

# 假单胞菌(*Pseudomonas*)对氟离子吸附特性的研究

林立东 (吉林农业科技学院食品工程学院, 吉林吉林 132101)

**摘要** [目的] 为利用微生物处理水中的 $F^-$ 提供理论依据。[方法] 通过菌株的驯化、分离与筛选、富集培养和吸附平衡试验研究假单胞菌对水中 $F^-$ 的吸附特性。[结果] 18株细菌对 $F^-$ 的吸附能力相差很大,大部分细菌的吸附率都在10%~20%以内,细菌 $A_1$ 和 $A_3$ 的吸附率分别为30.76%和33.4%,这2株细菌均被鉴定为假单胞菌。这2株细菌对初始浓度为20 ng/L的 $F^-$ 吸附效果最明显。2株细菌的 $F^-$ 吸附率在开始阶段增长很快,在前60 min内,其 $F^-$ 吸附量占总吸附量的90%以上,稳定后吸附率约为22.69%和28.44%。在28时2株细菌的吸附率均达最大。pH为6时,假单胞菌 $A_1$ 的吸附率达到最高(22.88%),pH=7时假单胞菌 $A_3$ 吸附率达到最高(28.26%)。[结论] 假单胞菌吸附 $F^-$ 的最适pH为6~7,最适温度为28。

**关键词** 氟离子;假单胞菌;吸附特性

中图分类号 X172 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)13-05838-02

## Study on the Adsorption Characteristics of *Pseudomonas* to Fluoride Ions

LIN Li-dong (School of Food Engineering, Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

**Abstract** [Objective] The purpose of the study was to provide theoretical foundation for disposing  $F^-$  in water with microorganism. [Method] The adsorption characteristics of *pseudomonas* to  $F^-$  in water were studied through domestication, isolation and selection, enrichment culture and adsorption equilibrium test on its strains. [Result] There was very great difference among the adsorption abilities of the 18 bacterial strains to  $F^-$  and the adsorption rates of most bacteria were between 10% and 20%. The adsorption rates of bacteria  $A_1$  and  $A_3$  were 30.76% and 33.4% resp. and both of them were identified to be *pseudomonas*. The adsorption effect of these 2 bacterial strains on  $F^-$  with initial concn. at 20 ng/L was most obvious and their adsorption rates to  $F^-$  was increasing rapidly in beginning stage. In the 60 min from beginning, their adsorption amounts of  $F^-$  accounted for more than 90% of their total adsorption amount and their stabilized adsorption rates were about 22.69% and 28.44%. Their adsorption rates reached maximum at 28. When pH value was 6, the adsorption rate of *pseudomonas*  $A_1$  reached its highest value (22.88%) and when pH value was 7, the adsorption rate of *pseudomonas*  $A_3$  reached its highest value (28.26%). [Conclusion] The optimum pH value was 6-7 and the optimum temperature was 28 for adsorbing  $F^-$  with *pseudomonas*.

**Key words** Fluoride ions; *Pseudomonas*; Adsorption characteristics

氟是机体必需微量元素之一,氟可以维持机体正常的钙磷代谢,微量氟有促进儿童生长发育和预防龋齿的作用,但过量摄入氟将直接危害机体各组织器官,主要表现在对骨骼和牙齿的损害。长期饮用含量大于1.5 ng/L的高氟水会给人体带来不利影响。某些高浓度含氟工业废水的排放,更对人们身体健康造成很大威胁<sup>[1-2]</sup>,因此对含氟水质的处理显得尤为重要。目前,国内外对含氟的生活用水和工业废水的处理主要有膜处理法<sup>[3]</sup>、吸附法<sup>[4-5]</sup>、沉淀法<sup>[6]</sup>、离子交换法<sup>[7]</sup>,但利用微生物法处理含氟水质的相关报道则很少,且大多集中于对有机氟化物的处理<sup>[8]</sup>,专门针对处理氟离子的研究还未见报道。

运用微生物吸附离子具有在低浓度下处理效果好、吸附容量大、速度快、选择性高、吸附设备简单、易操作等特点<sup>[9]</sup>,为此,笔者运用微生物对水中氟进行吸附,研究了吸附过程的吸附特性,初步阐述了微生物吸附剂的作用机理。

## 1 材料与方 法

**1.1 试验材料** 以大连水泥厂附近的土壤(受氟污染)为菌源<sup>[10]</sup>。肉汤培养基<sup>[11]</sup>。PXJ-1B数字式离子计(江苏江分电分析仪器有限公司);氟离子选择性电极(上海精密科学仪器有限公司)。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 菌株的驯化。**称取1g土壤加入到装有100 ml肉汤培养基的250 ml三角瓶中,加入 $NH_4F$  0.5 ng,28℃,120 r/min培养24 h;然后取培养液10 ml加入到90 ml肉汤培养基中,加入 $NH_4F$  1 ng,与上述相同条件继续培养24 h;之后继续诱导培养,分别在肉汤培养基中加入 $NH_4F$  2.5、10 ng,进行逐级

驯化,共5个周期,120 h。

**1.2.2 菌种的分离与筛选。**取1 ml驯化后的培养基并对其 $10^{-1}$ 倍逐级稀释,稀释到 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$ 各取0.2 ml菌悬液涂布于平板分离培养基(在肉汤培养基中加入2%琼脂),28℃培养72 h后,从平板上挑取形态不同的菌落进行平板划线纯化,得到18株细菌,编号 $A_1 \sim A_{18}$ 。将这18株菌株接种于肉汤培养基中,28℃,120 r/min培养24 h后,取5 ml发酵液接种于装有100 ml筛选培养基( $NH_4F$ 浓度为100 ng/L的肉汤培养基)的250 ml三角瓶中,28℃,120 r/min培养84 h,然后测发酵液中的 $F^-$ 浓度,筛选出吸附 $F^-$ 能力较强的菌株。

**1.2.3 菌株的富集培养。**将试验菌株分别接入肉汤培养基中,在28℃、120 r/min条件下培养72 h,将培养液4 000 r/min离心20 min,收集菌体,再用去离子水洗涤菌体2遍,将菌体冷冻干燥(用吸水纸吸干然后冷冻)后即为微生物吸附剂,将此菌体吸附剂配成2 g/L(以干重计)的菌悬液备用。

## 1.2.4 吸附平衡试验。

**1.2.4.1 温度对吸附的影响。**菌体浓度1 g/L, $F^-$ 浓度为20 ng/L,体系pH值7,在不同温度条件下培养12 h,然后取一定量培养液4 000 r/min离心20 min,测上清液中 $F^-$ 浓度。

**1.2.4.2 pH值对吸附的影响。**菌体浓度1 g/L, $F^-$ 浓度为20 ng/L,体系pH值调节至4~8,28℃,150 r/min培养12 h,4 000 r/min离心20 min,测上清液中 $F^-$ 浓度。

**1.2.5 分析方法。**采用氟离子选择电极分析方法测定 $F^-$ ,具体见文献[12]。

$$\text{吸附率}(\%) = \frac{\text{不加菌对照 } F^- \text{ 浓度} - \text{加菌 } F^- \text{ 浓度}}{\text{不加菌对照 } F^- \text{ 浓度}} \times 100$$

## 2 结果与分析

**2.1 18株细菌对 $F^-$ 的吸附能力** 图1表示分离得到的18

株细菌  $A_1 \sim A_{18}$  对筛选培养基中  $F^-$  的吸附情况, 结果表明18株细菌对  $F^-$  的吸附能力相差很大, 大部分细菌的吸附率为10%~20%, 细菌  $A_1$ 、 $A_3$  的吸附能力较强, 分别为30.76%和33.40%, 另外有3株细菌的吸附率未超过10%。根据此结果选取细菌  $A_1$  和  $A_3$  进行吸附  $F^-$  特性试验。依据细菌  $A_1$ 、 $A_3$  的细胞形态、菌落形态特征和生理生化试验, 并结合《伯杰氏细菌系统手册》对这2株细菌进行鉴定, 可知这2株细菌均为假单胞菌(*Pseudomonas*)。

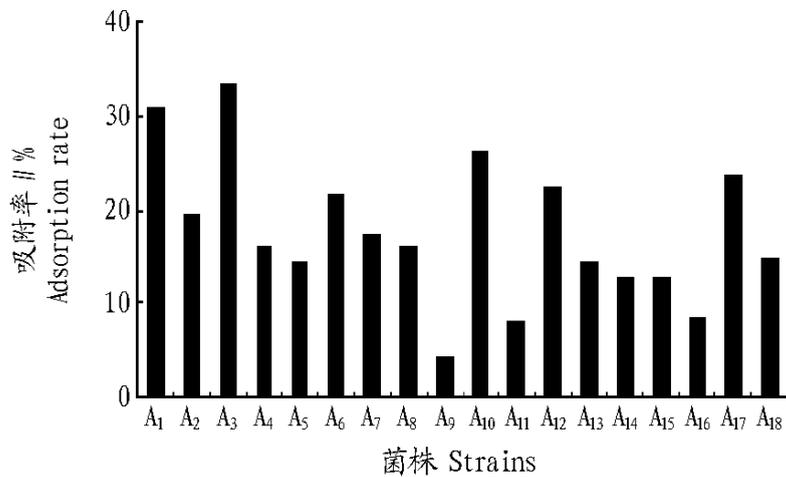


图1 18株细菌对  $F^-$  的吸附情况

Fig.1 The adsorption of 18 strains of bacteria to  $F^-$

2.2 2株假单胞菌(*Pseudomonas*)对  $F^-$  的吸附动力学 图2表示在不同的  $F^-$  初始浓度条件下1 g/L的假单胞菌  $A_3$  和  $A_1$  菌体吸附剂对  $F^-$  的吸附率, 由图可知2株细菌的吸附曲线趋势有很大的相似性, 在  $F^-$  初始浓度为5~20 ng/L时吸附率均有一定升高, 但随着  $F^-$  初始浓度继续增加吸附率降低, 当  $F^-$  初始浓度为100 ng/L时吸附率降到10%以下。2株细菌都对  $F^-$  初始浓度为20 ng/L的离子溶液吸附效果最明显, 因此可配制20 ng/L  $F^-$  溶液进行吸附力学试验(图3)。

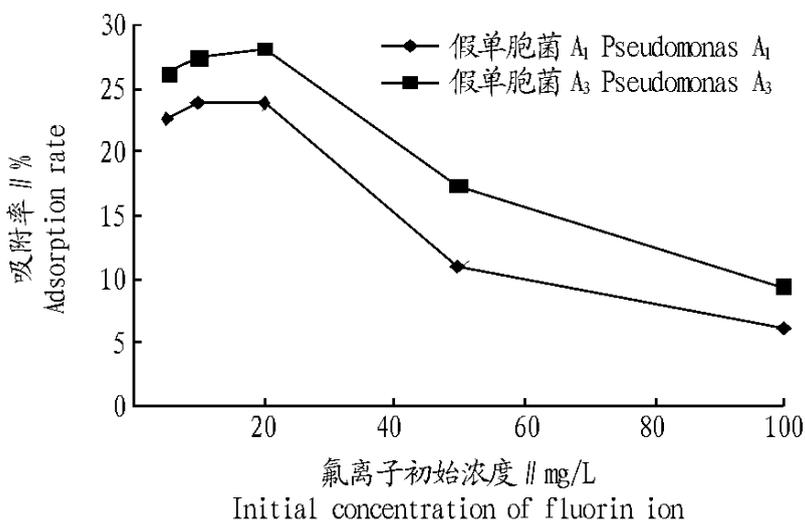


图2 不同  $F^-$  初始浓度的吸附率(pH=7)

Fig.2 The adsorption rate under different initial concentration of  $F^-$

图3中曲线表示假单胞菌  $A_1$ 、 $A_3$  吸附剂对20 ng/L的  $F^-$  溶液吸附率随时间的变化情况。由结果可知, 2株细菌在吸附开始阶段吸附率增长很快, 在前60 min内, 对溶液中  $F^-$  吸附量占总吸附量的90%以上, 随着时间的延长吸附率几乎保持不变, 稳定后吸附率约为22.69%和28.44%。根据菌体吸附剂对  $F^-$  吸附的这种“两段式”特征可推测  $F^-$  的吸附机制可能为: 吸附的第一阶段是由于吸附剂大比表面积和孔性结构的强大物理吸附力作用, 具有吸附速度快、可逆、具无选择性等特点, 另外由于菌体表面的荷正电吸附的静电作用, 形成氢键和表面络合物作用, 在菌体吸附剂表面发生化学吸附等作用或依靠细胞代谢向细胞内的传输过程, 使吸附速度

慢、只能单层吸附、有选择性和一般为不可逆吸附形成了吸附的第二阶段<sup>[13]</sup>, 这与有关文献中报道的“吸附+细胞膜传输”模型相符<sup>[14]</sup>。从实际应用角度考虑, 由于吸附在第一吸附阶段的吸附效率最高, 因此可选取吸附前60 min为一个周期, 从而确定了吸附最佳时间, 提高了设备的利用效率, 降低了操作成本。

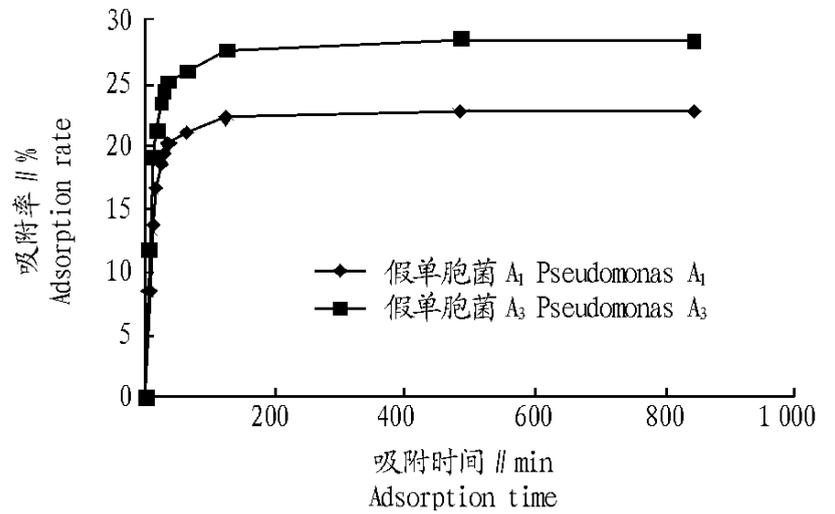


图3 2株假单胞菌(*Pseudomonas*)的吸附动力学曲线(pH=7)

Fig.3 The adsorption kinetic curve of 2 strains of *Pseudomonas*

2.3 温度对  $F^-$  吸附的影响 由图4可知, 温度对  $F^-$  吸附的影响很小, 在28℃时2株细菌的吸附率均达最大, 20℃时吸附率最低, 两者相差不到3%。28℃为2株假单胞菌对  $F^-$  吸附的最适温度。

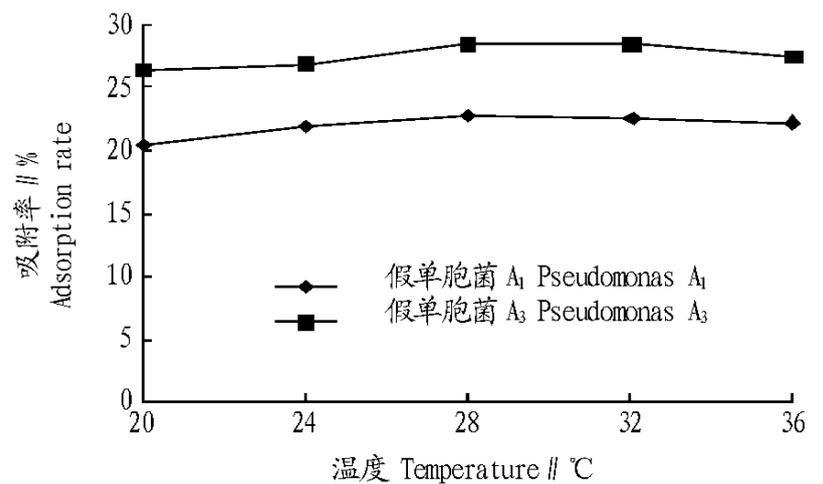


图4 温度对  $F^-$  的吸附影响曲线(pH=7)

Fig.4 The impact curve of temperature on  $F^-$  adsorption

2.4 pH值对  $F^-$  吸附的影响 由图5可见, 在不同pH条件下2株细菌的吸附变化曲线有所相似, 都存在最适吸附pH, 随着pH值的增加吸附率也随着增加, pH值为6时假单胞菌  $A_1$  吸附率达到最高(22.88%), pH值为7时假单胞菌  $A_3$  吸附率也

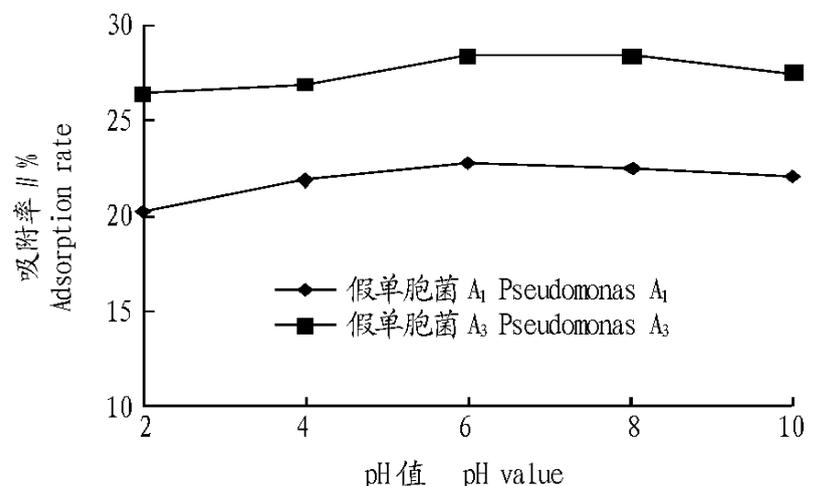


图5 pH值对  $F^-$  吸附的影响曲线

Fig.5 The impact curve of pH value on  $F^-$  adsorption

处理1-2-3和铬离子处理1,分别与对照组相比较,对亚心型大扁藻生长有促进作用,这也说明铬、锌是亚心型大扁藻生长所必须的微量元素。

### 3 结论与讨论

**3.1 亚心型大扁藻对重金属离子的适应性** 根据亚心型大扁藻的特性,在环境不利或生长后期会由动细胞转为不动细胞,因此在计算致死率时,为避免将由正常生理转变成的不动细胞算为死细胞,在接种时务必取处于指数生长期的藻液,以保证对照组藻液在试验过程中无不动细胞出现,其他试验组出现不动细胞完全是由于重金属作用所致。

从图1、图2可见,高浓度的锌离子处理4~5和铬离子处理4,随培养时间的延长,藻种群对毒害耐受力增强,由于脂类和糖类是藻细胞壁和膜的主要成分,它们可提供许多能与重金属离子结合的官能团<sup>[11]</sup>。另外,由于死亡藻细胞能提供更多的官能团,从而对重金属有更强的吸附能力,所以随培养时间的延长,一方面由于已经死亡的藻细胞能吸附更多的金属离子,另一方面由于受重金属铬、锌诱导后的活细胞增强了其对铬、锌离子的耐受力,对生长的抑制作用减弱,一部分适应环境迅速增殖,一部分老化死亡,随后由于培养液中微量元素的消耗,藻种群提前进入生长静止期,种群生长周期缩短。

**3.2 生物吸附法净化污水的前景** 目前,在治理城市污水方面,一种新的处理含重金属废水的方法——生物吸附法引起国内外学者的重视<sup>[6-8]</sup>,生物吸附法就是寻找对某种金属具有高度选择性的材料作为吸附剂。吸附材料的选择范围从以前单一的活体生物扩大到“半存活”、“半完整”生物体,甚至死细胞。随着生物吸附研究的深入,许多学者发现死细胞或是“半存活”、“半完整”状态的细胞能以相等甚至更高的效率吸附金属,从而解决了由于高浓度金属离子对活生物体毒性作用而使其应用受到限制的问题。铬在自然界中多以 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Cr}^{5+}$ 形式存在,细胞中常以 $\text{Cr}^{3+}$ 形式存在;锌在自然界中多以 $\text{Zn}^{2+}$ 形式存在,细胞中常以 $\text{Zn}^{2+}$ 形式存在。目前国

(上接第5839页)

达到最高(28.26%),随pH继续升高2株细菌的吸附率降低,最适的pH为中性或偏酸性,这可能是由于低pH溶液中的 $\text{H}^+$ 与 $\text{F}^-$ 形成HF,妨碍了菌体吸附剂对 $\text{F}^-$ 的吸附,高pH溶液中的 $\text{OH}^-$ 与 $\text{F}^-$ 吸附形成竞争,占据了吸附剂表面吸附位置,也使得吸附率降低,因此确定pH6~7为菌体吸附剂对 $\text{F}^-$ 吸附的适宜pH范围。

### 3 结论

(1)从土壤中分离得到18株细菌,检测其吸附 $\text{F}^-$ 能力,选出2株吸附能力较强的菌株,初步鉴定均为假单胞菌(Pseudomonas)。

(2)对 $\text{F}^-$ 溶液进行吸附动力学试验,结果表明,在前60min内吸附速度很快,吸附量占总吸附量的90%以上。

(3)这2株细菌的菌体吸附剂的最适吸附pH值为6~7,最适温度为28。

### 参考文献

[1]李春青,普红平.含氟废水的吸附处理[J].化工时刊,2006,20(4):64-68.

内外对 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 生物吸附的研究刚刚起步<sup>[9]</sup>。笔者研究重金属铬、锌离子对亚心型大扁藻生长的影响:锌离子、铬离子浓度过高或过低都不利于亚心型大扁藻生长,甚至对藻细胞有毒害作用,造成藻细胞“半存活”、“半完整”、细胞死亡甚至溶解。而最适宜浓度可促进亚心型大扁藻生长。因此,该研究结果在生产实际中有两方面的作用:在渔业生产中用于培养亚心型大扁藻,锌离子、铬离子浓度应选择0.1ng/L为宜。在治理城市污水方面,污水中锌离子浓度1000ng/L以下、铬离子浓度100ng/L以下都可以选择亚心型大扁藻作为生物吸附剂,然后再用生物养鱼、化学沉淀、物理过滤等方法处理亚心型大扁藻,变废为宝。因此,充分利用各种海洋及淡水藻类对污水进行净化是一条高效、节能、无重复污染的理想途径,具有极大的开发价值。

### 参考文献

- [1]况琪军,夏宜.重金属对藻类的致毒效应[J].水生生物学报,1996,20(3):277-279.
- [2]陈明耀.生物饵料培养[M].北京:中国农业出版社,1995.
- [3]孙颖民,石玉.水产生物饵料培养实用技术手册[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [4]李庆彪.生物饵料培养技术[M].北京:中国农业出版社,1988.
- [5]苏秀榕,刘照彬.从超微结构变化研究Cu、Zn、Se4、Cd2对三角褐指藻的毒性效应[J].辽宁师范大学学报:自然科学版,2000,23(1):19.
- [6]HOLLIBAUGH J T. A comparison of the acute to: detrital often heavy metals to phytoplankton for Saurich Irlat [J]. B C Canada. Estuarine Coast Mar Sci, 1980,10(1):93,105.
- [7]潘进芬,林荣根.海洋微藻吸附重金属的机理研究[J].海洋科学,2000,24(2):31-34.
- [8]韩仕群,张振华,严少华.国内外利用藻类技术处理废水、净化水体研究现状[J].农业环境与发展,2000,63(1):13-16.
- [9]张建民,王刚,苗艳丽,等.用含氯化镉培养液培养塔胞藻的生物学效应[J].台湾海峡,2004,23(1):51-55.
- [10]ZHAO Y C. Effects of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  stress on growth and POD activity of tomato seedling [J]. Agricultural Science & Technology, 2008,9(2):106-108,125.
- [11]苏秀榕,迟庆宏,Paul K Chien.  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 对五种单细胞藻类光合色素含量的影响[J].水产科学,2001,20(1):1-4.
- [12]WANG L, WANG L S, SUN X D, et al. Effects of  $\text{Hg}^{2+}$  on isozymes of peroxidase, catalase and superoxide dismutase in wheat seedlings [J]. Agricultural Science & Technology, 2008,9(5):19-23.
- [13]周茂洪,吴皓,叶胜洪,等. $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 复合对沼泽红假单胞菌若干特性影响[J].湖州师范学院学报,2002,24(3):33-38.
- [2]杨克敌.微量元素与健康[M].北京:科学出版社,2003:230-256.
- [3]ZAKIA AMOR. Fluoride removal from brackish water by electro dialysis [J]. Desalination, 2000,133:215-223.
- [4]HUANG C, HU J J. Precipitate flotation of fluoride containing wastewater from a semiconductor manufacturer [J]. Water Res, 1999,33(16):3403-3412.
- [5]KUY, CHOU H M. The adsorption of fluoride ion from aqueous solution by activated alumina [J]. Water Air Soil Poll, 2002,133:349-360.
- [6]彭继荣,李珍,刘明阳,等.羟基磷灰石的湿法制备及其对 $\text{F}^-$ 的吸附特性研究[J].环境科学与技术,2005,4(28):33-35.
- [7]董岁明,李梦耀,董廷芳. D001改性树脂脱氟剂的制备及脱氟研究[J].地球科学与环境学报,2004,26(3):88-91.
- [8]徐飞高,吴敏.微生物降解三氟甲苯的研究[J].江苏环境科技,2003,16(3):4-8.
- [9]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(2):449-452.
- [10]张晓辉.氟污染及防治[J].邯郸职业技术学院学报,2001(1):67-69.
- [11]沈萍.微生物学试验[M].北京:高等教育出版社,2001:21.
- [12]李培.氟离子选择电极测定矿石中氟含量[J].广西化工,2000,29(2):41-42.
- [13]赵振国.吸附作用应用原理[M].北京:化学工业出版社,2005:11.
- [14]夏君,翟建国,马锦民,等.含锌废水的微生物处理技术[J].化工环保,2005,25(3):191-194.
- [15]潘响亮,王建龙,张道勇.硫酸盐还原菌混合菌群胞外聚合物对 $\text{Cu}^{2+}$ 的吸附和机理[J].水处理技术,2005,3(9):25-28.