。在一些生物膜中多糖组分可高达胞外物质总量的 65%^[5]。这些组分决定了生物膜的吸附能力。生物膜与污染物的相互作用已被广泛用于废水治理^[6],但对天然水体中生物膜与有机污染物作用的机制尚不清楚^[7]。

本实验选用长江(武汉段)水体中悬浮颗粒物上的优势菌种——栖冷克立沃氏菌 *Kluyvera cryocrescens*, 提取到此菌种产生的胞外多糖

EPS(exopolysaccharide);用高岭土模拟水体中悬浮颗粒物,选取 4-氯酚作为模型化合物,分别对生长有此种细菌生物膜外壳的模拟水体悬浮颗粒物、细菌细胞、胞外多糖、模拟悬浮颗粒物及有胞外多糖存在时模拟悬浮颗粒物等 5 种模拟体系与 4-氯酚化化合物的吸附行为进行实验研究。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(29777027);中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室开放基金资助;中国科学院长春地理研究所湿地过程与环境实验室开放基金资助。

作者简介:王文军(1969~),女,博士生,主要研究方向为水环境中生物膜对污染物环境化学行为的影响。

收稿日期:2000-07-07

1 实验部分

1.1 试剂和材料

4-氯酚(化学纯);高岭土(化学纯),使用前在 105 °C 烘箱内烘 24h,并高温高压灭菌(121 ~ 125 °C, 30 min);甲醇(色谱纯);高纯水(自制);细菌培养所用试剂及其它试剂均为分析纯.透析袋,透析值分子量(MWCO)为 12 000 ~ 14 000;微滤膜(0.45 μm).

1.2 菌种及培养基

实验选用的菌种为长江(武汉段)水体中悬浮颗粒物表面的优势菌种,经鉴定此菌种名称为 *Kluvera cryocrescens*. 所用培养基为: $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 2g · L⁻¹, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 1g · L⁻¹, NH_4Cl 1g · L⁻¹, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g · L⁻¹, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.001g · L⁻¹, $C_6H_{12}O_6$ 10g · L⁻¹. 121 °C ~ 125 °C 灭菌 20 min.

1.3 细菌胞外多糖(EPS)提取

在培养基中培养 2d ~ 3d(28 °C ~ 30 °C)后,离心收集细菌细胞,并用去离子水洗涤 3 次,4 °C 冰箱内保存待用.用高速冷冻离心机(Beckman J2-HS, U.S.)在 2 °C, 17 × 1000r/min 条件下离心 30 min,低温剥离得到细菌细胞的胞外多糖^[8].使用前用透析袋(MWCO 12 000 ~ 14 000)在去离子水中透析胞外多糖,进行纯化后待用.

1.4 生长有细菌生物膜外壳的模拟水体悬浮颗粒物的制备^[9~12]

在培养基中接种 *Kluvera cryocrescens* 菌的同时,立即加入一定量灭菌后的高岭土,28 °C ~ 30 °C 条件下培养一定时期后,弃去细菌悬浊液,离心获得生长有细菌生物膜外壳的悬浮颗粒物.并用灭菌后去离子水洗涤 3 次,去掉松散附着的细菌.

1.5 吸附实验

生长有细菌生物膜外壳的悬浮颗粒物对 4-氯酚的吸附^[9~11]:收集到培养后的此种颗粒物,称取一定量后加入已知浓度的 4-氯酚化合物溶液,室温(25 °C)下振摇平衡 3h 后过夜,用 0.45 μm 微滤膜过滤,滤液待测.

细菌细胞对 4-氯酚的吸附^[9,13,14]:收集培养 2d ~ 3d 后的细菌细胞,称取一定量的细胞加入已知浓度的 4-氯酚化合物溶液,此体系中含有 0.1 mol/L $NaNO_3$,其它操作方法与上面的实验相同.

胞外多糖对 4-氯酚的吸附^[9,15]:取一定量已透析过的待用 EPS 溶液,置于透析袋内,封口,加入到已知浓度的 4-氯酚化合物溶液中,其它操作方法同上.

悬浮颗粒物对 4-氯酚的吸附^[10,16]:称一定量灭菌后的高岭土加入已知浓度的 4-氯酚化合物溶液,其它操作方法同上.

胞外多糖存在时悬浮颗粒物对 4-氯酚的吸附^[10]:取一定量的胞外多糖溶液,并称取一定量灭菌后的高岭土,加入已知浓度的 4-氯酚化合物溶液,其它操作方法同上.

以上所有反应体系中溶液的 pH 值调为 6.1(pH 值条件实验除外).在进行吸附实验的同时做空白试验,以消除 4-氯酚的挥发、玻璃仪器的吸附等对实验结果的影响.

1.6 4-氯酚化合物的测定方法

样品中 4-氯酚化合物浓度采用高效液相色谱仪(HPLC, LC-10A, Shimadzu)检测,以峰面积定量.测定条件:SPD-MXA 紫外检测器,柱温 40 °C,流动相为甲醇:水 = 1:1,流速 1.0 ml · min⁻¹.

2 结果与讨论

在天然水环境中,组分的转移和富集中涉及到的吸附现象可以用吸附平衡特征解释^[12].溶解组分疏水性越强,越容易接触到固体表面上.对于以浓度计算的平衡吸附,已经提出了许多吸附等温线方程^[12,16].最常用的方程为 Langmuir 和 Freundlich 方程,每个方程包含 2 个参数.Langmuir 方程式: $c/c_s = 1/(KB + c/B)$, 式中 c 为吸附质的平衡浓度, c_s 为吸附量, B 为最大吸附量, K 为系数.Freundlich 方程式: $c_s = K_f c^{1/n}$, 式中 c 为吸附质的平衡浓度, c_s 为吸附量, K_f 和 $1/n$ 为待定系数.将所得实验数据代入上述等温吸附方程式,分别计算了 4-氯

酚化合物的吸附常数和相关系数,比较了 5 种吸附反应体系中对 4-氯酚化合物的吸附特征. 结果列于表 1 中.

表 1 2 种等温式计算的吸附常数及相关系数

Table 1 Adsorption constants and relationship coefficients computed by Langmuir and Freundlich isotherm equations

| 吸附体系 | Langmuir 等温式 | | | Freundlich 等温式 | | |
|-----------------------|--------------|---------|--------|----------------|--------|--------|
| | 1/KB | 1/B | r | K _f | 1/n | r |
| 生长有细菌生物膜外壳的高岭土 + 4-cp | 2.0045 | 0.1512 | 0.7957 | 0.4730 | 0.7460 | 0.8352 |
| 细菌细胞 + 4-cp | 0.1072 | 0.01383 | 0.8549 | 16 | 0.3401 | 0.6135 |
| 细菌胞外多糖 + 4-cp | 4.4661 | 1.4297 | 0.8485 | 0.3018 | 0.2239 | 0.8051 |
| 高岭土 + 4-cp | 6.4574 | 0.5359 | 0.9434 | 0.2684 | 0.4776 | 0.9242 |
| 胞外多糖/高岭土 + 4-cp | 9.3145 | 0.2756 | 0.4120 | 0.0567 | 1.2565 | 0.4796 |

的高岭土对 4-氯酚化合物的吸附更符合 Freundlich 等温吸附方程,相关系数 $r = 0.8352$,大于此吸附体系的 Langmuir 等温吸附方程 $r = 0.7957$. 图 2 为生长有细菌生物膜外壳的高岭土对 4-氯酚化合物的吸附百分率. 在 4-氯酚原始浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,生长有细菌生物膜外壳的高岭土对 4-氯酚的吸附高达 51%. 随着 4-氯酚浓度升高,对 4-氯酚吸附平缓降低至 25%. 单一高岭土对 4-氯酚的最高吸附仅为 33% (4-cp 为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时).

2.1 高岭土对 4-氯酚化合物的吸附

由表 1、图 1 可见,生长有细菌生物膜外壳

分配系数与吸附质的有机物含量相关,所以疏水性污染物的吸附可能增加.

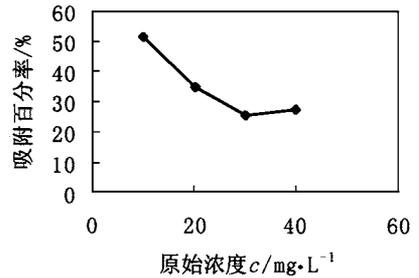


图 2 生长有细菌生物膜外壳的高岭土对 4-氯酚化合物的吸附百分率

Fig. 2 Adsorbing 4-cp percentage of Kaolin with biofilm coating

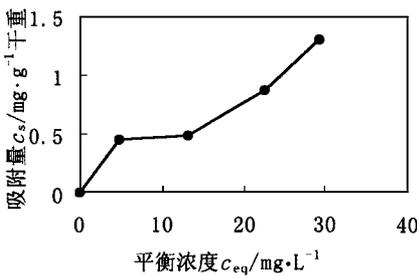


图 1 4-氯酚化合物在生长有细菌生物膜外壳的高岭土上的吸附等温线

Fig. 1 Adsorption isotherm of 4-cp on Kaolin with biofilm coating

细菌及其分泌的胞外多糖在悬浮颗粒物上形成的疏水性的有机物外壳可以提高对污染物的吸附^[10]. 颗粒物上的这种外壳能够有效地提高有机碳含量,由于非离子性的有机化合物的

2.2 细菌细胞对 4-氯酚化合物的吸附

由表 1、图 3 可见,细菌细胞对 4-氯酚化合物的吸附较符合 Langmuir 等温吸附方程,相关系数 $r = 0.8549$,而 Freundlich 等温吸附方式的相关系数 $r = 0.6135$. 由图 4 可见,细菌细胞对 4-氯酚化合物的吸附百分率很高,在原始浓度为 $22.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,吸附百分率高达 81%. 本研究的 5 种吸附体系中,细菌细胞对 4-氯酚的吸附百分率最高.

细菌在水环境系统中普遍存在,细菌细胞壁的吸附可能影响 4-氯酚化合物在许多天然水环境中的归宿,但目前对这种相互作用了解

不多^[13]. *Kluvera cryocrescens* 菌表面可能存在羰基、磷酸基、羟基官能团. 由于细菌表面官能团的去质子化作用, 其表面形成了一种负电性的势能, 这种势能影响表面的疏水性, 并且它影响表面电性和溶液中其它带电的化合物之间的相互作用^[17].

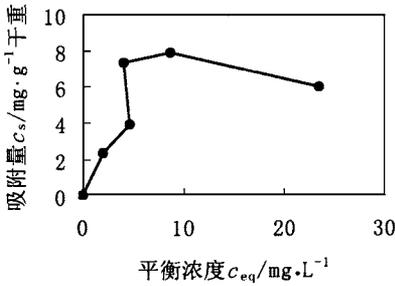


图 3 4-氯酚化合物在细菌细胞上的吸附等温线

Fig.3 Adsorption isotherm of 4-cp on Kaolin with bacterial cell

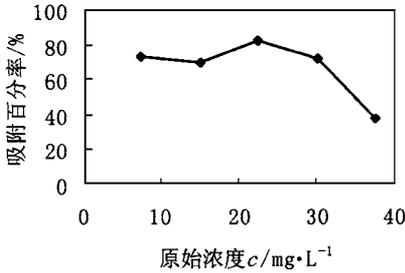


图 4 细菌细胞对 4-氯酚化合物的吸附百分率

Fig.4 Adsorbing 4-cp percentage of bacterial cell

2.3 细菌胞外多糖(EPS)对 4-氯酚的吸附

研究表明许多来自微生物生物聚合物能够强烈地结合金属^[15], 吸附非金属^[10,18]. 一些研究建议应用生物吸附离子及有机物, 如用细菌胞外多糖对无机离子和有机物进行吸收.

在天然水环境中, 细菌胞外聚合物对于细菌附着到表面起着重要作用^[10,15]. 胞外聚合物抗生物降解并且是在天然水环境中溶解性有机物质的普遍组成成分. 细菌胞外聚合物是生物膜发育形成的基质, EPS 是胞外聚合物的主要构成组分. 本实验所用 EPS 的中性己糖含量为 $5.88 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 蛋白质含量为 $1.39 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

以达到吸附平衡时溶液中 4-氯酚的浓度 C_{eq} 为 X 轴, 4-氯酚在 EPS 上的吸附量 C_s 为 Y 轴作图, 得到 4-氯酚在 EPS 上的吸附等温线 (见图 5). 由表 1 可知, EPS 对 4-氯酚化合物的吸附较符合 Langmuir 等温吸附方程, Langmuir 等温线的相关系数 $r = 0.8485$ 稍大于 Freundlich 等温线的相关系数 $r = 0.8051$. 吸附等温线代表了 4-氯酚化合物浓度在水、胶体 (EPS) 2 相之间的平衡分配. 体系反应开始后由于结合位尚未饱和, 随着起始 4-氯酚化合物浓度提高, 吸附增加. 因此, 这些结果表明 *Kluvera cryocrescens* 菌 EPS 对 4-氯酚化合物的富集是一种化学的平衡和饱和的机制. 在 EPS 的化学组成中, 除普遍含有大量羟基外, 还含有大量糖醛酸, 即羰基官能团以及其它官能团, 如硫酸酯、丙酮酸酯以及多糖易变的网状构造^[15], 都对多糖与 4-氯酚化合物的结合起作用.

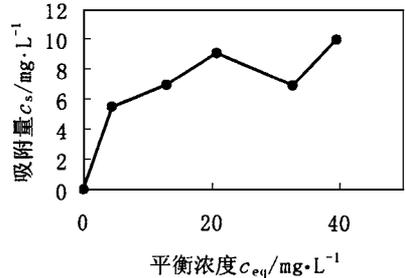


图 5 4-氯酚化合物在 EPS 上的吸附等温线

Fig.5 Adsorption isotherm of 4-cp on EPS

图 6 为 EPS 对溶液中 4-氯酚化合物的吸附百分率, 由图 6 可以看出, 4-氯酚浓度为 $9.87 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, EPS 对 4-氯酚的吸附百分率很高, 达到起始浓度的 55%. 对溶液中较高的 4-氯酚浓度, EPS 对 4-氯酚吸附显著地降低, 近 $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时可低至 17%.

2.4 高岭土对 4-氯酚化合物的吸附

图 7 为不同浓度 4-氯酚化合物在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 、pH6.1 条件下在高岭土上的等温吸附曲线. 4-氯酚在高岭土上的吸附符合 Langmuir 及 Freundlich 等温吸附方程, 由表 1 可知, 其相关系数分别为 $r_L = 0.9434$, $r_F = 0.9242$.

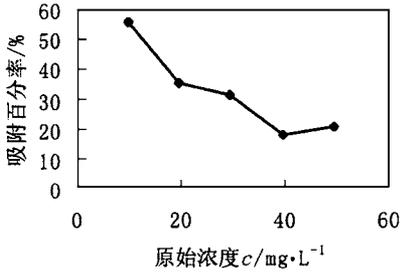


图 6 EPS 对 4-氯酚化合物的吸附百分率

Fig. 6 Adsorbing 4-cp percentage of EPS

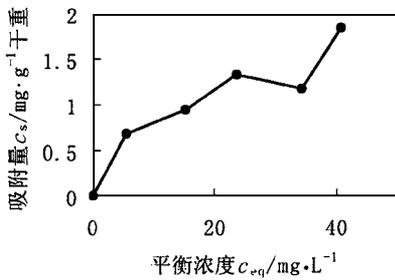


图 7 4-氯酚化合物在高岭土上的吸附等温线

Fig. 7 Adsorption isotherm of 4-cp on Kaoling

由图 8 可以看出,当 4-氯酚的原始浓度为 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,吸附百分率很高,达到原始浓度的 33%。随着 4-氯酚浓度的增加,观察到高岭土对 4-氯酚的吸附百分率平稳降低,可低至 14%。

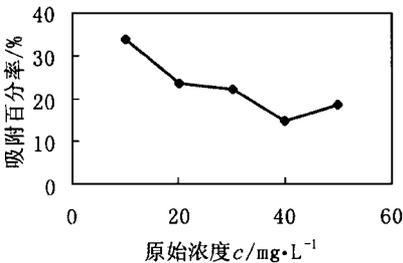


图 8 高岭土对 4-氯酚化合物的吸附百分率

Fig. 8 Adsorbing 4-cp percentage of Kaoling

2.5 胞外多糖存在时高岭土对 4-氯酚化合物的吸附

由表 1、图 9 可知,在有 EPS 存在时,高岭

土/ EPS 体系对 4-氯酚的吸附既不符合 Langmuir 也不符合 Freundlich 等温吸附方式,数据没表现出任何系统的变化趋势,由于 EPS 作为一种可溶性的有机物质,即对高岭土产生吸附,又会吸附 4-氯酚,可能是导致这种数据分散的原因。此时,高岭土/ EPS 体系对 4-氯酚的吸附百分率也不同于单独的 EPS 或高岭土体系(图 10)。当 4-氯酚的原始浓度为 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,吸附百分率较高,达到原始浓度的 31%。4-氯酚原始浓度增加到 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,吸附百分率降为 11%。但当 4-氯酚浓度继续增加到 $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,吸附百分率再次增加到 31%,4-氯酚浓度为 $40.50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,吸附百分率提高到 58%~61%。

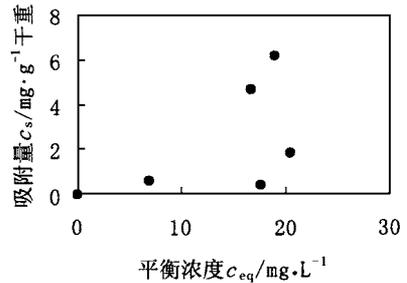


图 9 EPS 存在时 4-氯酚化合物在高岭土上的吸附等温线

Fig. 9 Adsorption isotherm of 4-cp on Kaolin/ ESP

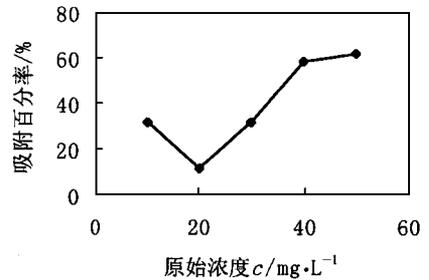


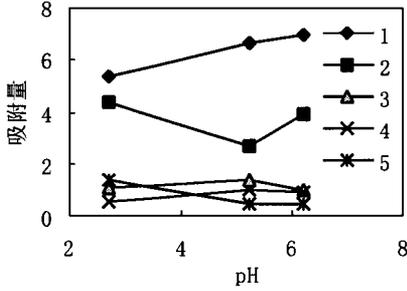
图 10 EPS 存在时高岭土对 4-氯酚化合物的吸附百分率

Fig. 10 Adsorbing 4-cp percentage of Kaoling/ ESP

2.6 pH 值对 5 种吸附体系的影响

由图 11 可以看出,4-氯酚在 5 种吸附体系

中的吸附量随 pH 值的变化情况,4-氯酚的水相初始浓度为 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 在 EPS 高岭土以及生长有细菌生物膜外壳的高岭土 3 种吸附体系中,4-氯酚的吸附量随 pH 值的增大而增加. 在细菌和有 EPS 存在的高岭土 2 种吸附体系中,4-氯酚的吸附量随 pH 值的增大而减少.



1. EPS ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 2. 细菌细胞 3. 有生物膜外壳的高岭土
4. 高岭土 5. 高岭土 + EPS ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 干重)

图 11 pH 值对 5 种吸附体系的影响

Fig.11 Effect of pH to five adsorption systems

3 结论

5 种模拟吸附体系中,对 4-氯酚的吸附程度受吸附质的物理/化学及生物特征的控制. 在本实验条件下,生物膜及其不同组分对 4-氯酚均有吸附作用,但吸附能力明显不同. 在室温 25°C 、pH6.1 的条件下,细菌细胞和 EPS 作为生物吸附物质,它们对 4-氯酚的吸附明显大于高岭土颗粒物;高岭土颗粒物的生物膜外壳影响颗粒物对 4-氯酚的吸附,吸附量高于单独高岭土体系.

参考文献:

- Schorer M, Eisele M. Accumulation of inorganic and organic pollutants by biofilms in the aquatic environment. *Water, Air and Soil Pollution*, 1997, **99**: 651 ~ 659.
- Lazarova V et al. Population dynamics and biofilm composition in a new three-phase circulating bed reactor. *Wat. Sci. Tech.*, 1998, **37**(4~5): 149 ~ 158.

- Nielsen P H et al. Conceptual model for production and composition of exopolymers in biofilms. *Wat. Sci. Tech.*, 1997, **36**(1): 11 ~ 19.
- Jahn A, Nielsen P H. Cell biomass and exopolymer composition in sewer biofilms. *Wat. Sci. Tech.*, 1998, **37**(1): 17 ~ 24.
- Zhang X et al. Measurement of polysaccharides and proteins in biofilm extracellular polymers. *Wat. Sci. Tech.*, 1998, **37**(4~5): 345 ~ 348.
- 王文军等. 生物膜研究进展. *环境科学进展*, 1999, **7**(5): 43 ~ 51.
- 王文军等. 水环境中生物膜对污染物环境化学行为的影响. *环境科学进展*, 1999, **7**(6): 58 ~ 65.
- Norberg A B, Enfors S O. Production of extracellular polysaccharide by *Zoogloea ramigera*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1982, **44**: 1231 ~ 1237.
- Nelson Y et al. Modeling oligotrophic biofilm formation and lead adsorption to biofilm components. *Environ. Sci. Technol.*, 1996, **30**(6): 2027 ~ 2035.
- Brunk B K et al. Effects of salinity changes and the formation of dissolved organic matter coatings on the sorption of phenanthrene: implications for pollutant trapping in estuaries. *Environ. Sci. Technol.*, 1997, **31**(1): 119 ~ 125.
- Armenante P M et al. Effect of a biofilm on the adsorption of 4-chlorophenol on activated carbon. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1996, **46**: 667 ~ 672.
- Suzuki M. Role of adsorption in water environment processes. *Wat. Sci. Tech.*, 1997, **35**(7): 1 ~ 11.
- Daughney C J, Fein J B. Sorption of 2,4,6-trichlorophenol by *Bacillus subtilis*. *Environ. Sci. Technol.*, 1998, **32**(6): 749 ~ 752.
- Chang J-S et al. Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *pseudomonas aeruginosa* pu21. *Wat. Res.*, 1997, **32**(7): 1651 ~ 1658.
- Loaëc M et al. Uptake of lead, cadmium and zinc by a novel bacterial exopolysaccharide. *Wat. Res.*, 1997, **31**(5): 1171 ~ 1179.
- 李铁,叶常明. 酚类化合物在水体颗粒物上的吸附实验. *环境化学*, 1997, **16**(3): 227 ~ 232.
- Carlson G, Silverstein J. Effect of molecular size and charge on biofilm sorption of organic matter. *Wat. Res.*, 1998, **32**(5): 1580 ~ 1592.
- Spath R et al. Sorption properties of biofilms. *Wat. Sci. Tech.*, 1998, **37**(4,5): 207 ~ 210.