

# 铜-苯并[a]芘复合污染体系中铜的微生物吸附特性

叶锦韶<sup>1,2</sup>, 尹华<sup>2</sup>, 白洁琼<sup>2</sup>, 麦碧娴<sup>1</sup>, 彭辉<sup>2</sup>, 张娜<sup>2</sup>

(1.中国科学院广州地球化学研究所有机地球化学国家重点实验室, 广州 510640; 2.暨南大学环境工程系, 广州 510632)

**摘要:**研究了铜-苯并[a]芘(BaP)复合污染体系中嗜麦芽窄食单胞菌对铜的微生物吸附特性。实验结果表明,该菌可以选择性地吸附  $\text{Cu}^{2+}$ , 并把  $\text{NO}_3^-$  还原为  $\text{NO}_2^-$ 。pH、投菌量、处理时间和铜浓度等因素及 BaP 均会对铜的生物吸附产生显著的影响, BaP 和这 4 个因素的相互作用对铜的生物吸附也达到了显著的水平。投菌量会对铜吸附过程中  $\text{F}^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  等离子的释放产生显著的影响, BaP 则会显著的影响  $\text{F}^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  和  $\text{PO}_4^{3-}$  的浓度水平。当 BaP 的浓度为 0、0.1、1.0、10.0  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,  $2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  菌体对 pH 为 6.0、浓度为  $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的铜溶液的吸附率分别高达 97.1%、93.8%、94.0% 和 93.3%。BaP 和铜在 2 h 内均没有造成菌体表面形态的明显变化, 处理  $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Cu}^{2+}$  及其与 BaP 的复合污染 2 d 后, 菌体表面会产生突起结构。

**关键词:** 铜; 苯并[a]芘; 微生物吸附; 嗜麦芽窄食单胞菌

中图分类号: X172 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2010)09-1777-07

## Biosorption Characteristics of Copper( ) from Copper-Benzo[a]pyrene Co-existed Solution

YE Jin-shao<sup>1,2</sup>, YIN Hua<sup>2</sup>, BAI Jie-qiong<sup>2</sup>, MAI Bi-xian<sup>1</sup>, PENG Hui<sup>2</sup>, ZHANG Na<sup>2</sup>

(1.State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Science, Guangzhou 510640, China; 2.Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** The biosorption characteristics of  $\text{Cu}^{2+}$  by *Stenotrophomonas maltophilia* have been studied in a benzo[a]pyrene(BaP)- $\text{Cu}^{2+}$  combined pollution system. The results showed that *S. maltophilia* could adsorb  $\text{Cu}^{2+}$  selectively and reduce  $\text{NO}_3^-$  to  $\text{NO}_2^-$ . BaP, initial pH, biosorbent dosage, contact time and  $\text{Cu}^{2+}$  concentration were the significant factors for  $\text{Cu}^{2+}$  removal. The interactions between BaP concentration and these parameters also showed statistical significance. Moreover, the releases of  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  and  $\text{SO}_4^{2-}$  by different dosages of *S. maltophilia* were distinct, while the concentrations of BaP significantly affected the release of  $\text{F}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{PO}_4^{3-}$ . In the presence of 0, 0.1, 1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and 10  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  BaP, the maximum removal ratios of  $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Cu}^{2+}$  at pH 6.0 were 97.1%, 93.8%, 94.0% and 93.3% respectively, when the biosorbent dosage was  $2.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Morphological characteristics illuminated that co-existed BaP and  $\text{Cu}^{2+}$  did not present obviously toxic effects against *S. maltophilia* within 2 h. However, the cells were surrounded by granules after treated  $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Cu}^{2+}$  and BaP for 2 d.

**Keywords:** copper; benzo[a]pyrene; biosorption; *Stenotrophomonas maltophilia*

复合污染是广泛存在的环境问题,每个受污染的环境都是多类型污染物联合作用的结果。复合污染物间的交互作用,对污染物的迁移转化、生物效应和修复技术存在的影响,仍需要系统而深入的研究。因此,复合污染问题吸引了越来越多的科研工作者,对重金属间、有机物间以及重金属-有机物间的毒性作用已

取得了较扎实的研究成果。

重金属-多环芳烃是水体和土壤中最常见的复合污染种类之一,在复合污染中具有理想的代表性<sup>[1-3]</sup>。虽然国内外学者,在该复合污染的区域分布、迁移、生物毒性和环境影响评估等方面做出了重要的贡献<sup>[4-6]</sup>,但是,水体重金属-多环芳烃微生物吸附/降解的研究仍处于启动状态,仅有为数极少的相关研究,也只是初步地探讨了重金属-多环芳烃的微生物吸附/降解性能,如 *Selenastrum capricornutum* 对  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  等重金属离子的吸附,及对 FLU、PHE、PYR、BaP 等多环芳烃的去除性能<sup>[7]</sup>。因此,本文分别以铜和苯并[a]

收稿日期: 2010-04-19

基金项目: 国家自然科学基金委-广东联合基金(U0933002); 广东省自然科学基金(9151027501000055)

作者简介: 叶锦韶(1977—),男,博士,讲师,主要研究方向为水污染控制与修复。E-mail: jysye@jnu.edu.cn

通讯联系人: 尹华 E-mail: yhjgc@jnu.edu.cn

芘(BaP)作为重金属与多环芳烃的代表物,开展该复合污染情况下铜的生物吸附特性研究,对复合污染的微生物处理具有重要的科学意义和环境价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*-a)由本课题分离保存。

培养液  $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  酵母浸出粉,  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蛋白胨,  $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl,  $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , pH 7.0~7.2。

BaP 购于 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA),  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BaP 母液由 BaP 溶于色谱级甲醇得到。 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  铜母液由分析纯  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  溶于高纯水得到。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 微生物扩大培养

接种 *S. maltophilia* 于培养液中,于  $30 \text{ }^\circ\text{C}$   $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  摇床中振荡培养 24 h。取菌液按 1% 体积比接种于新鲜培养液中,在上述条件下培养 48 h,  $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min 获取菌体。利用高纯水清洗菌体 3 次,备用。

#### 1.2.2 铜的微生物吸附性能

(1) pH 和 BaP 对铜微生物吸附的影响: 取湿重  $2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  菌体, 分别投加到 BaP 浓度为 0、0.1、1.0、10.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 为 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0 的  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  铜溶液中。  $25 \text{ }^\circ\text{C}$   $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  摇床中振荡处理 120 min 后, 于  $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min 取上清液测定铜浓度, 另设 2 批平行实验。

(2) 菌体投加量和 BaP 对铜微生物吸附的影响: 分别取湿重 0.1、0.2、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  菌体, 投加到 BaP 浓度为 0、0.1、1.0、10.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 为 6.0 的  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  铜溶液中, 振荡处理 120 min, 离心后取上清液测定铜浓度, 另设 2 批平行实验。

(3) 处理时间和 BaP 对铜微生物吸附的影响: 取湿重  $2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  菌体, 分别投加到 BaP 浓度为 0、0.1、1.0、10.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 为 6.0 的  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  铜溶液中, 振荡处理 10~7200 min, 于各设定时间取样离心后取上清液测定铜浓度, 另设 2 批平行实验。

(4) 铜浓度和 BaP 对铜微生物吸附的影响: 取湿重  $2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  菌体, 分别投加到 BaP 浓度为 0、0.1、1.0、10.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 为 6.0 的 0.02~12.50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  铜溶液中, 振荡处理 120 min, 离心后取上清液测定铜浓度, 另设 2 批平行实验。

#### 1.2.3 铜微生物吸附过程的阴离子变化

分别取湿重 0.1、0.2、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  菌体, 投加到 BaP 浓度为 0、1.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 为 6.0 的  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  铜溶液中, 振荡处理 120 min 后, 于  $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min 取上清液, 用离子色谱仪 ICS-900 (Dionex Sunnyvale, USA) 检测  $\text{F}^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Br}^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度。分析柱为 Dionex IonPac<sup>®</sup> AS14 (4 mm $\times$ 250 mm), 流动相为  $3.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  和  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$ , 流速  $1.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 进样体积为  $10 \text{ } \mu\text{L}$ , 共开展 3 批平行实验。

#### 1.2.4 菌体微观形态研究

取吸附  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  和吸附  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  +  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BaP 溶液 120 min 的菌体, 滴加于载玻片上, 迅速风干后, 利用原子力显微镜 (Thermomicroscopes, USA) 观察菌体微观形态, 另取吸附前菌体进行对照实验。

分别取处理  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BaP、 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  和  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  +  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BaP 2 d 后的菌液 1 mL 过滤于  $0.22 \text{ } \mu\text{m}$  PES 滤膜上, 于  $-57 \sim -60 \text{ }^\circ\text{C}$  冷冻干燥 24 h, 真空喷金镀膜后, 利用扫描电子显微镜 (PHILIPS XL-30E SEM) 进行观察和拍照。另取在双蒸水中振荡 2 d 的菌体作对照实验。

## 2 结果与分析

### 2.1 pH 和 BaP 对铜微生物吸附的影响

吸附液 pH 值是影响吸附的一个重要因素, 对金属离子的化学特性、细胞壁表面官能团的活性和金属离子间的竞争均有显著影响。当 pH 值过低时, 大量氢离子会使吸附剂质子化, pH 值过高时, 达到重金属离子的  $K_{sp}$  值后, 金属离子会生成氢氧化物沉淀, 无法体现生物吸附作用对金属的去除效果。图 1 的结果也显示, pH 的变化会对铜浓度产生影响, 当 pH 大于 5.5 时, 溶液中的铜浓度出现下降的趋势。

吸附实验结果则表明(图 2), pH 为 3.0 时, 菌体对铜的吸附效果较差, 吸附率仅为 18%~26%, 而当 pH 为 3.5~8.0 时, 吸附效果理想且较平稳。该现象与多种原因有关, 当 pH 过低时, 菌体表面的质子化会抑制铜的吸附<sup>[8-9]</sup>, 而且, 过酸的环境对菌体正常生理功能会产生影响, 削弱菌体对铜的生物积累能力。菌体对 pH 较宽的适应范围, 说明该菌体对 pH 的适应能力强, 有利于应用到受重金属污染环境的治理中。综合考虑 pH 对铜初始浓度的影响和菌体对铜的吸附效果, 并便于考察菌体在吸附铜的过程中, 离子释

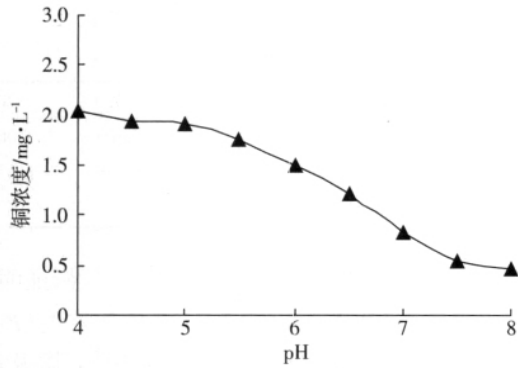


图 1 pH 值对铜浓度变化的影响

Figure 1 Effect of initial pH on concentrations of copper

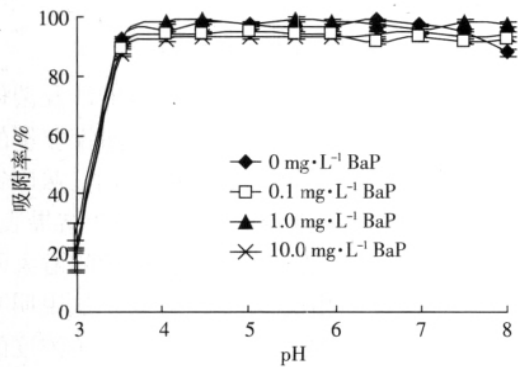


图 2 pH 和 BaP 对 2.5 g·L<sup>-1</sup> *S. maltophilia* 吸附 2 mg·L<sup>-1</sup> 铜的影响

Figure 2 Effect of initial pH and BaP on the biosorption of 2 mg·L<sup>-1</sup> Cu<sup>2+</sup> by 2.5 g·L<sup>-1</sup> *S. maltophilia*

放或转化情况,以后的实验均不调节 2 mg·L<sup>-1</sup> Cu<sup>2+</sup>溶液的 pH 值(5.3~5.4)。

当处理体系分别存在 0.1、1.0、10.0 mg·L<sup>-1</sup>BaP 时,铜的吸附率均呈相同的变化趋势。可重复双因素方差分析结果表明 pH( $F$ -ratio=2 195.1,  $F$ -crit=1.8)和 BaP 浓度( $F$ -ratio=101.5,  $F$ -crit=2.7)及这 2 个因素的相互作用,对铜的吸附均产生了显著的影响。当 pH 小于 6.0 时, BaP 会对铜的吸附产生抑制作用,但是,当 pH 为 6.0~8.0 时, BaP 反而促进了铜的吸附。

### 2.2 投菌量和 BaP 对铜微生物吸附的影响

吸附剂投加量是影响重金属生物吸附的重要因素。图 3 显示,当投菌量为 0.1~1.0 g·L<sup>-1</sup> 时,单位质量菌体对铜的吸附量随投菌量的增加呈线性下降的趋势,投菌量为 2.5 g·L<sup>-1</sup> 时,吸附量的变化趋于平稳。不少研究也有类似的结果。其主要原因是随着投菌量的增加,吸附质与吸附剂的比例减小,从而导致单位质量菌体可以吸附的 Cu<sup>2+</sup>减少。方差分析的结果表明,投菌量( $F$ -ratio=638.4,  $F$ -crit=2.3)对铜的吸附影响最显著, BaP ( $F$ -ratio=48.9,  $F$ -crit=2.8) 和 BaP×投菌量

( $F$ -ratio=18.3,  $F$ -crit=1.8) 的影响也达到了显著的水平。当投菌量为 0.1~1.0 g·L<sup>-1</sup> 时, BaP 对铜的吸附呈抑制趋势,但是,当投菌量大于 1.0 g·L<sup>-1</sup> 时, BaP 的存在对铜生物吸附的影响不大。这也说明了适当高浓度的菌体是抵抗复合污染的重要因素。

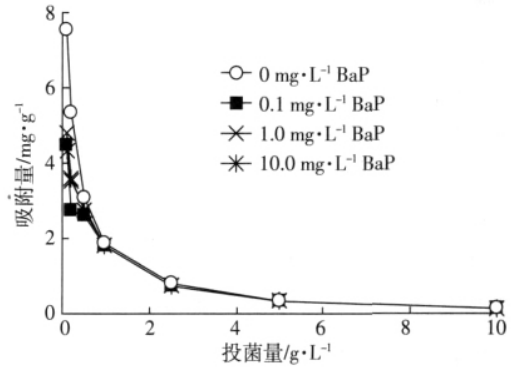


图 3 投菌量和 BaP 对 2.5 g·L<sup>-1</sup> *S. maltophilia* 吸附 2 mg·L<sup>-1</sup> 铜的影响

Figure 3 Effect of biosorbent dosage and BaP on the biosorption of 2 mg·L<sup>-1</sup> Cu<sup>2+</sup> by 2.5 g·L<sup>-1</sup> *S. maltophilia*

### 2.3 处理时间和 BaP 对铜微生物吸附的影响

图 4 显示,10 min 内 *S. maltophilia* 就完成了大部分铜的吸附,吸附率均高达 90% 以上,随后吸附率均小幅度增加。方差分析表明,吸附时间( $F$ -ratio=27.0,  $F$ -crit=1.9)、BaP( $F$ -ratio=29.0,  $F$ -crit=2.7)和吸附时间×BaP( $F$ -ratio=6.2,  $F$ -crit=1.6)对铜生物吸附的作用均达到了显著的水平。但是,与溶液初始 pH 和投菌量相比,吸附时间影响的显著程度明显小于这两个因素。对各个吸附时间的单因素方差分析结果(表 1)表明,不同浓度 BaP 在吸附前期对铜吸附的影响最明显。随着时间的推移,菌体对 BaP 的存在产生了

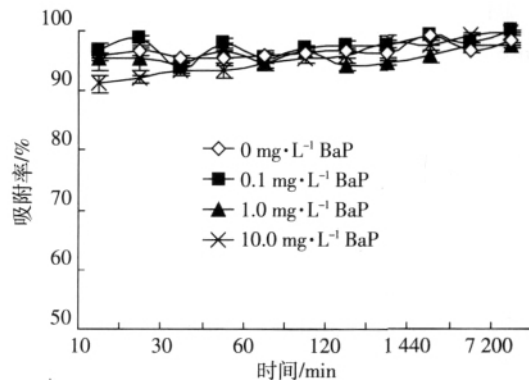


图 4 吸附时间和 BaP 对 2.5 g·L<sup>-1</sup> *S. maltophilia* 吸附 2 mg·L<sup>-1</sup> 铜的影响

Figure 4 Effect of contact time and BaP on the biosorption of 2 mg·L<sup>-1</sup> Cu<sup>2+</sup> by 2.5 g·L<sup>-1</sup> *S. maltophilia*

表1 吸附时间和 BaP 对铜微生物吸附影响的方差分析

Table 1 Analysis of variance of influence of BaP concentration on Cu<sup>2+</sup> removal in different time

时间/min	10	20	30	40	60	90	120	240	1 440	4 320	7 200
F-ratio	8.114	19.126	3.685	12.495	0.930	3.932	16.567	4.490	9.559	5.305	5.068
P-value	0.008	0.001	0.062	0.002	0.470	0.054	0.001	0.040	0.005	0.026	0.030
F-crit							4.066				

适应机制。

重金属的生物吸附通常分两个阶段,第一阶段是快速吸附阶段,该阶段的吸附主要以表面吸附为主,因此速度很快;第二阶段是细胞内积累阶段,由于细胞膜的磷脂双层具有两亲性,亲水性的铜离子需要有跨膜载体才能进入细胞内,该运输过程需要能量而且可能会与其他元素的运输产生竞争,所以该过程是个缓慢的阶段<sup>[10]</sup>。

2.4 铜浓度和 BaP 对铜微生物吸附的影响

本实验按照等比的方式设定了铜的浓度,其中 2 mg·L<sup>-1</sup> 是铜的三级排放标准。图 5 显示,铜的吸附率随铜浓度的增加而下降,当浓度为 0.02~0.13 mg·L<sup>-1</sup> 时, *S. maltophilia* 可彻底去除溶液中的铜离子。随后,吸附率基本呈线性下降的趋势。当铜浓度为 12.5 mg·

L<sup>-1</sup> 时,吸附率为 47%~60%。双因素方差分析证明,铜浓度(F-ratio=1578.4, F-crit=2.2)和 BaP 浓度(F-ratio=26.2, F-crit=2.7)均会显著地影响铜的生物吸附效果,铜和 BaP 浓度的增大均会抑制铜的生物吸附。BaP 与铜的联合抑制作用在这种污染物的浓度高时表现最明显。

2.5 铜微生物吸附过程的阴离子变化

活性细胞对重金属的吸附过程可能涉及菌体的生理生化反应<sup>[11-12]</sup>,因此,本实验对不同投加量的 *S. maltophilia* 在 BaP 浓度为 0、1.0 mg·L<sup>-1</sup> 时,吸附铜后的阴离子变化进行了检测。表 2 和表 3 结果表明,Cl<sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 和 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 基本上是随投菌量的增大而增加;而 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的浓度则相反,呈下降趋势。这说明 Cl<sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 和 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的释放与投菌量有关,NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 浓度的降低则表明菌体在吸附铜离子的同时,会吸附 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 或者把 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 还原为 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>。方差分析表明(表 4),投菌量与 F<sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 和 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的变化显著相关;但是 BaP 只会对 F<sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 的变化产生明显的影响。BaP 和投菌量对阴离子的变化没有显著的共同作用。

2.6 菌体表面形态观察

AFM 实验表明(图 6),铜和 BaP 没有造成菌体表面形态的明显变化,各菌体均呈现杆状,表面较粗糙。综合全文研究结果,各实验因素均会对铜的吸附产生影响,但是,铜和 BaP 不会对菌体的表面形态产生可观察的影响。这是因为菌体对铜和 BaP 的适应能力较强,而且实验所选用的污染物浓度不是太高。因此,该复合污染没有对菌体产生明显的毒害作用。

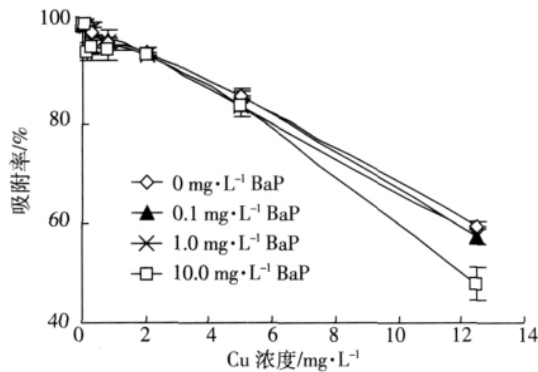


图 5 铜浓度和 BaP 对 2.5 g·L<sup>-1</sup> *S. maltophilia* 吸附铜的影响  
Figure 5 Effect of initial Cu<sup>2+</sup> concentration and BaP on Cu( II ) uptake by 2.5 g·L<sup>-1</sup> *S. maltophilia*

表 2 投菌量对铜微生物吸附过程阴离子释放的影响

Table 2 Effect of biosorbent dosage on release of anions during the biosorption of Cu<sup>2+</sup>

投菌量/g·L <sup>-1</sup>	F <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
0.1	0.001 8±0.001 6	0.230 8±0.191 9	0.101 1±0.015 8	4.387 3±0.263 0	0.055 2±0.032 6	0.231 5±0.137 1
0.2	0.005 0±0.000 2	2.073 7±0.265 5	0.122 2±0.008 7	4.365 1±0.104 8	0.121 1±0.023 5	0.348 7±0.038 7
0.5	0.005 4±0.001 1	2.896 6±0.318 9	0.151 7±0.005 9	4.347 4±0.381 7	0.157 9±0.009 5	0.635 1±0.056 7
1.0	0.005 5±0.000 6	3.438 1±0.109 2	0.218 7±0.010 3	4.139 6±0.273 4	0.131 3±0.017 9	0.725 7±0.190 9
2.5	0.007 3±0.002 2	4.535 7±0.255 4	0.867 7±0.092 7	3.315 7±0.381 9	0.204 8±0.032 8	0.666 8±0.088 2
5.0	0.006 6±0.000 7	5.451 3±0.289 3	2.021 9±0.089 2	1.990 3±0.232 8	0.239 5±0.038 5	1.000 0±0.154 8
10.0	0.006 2±0.001 5	9.586 0±0.721 6	2.810 8±0.043 4	1.093 2±0.164 8	0.382 3±0.078 1	1.170 9±0.138 6

表 3 投菌量和 BaP 对铜微生物吸附过程阴离子释放的影响

Table 3 Effect of biosorbent dosage and BaP on release of anions during the biosorption of  $\text{Cu}^{2+}$ 

投菌量/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{F}^{-}$	$\text{Cl}^{-}$	$\text{NO}_2^{-}$	$\text{NO}_3^{-}$	$\text{PO}_4^{3-}$	$\text{SO}_4^{2-}$
0.1	0.005 0±0.000 4	1.792 5±0.181 3	0.162 2±0.010 7	4.394 5±0.355 2	0.143 0±0.006 2	0.325 6±0.030 3
0.2	0.003 1±0.001 1	2.031 7±0.239 3	0.112 0±0.003 6	3.787 4±1.481 4	0.133 6±0.007 5	0.275 3±0.109 3
0.5	0.004 3±0.000 5	2.509 5±0.108 2	0.120 3±0.013 7	4.035 8±0.229 7	0.142 4±0.005 3	0.631 7±0.118 2
1.0	0.004 9±0.000 6	3.060 7±0.159 0	0.118 2±0.004 9	3.574 7±0.448 0	0.207 5±0.067 0	0.399 4±0.021 1
2.5	0.004 8±0.001 2	5.418 7±0.842 5	0.479 1±0.372 0	2.720 0±0.652 1	0.163 4±0.005 0	1.266 5±0.213 1
5.0	0.004 8±0.000 4	5.890 4±0.233 4	1.124 3±0.285 7	1.561 5±0.355 9	0.335 7±0.052 4	0.871 6±0.119 8
10.0	0.004 3±0.000 6	9.705 4±1.854 9	1.808 4±0.050 6	0.475 3±0.054 0	0.510 3±0.023 8	1.115 2±0.205 5

表 4 投菌量和 BaP 对铜微生物吸附过程阴离子释放的方差分析

Table 4 Analysis of variance of effects of biosorbent dosage and BaP concentration on anions release

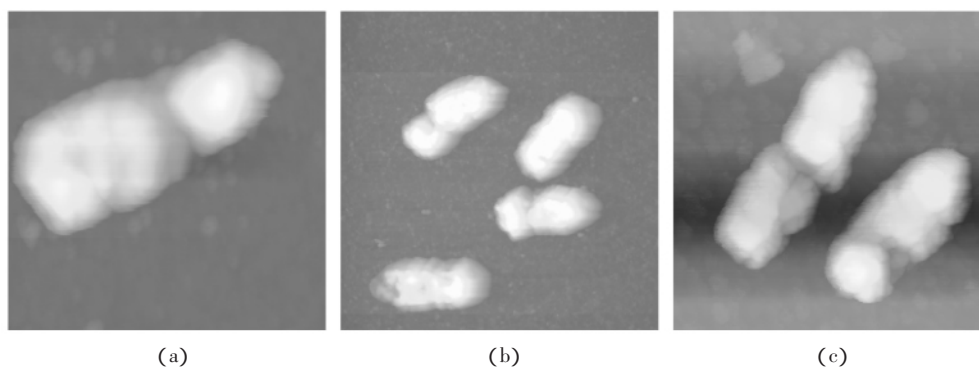
差异源	$df$	$F$ -crit	$\text{F}^{-}$		$\text{Cl}^{-}$		$\text{NO}_2^{-}$	
			$F$ -ratio	$P$ -value	$F$ -ratio	$P$ -value	$F$ -ratio	$P$ -value
投菌量	6.000	2.445	4.765	0.002	134.951	0.000	266.731	0.000
BaP 浓度	1.000	4.196	8.038	0.008	2.772	0.107	10.349	0.003
交互作用	6.000	2.445	5.071	0.001	2.031	0.095	13.025	0.000
差异源	$df$	$F$ -crit	$\text{NO}_3^{-}$		$\text{PO}_4^{3-}$		$\text{SO}_4^{2-}$	
			$F$ -ratio	$P$ -value	$F$ -ratio	$P$ -value	$F$ -ratio	$P$ -value
投菌量	6.000	2.445	43.970	0.000	65.301	0.000	39.278	0.000
BaP 浓度	1.000	4.196	7.830	0.009	19.026	0.000	0.142	0.709
交互作用	6.000	2.445	0.294	0.935	4.581	0.002	7.262	0.000

由 SEM 结果可见(图 7),对照菌体和处理  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  BaP 后的菌体均呈现内陷现象,这是冷冻干燥脱水的缘故。但是,处理  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$  及其与 BaP 的复合污染后,细胞外观呈更加饱满,而且细胞表面布满了小的突起结构。出现该现象是由于  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$  会对菌体产生氧化作用,从而使细胞表面的生物分子变性,最终导致细胞壁的硬化。经冷冻干燥后,菌体仍

能维持饱满的外观。

### 3 讨论

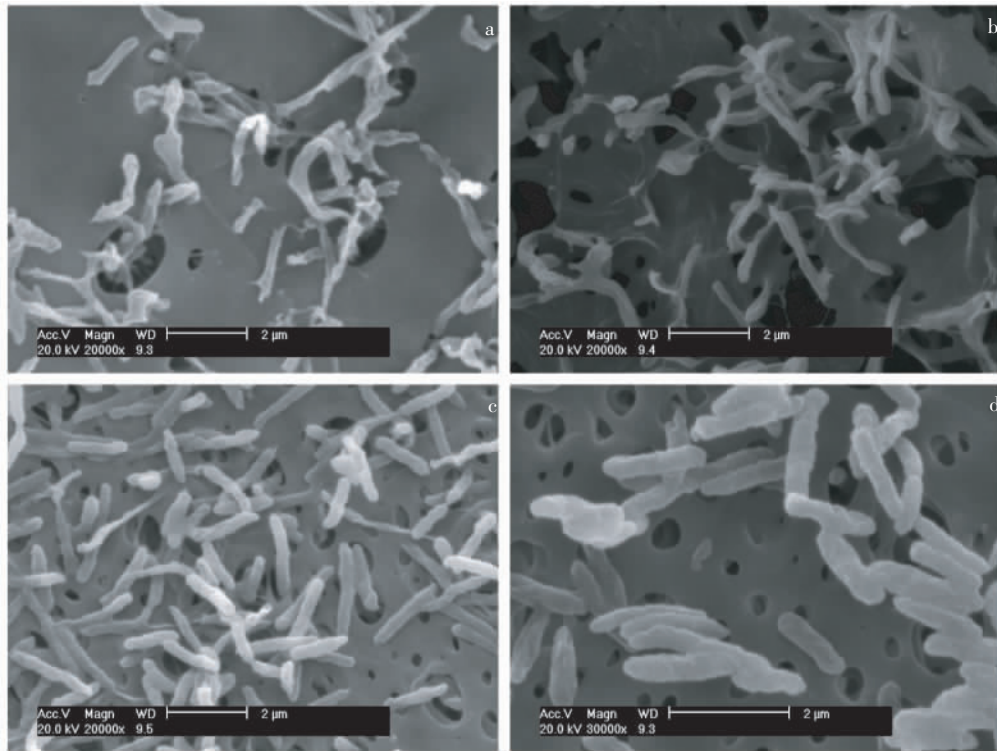
重金属废水的生物吸附法兼有对中低浓度重金属废水处理效率高、处理费用低、菌种来源广泛、不同的生物治理菌剂根据其生物特性,对不同的重金属具有吸附专性和泛性、二次污染少、可回收贵金属等



(a)对照菌体(2  $\mu\text{m}$ ) (b)吸附  $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$  120 min 后的菌体(5  $\mu\text{m}$ ) (c)吸附  $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$  和  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ BaP}$  120 min 后的菌体(3  $\mu\text{m}$ )  
(a)image of control sample(2  $\mu\text{m}$ ) (b)image of cell after biosorption of  $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ (5  $\mu\text{m}$ ); (c)image of cell after biosorption of  $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$  and  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ BaP}$ (3  $\mu\text{m}$ )

图 6 *Stenotrophomonas maltophilia* 的 AFM 图

Figure 6 AFM images of *S. maltophilia*



(a)对照菌体 (b)处理  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BaP 2 d 后的菌体 (c)吸附  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  2 d 后的菌体 (d)吸附  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  和  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BaP 2 d 后的菌体  
 (a)image of control sample (b)image of cell after biodegradation of  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BaP (c)image of cell after biosorption of  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  ;  
 (d)image of cell after biosorption of  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  and  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BaP

图7 *Stenotrophomonas maltophilia* 的 SEM 图

Figure 7 SEM images of *S. maltophilia*

优点<sup>[13-14]</sup>,在解决重金属污染和水资源短缺,以及维护社会稳定方面倍受关注。经过近 20 a 的研究,已选育出的重金属生物吸附菌种包括细菌<sup>[15]</sup>、酵母菌<sup>[16]</sup>、放线菌<sup>[14]</sup>、霉菌<sup>[17]</sup>和藻类<sup>[18]</sup>在内的微生物类群,涉及原核微生物和真核微生物的大部分种属。但是,有关 *S. maltophilia* 应用于生物吸附方面的研究还非常少。因此,本文的研究结果有助于丰富生物吸附的研究成果。与文献报道的吸附菌相比,*S. maltophilia* 对主要影响因素的适应能力较强。如 *Aspergillus niger*<sup>[19]</sup>、*Enteromorpha prolifera*<sup>[20]</sup>、*Mucor rouxii*<sup>[8]</sup>和 *Lemna minor*<sup>[21]</sup>对铜的适宜吸附 pH 分别为 4~5、3.5~4.5、5~6 和 4~6,*Candida utilis*<sup>[16]</sup>、*Pseudomonas aeruginosa*<sup>[15]</sup>、*Enteromorpha prolifera*<sup>[20]</sup>、*Mucor rouxii*<sup>[8]</sup>和 *Lemna minor*<sup>[21]</sup>分别在 5、15、20、20、40 min 时完成铜的快速吸附阶段,而 *S. maltophilia* 在 pH 为 3.5~8.0 时对铜的吸附效果理想且较平稳,在 10 min 内即达到饱和吸附值。

共存离子是影响重金属离子生物吸附和有机物降解的重要因素。在实验室的研究中,对共存离子的探讨主要以外源添加的方式进行。活菌体细胞内离子

的代谢、释放规律与污染物生物处理的关联,是阐明污染物对微生物生理生化反应的作用规律,及分析污染物生物处理机理的重要方面,也是目前重金属生物吸附机理研究的薄弱环节。现有为数不多的研究也只是集中于阳离子对重金属吸附影响方面,菌体阴离子在吸附过程的释放和代谢研究则有待开展。如 Ngah W S W 等研究了壳聚糖吸附  $5\sim 30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Pb}^{2+}$ 后,壳聚糖释放  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{K}^{+}$ 和  $\text{Na}^{+}$ 等离子的规律,证明了  $\text{Pb}^{2+}$ 的吸附存在离子交换<sup>[22]</sup>。

本文不单表征了  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  中的  $\text{NO}_3^-$  变化情况,同时分析了  $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  等离子的浓度变化,从而阐明了菌体在处理  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  时,可以选择性地吸附  $\text{Cu}^{2+}$ 。不存在 BaP 时,菌体对  $\text{NO}_3^-$  的处理则以生物还原的方式进行。随投菌量的增加,  $\text{NO}_3^-$  的减少量和  $\text{NO}_2^-$  的增加量均具有理想的线性关系,线性方程和决定系数分别为  $y = -0.3577x + 4.3631$ 、 $y = 0.2945x + 0.0873$  和 0.9519、0.9584。而当存在 BaP 时,*S. maltophilia* 对  $\text{NO}_3^-$  的去除除了还原外,还有生物吸附。其原因包括了两方面,首先,菌体利用了部分 BaP 作为碳源,相

应地,  $\text{NO}_3^-$  被作为氮源加以利用; 其次, BaP 对菌体具有生物毒性, 会使部分菌体细胞受损, 这些细胞对  $\text{NO}_3^-$  进行了不耗能的生物吸附。菌体表面的微观形态研究则证明,  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BaP 在 2 d 内不会对菌体产生可观察的微观形态破坏, 因此, BaP 使菌体受损而引起的  $\text{NO}_3^-$  浓度下降的贡献不大。在复合污染体系中, BaP 起了碳源的作用。

#### 4 结论

pH、投菌量、处理时间、铜浓度和 BaP 是影响铜单一污染体系和铜-苯并[a]芘复合污染体系中, 铜微生物吸附的重要因素。BaP 和这 4 个因素的相互作用对铜的生物吸附也达到了显著的水平。

高浓度的 BaP ( $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 会抑制铜的生物吸附。但是, 在实验设定的浓度水平, BaP 和铜在 2 h 内均没有造成菌体表面形态的明显变化; 处理  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  及其与 BaP 的复合污染 2 d 后, 菌体表面布满了突起结构。

*S. maltophilia* 可以选择性地吸附  $\text{Cu}^{2+}$ , 并把  $\text{NO}_3^-$  还原为  $\text{NO}_2^-$ 。投菌量会对铜吸附过程中  $\text{F}^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  等离子的释放产生显著的影响, BaP 则会显著的影响  $\text{F}^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  和  $\text{PO}_4^{3-}$  的浓度水平。当 BaP 的浓度分别为 0、0.1、1.0、 $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,  $2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  菌体对 pH 为 6.0 浓度为  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的铜溶液的吸附率分别高达 97.1%、93.8%、94.0% 和 93.3%。

#### 参考文献:

- [1] Amaraneni S R. Distribution of pesticides, PAHs and heavy metals in prawn ponds near Kolleru lake wetland, India[J]. *Environment International*, 2006, 32(3): 294-302.
- [2] Sprovieri M, Feo M L, Prevedello L, et al. Heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in surface sediments of the Naples harbour (southern Italy)[J]. *Chemosphere*, 2007, 67(5): 998-1009.
- [3] Tang X J, Shen C F, Shi D Z, et al. Heavy metal and persistent organic compound contamination in soil from Wenling: An emerging e-waste recycling city in Taizhou area, China[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 173(1-3): 653-660.
- [4] Geffard O, Geffard A, His E, et al. Assessment of the bioavailability and toxicity of sediment-associated polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals applied to *Crassostrea gigas* embryos and larvae[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2003, 46(4): 481-490.
- [5] Ribeiro C A O, Vollaire Y, Sanchez-Chardi A, et al. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France[J]. *Aquatic Toxicology*, 2005, 74(1): 53-69.
- [6] Kan C A, Meijer G A L. The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 133(1-2): 84-108.
- [7] Ke L, Luo L J, Wang P, et al. Effects of metals on biosorption and biodegradation of mixed polycyclic aromatic hydrocarbons by a freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(18): 6961-6972.
- [8] Majumdar S S, Das S K, Saha T, et al. Adsorption behavior of copper ions on *Mucor rouxii* biomass through microscopic and FTIR analysis[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2008, 63(1): 138-145.
- [9] Ertugay N, Bayhan Y K. The removal of copper(II) ion by using mushroom biomass (*Agaricus bisporus*) and kinetic modeling[J]. *Desalination*, 2010, 255(1-3): 137-142.
- [10] Ye J S, Yin H, Mai B X, et al. Biosorption of chromium from aqueous solution and electroplating wastewater using mixture of *Candida lipolytica* and dewatered sewage sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(11): 3893-3902.
- [11] Uzel A, Ozdemir G. Metal biosorption capacity of the organic solvent tolerant *Pseudomonas fluorescens* TEM08[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(2): 542-548.
- [12] Gupta V K, Rastogi A. Biosorption of lead from aqueous solutions by green algae *Spirogyra* species: Kinetics and equilibrium studies[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 152(1): 407-414.
- [13] Sema D D, Moore J L, Rayson G D. Site-specific Eu(III) binding affinities to a *Datura innoxia* biosorbent[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 173(1-3): 409-414.
- [14] Das N. Recovery of precious metals through biosorption: A review[J]. *Hydrometallurgy*, 2010, 103: 180-189.
- [15] Silva R M P, Rodríguez A Á, Oca J M G M D, et al. Biosorption of chromium, copper, manganese and zinc by *Pseudomonas aeruginosa* AT18 isolated from a site contaminated with petroleum[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(4): 1533-1538.
- [16] Zu Y G, Zhao X H, Hu M S, et al. Biosorption effects of copper ions on *Candida utilis* under negative pressure cavitation[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2006, 18(6): 1254-1259.
- [17] Veit M T, Tavares C R G, Gomes-da-Costa S M, et al. Adsorption isotherms of copper(II) for two species of dead fungi biomasses[J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40(10): 3303-3308.
- [18] Vijayaraghavan K, Jegan J, Palanivelu K, et al. Batch and column removal of copper from aqueous solution using a brown marine alga *Turbinaria ornata*[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2005, 106(2): 177-184.
- [19] Dursun A Y. A comparative study on determination of the equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters of biosorption of copper(II) and lead(II) ions onto pretreated *Aspergillus niger*[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2006, 28(2): 187-195.
- [20] Özer A, Gürbüz G, Çalimli A, et al. Biosorption of copper(II) ions on *Enteromorpha prolifera*: Application of response surface methodology (RSM)[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2009, 146(3): 377-387.
- [21] Saygideger S, Gulnaz O, Istifli E S, et al. Adsorption of Cd(II), Cu(II) and Ni(II) ions by *Lemna minor* L. Effect of physicochemical environment[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2005, 126(1-3): 96-104.
- [22] Ngah W S W, Fatinathan S. Pb(II) biosorption using chitosan and chitosan derivatives beads: Equilibrium, ion exchange and mechanism studies[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2010, 22(3): 338-346.