

郭彤, 马玉龙, 朱宝长. 2009 载铜蒙脱石对大肠杆菌 K_{88} 吸附性能的研究 [J]. 环境科学学报, 29(3): 542-547

Guo T, Ma Y L, Zhu B C. 2009. Adsorption of *Escherichia coli* K_{88} on Cu^{2+} -loaded montmorillonite [J]. Acta Scientiae Circumstantiae 29(3): 542-547

载铜蒙脱石对大肠杆菌 K_{88} 吸附性能的研究

郭彤¹, 马玉龙^{2*}, 朱宝长¹

1 首都师范大学生命科学学院, 北京 100048

2 宁夏大学化学化工学院, 银川 750021

收稿日期: 2008-04-17 修回日期: 2008-09-08 录用日期: 2009-02-03

摘要: 以蒙脱石 (MMT) 和硫酸铜为主要原料, 制备了载铜蒙脱石 (MMT-Cu), 并对 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 的能力进行比较研究. 结果表明: MMT 和 MMT-Cu 对大肠杆菌 K_{88} 均有较强的吸附作用, 但载铜后蒙脱石吸附大肠杆菌的能力明显增强. 细菌与吸附材料作用 90 min 后可达到吸附平衡. 介质 pH 值、离子强度和吸附温度对 MMT 和 MMT-Cu 吸附细菌的能力均有不同程度的影响.

关键词: 铜离子; 蒙脱石; 大肠杆菌 K_{88} ; 吸附

文章编号: 0253-2468(2009)03-542-06 中图分类号: X171 文献标识码: A

Adsorption of *Escherichia coli* K_{88} on Cu^{2+} -loaded montmorillonite

GUO Tong¹, MA Yulong^{2*}, ZHU Baochang¹

1 College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100048

2 College of Chemistry and Chemical Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021

Received 17 April 2008 received in revised form 8 September 2008 accepted 3 February 2009

Abstract The adsorption capacity of Cu^{2+} -loaded montmorillonite (MMT-Cu) for *Escherichia coli* K_{88} was investigated and compared to the adsorption of *E. coli* K_{88} on montmorillonite alone (MMT). MMT-Cu was prepared from MMT and $CuSO_4$. Both MMT and MMT-Cu had a strong adsorption capacity for *E. coli* K_{88} , but the adsorptive capacity of MMT-Cu for *E. coli* K_{88} was higher than that of MMT. The adsorption processes between *E. coli* K_{88} and either MMT or MMT-Cu reached equilibrium after 90 min. Temperature, pH, and ionic strength in the medium affected the adsorptive capacities of MMT and MMT-Cu.

Keywords cupric ion; montmorillonite; *Escherichia coli* K_{88} ; adsorption

1 引言 (Introduction)

随着我国集约化养殖规模的进一步扩大, 养殖场有机废水排放量也在大幅度增加. 养殖场废水中含有大量病原微生物, 这些病原菌已对周围环境造成了危害. 因此, 需尽快研究养殖场废水综合治理的方法与技术.

研究表明, 蒙脱石 (MMT) 具有吸附、离子交换等多种特性 (Ma *et al.*, 2004). 胡秀荣等 (2002) 报道, MMT 对大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌无抑菌和杀菌活性, 只呈现较强的物理吸附作用, 但无静电吸附作用. 这是因为在生理条件下, 细菌细胞壁带负电荷 (Breen *et al.*, 1995), 而 MMT 微粒

也带负电荷 (马玉龙等, 2005). 鉴于上述原因, 本研究利用 MMT 的吸附和离子交换特性, 将具有杀菌作用的 Cu^{2+} 载入 MMT, 制备载铜蒙脱石 (MMT-Cu). 其中选 Cu^{2+} 的原因有: ① Cu^{2+} 是动植物必需的一种微量元素; ② Cu^{2+} 具有杀菌作用. 然后以养殖场废水中病原大肠杆菌 K_{88} (*Escherichia coli* K_{88}) 为试验菌株, 比较研究 MMT-Cu 与大肠杆菌 K_{88} 间的吸附作用, 为养殖场废水治理提供可借鉴数据.

2 材料及方法 (Materials and methods)

2.1 材料

MMT 选自内蒙古赤峰的钙基蒙脱石. MMT-Cu 按马玉龙等 (2005) 的方法制备. 经原子吸收光谱仪

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划项目 (Na NCET-06-0913)

Supported by the Program for New Century Excellent Talents in University (Na NCET-06-0913)

作者简介: 郭彤 (1973-), 女, E-mail: sxgtong@163.com; * 通讯作者 (责任作者), E-mail: nxylna@163.com

Biography: GUO Tong (1973-), female, E-mail: sxgtong@163.com; * Corresponding author, E-mail: nxylna@163.com

(AA-6501, 日本)测定, MMT-Cu 中铜含量为 3.8% (重量百分比)。采用气体吸附法比表面和孔径分布测定仪 (Autosorb-1, Quantachrome, 美国) 测得 MMT-Cu 和 MMT 的比表面积分别为 $653\text{m}^2\text{g}^{-1}$ 和 $760\text{m}^2\text{g}^{-1}$ (吸附用气体为 99.99% 的氮气, 用 BET 方法计算而得)。采用醋酸铵-乙醇定氮蒸馏法测得 MMT-Cu 和 MMT 的阳离子交换容量分别为 1.19mmol g^{-1} 和 1.05mmol g^{-1} 。

大肠杆菌 K_{88} 购自中国药品生物制品检定所。

2.2 方法

2.2.1 细菌悬液的制备 参照 Yee 等 (2000) 的方法制备大肠杆菌 K_{88} 细菌悬液。取保存的试验菌株, 解冻后接种于 MH 肉汤培养基 (Difco, 美国) 中, 37°C 震荡 (200r min^{-1}) 培养 24h, 然后转接到新鲜的 MH 肉汤培养基中, 继续培养 8h 使之进入对数生长期, 4000r min^{-1} 离心 10min, 收集细胞。用磷酸盐缓冲液洗涤 3 次后, 悬浮于 0.001mol L^{-1} 的 EDTA 溶液中 1h, 再用去离子水洗涤 3 次, 0.01mol L^{-1} NaNO_3 溶液洗涤 2 次, 最后将大肠杆菌 K_{88} 悬浮于 0.01mol L^{-1} NaNO_3 溶液中, 备用。在吸附实验过程中, 大肠杆菌 K_{88} 始终处于营养缺乏状态, 不再继续繁殖, 同时可保持大肠杆菌 K_{88} 细胞壁的完整结构。本实验室用电子显微镜观察, 发现处理后悬浮在 0.01mol L^{-1} NaNO_3 溶液中的大肠杆菌 K_{88} 形态完好。

2.2.2 细菌-矿物吸附率的测定 细菌-矿物吸附率的测定参照 Yee 等 (2000) 的方法进行。细菌初始湿重的计算是将悬浮于 0.01mol L^{-1} NaNO_3 溶液中的大肠杆菌 K_{88} 经 7000r min^{-1} 离心 30min 后称重 (W_1)。将未吸附的细菌从粘土和吸附的细菌中分离出来的方法是向细菌-粘土悬液底部注射 3mL 60% 的蔗糖溶液。因为蔗糖在溶液中的密度比细菌悬液大, 但比粘附细菌的粘土小, 因而蔗糖可产生密度梯度。与细菌结合的粘土会沉降到管底, 未吸附的细菌和水溶液在蔗糖层。蔗糖分离后, 将未吸附的细菌用吸管轻轻吸出, 7000r min^{-1} 离心 30min, 磷酸盐缓冲液洗涤 3 次后, 悬浮于 0.001mol L^{-1} 的 EDTA 溶液中 1h, 再用去离子水洗涤 3 次, 0.01mol L^{-1} NaNO_3 溶液洗涤 2 次, 7000r min^{-1} 离心 30min 后称重 (W_2)。按公式 (1) 求出矿物对细菌的吸附率 (η)。

$$\eta = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\% \quad (1)$$

2.2.3 原子力显微镜观察细菌-矿物的吸附 取已制备的大肠杆菌 K_{88} 悬液, 分别加入一定量的 MMT 或 MMT-Cu 37°C 震荡 90min 后, 加入 3mL 60% 蔗糖溶液, 此时与细菌结合的 MMT 或 MMT-Cu 会沉降到管底, 然后用 $10\mu\text{L}$ 移液枪从管底吸取细菌-矿物混合液 $5\mu\text{L}$ 滴在以云母片为基底的样品台上, 在原子力显微镜 (SPM-9500J3, 日本) 下, 利用接触恒力模式在室温、大气环境下成像, 观察细菌-MMT 或细菌-MMT-Cu 的吸附情况。扫描针尖为商用硅针。

2.2.4 吸附时间对 MMT 或 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力的影响 取已知初始湿重的大肠杆菌 K_{88} 悬浮于 10mL (0.01mol L^{-1}) NaNO_3 溶液中, 再加入 0.10g MMT 或 MMT-Cu 37°C 震荡, 分别在 0min, 10min, 20min, 40min, 60min, 90min, 120min, 150min 取出。向细菌-矿物悬液底部注射 3mL (60%) 的蔗糖溶液。蔗糖分离后, 将未吸附的细菌吸出, 经 7000r min^{-1} 离心 30min 后称重。绘制吸附率-吸附时间曲线图。

2.2.5 MMT 或 MMT-Cu 对不同浓度大肠杆菌 K_{88} 的吸附能力 取不同初始湿重 (0.050g , 0.10g , 0.20g , 0.40g , 0.80g , 1.60g) 的大肠杆菌 K_{88} 分别悬浮于 10mL (0.01mol L^{-1}) NaNO_3 溶液中, 制得不同浓度的细菌悬液, 分别加入 0.10g MMT 或 0.10g MMT-Cu 37°C 震荡 90min, 然后向细菌-矿物悬液底部注射 3mL (60%) 的蔗糖溶液。蔗糖分离后, 将未吸附的细菌吸出, 经 7000r min^{-1} 离心 30min 后, 称重。绘制吸附率-细菌浓度曲线图。

2.2.6 吸附条件对 MMT 或 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力的影响 取已知初始湿重的大肠杆菌 K_{88} 悬浮于 10mL (0.01mol L^{-1}) NaNO_3 溶液中, 再加入 0.10g 的 MMT 或 MMT-Cu 分别在不同温度 (4°C 、 15°C 、 25°C 、 37°C)、介质 pH ($2 \sim 11$) 和离子强度 (mol L^{-1}) (0.01 , 0.02 , 0.04 , 0.08 , 0.12 , 0.16 , 0.20mol L^{-1} NaNO_3) 下震荡 90min 不同条件下材料吸附细菌的测定过程同 2.2.2 节所述, 分别绘制吸附率-温度、吸附率-pH 和吸附率-离子强度的曲线图。介质 pH 值用稀 NaOH 或稀 HCl 溶液调节, 介质离子强度用不同浓度的 NaNO_3 溶液来表示。

2.3 数据处理

每个实验均重复 3 次, 文中曲线图用 3 个重复实验数据的平均值 \pm 标准差绘制。

3 结果 (Results)

3.1 MMT和 MMT-Cu与大肠杆菌 K_{88} 间吸附作用的原子力显微镜图

图 1是大肠杆菌 K_{88} 、MMT-Cu和 MMT的原子力显微镜图.图 2是 MMT-大肠杆菌 K_{88} 和 MMT-Cu-大肠杆菌 K_{88} 吸附作用的原子力显微镜图.可以看到,在大肠杆菌 K_{88} 周围吸附、聚集着许多 MMT或 MMT-Cu微粒.图中的大亮点表示细菌,周围的小亮点分别表示 MMT或 MMT-Cu微粒.说明 MMT-Cu或 MMT与大肠杆菌 K_{88} 间均有一定的吸附作用.

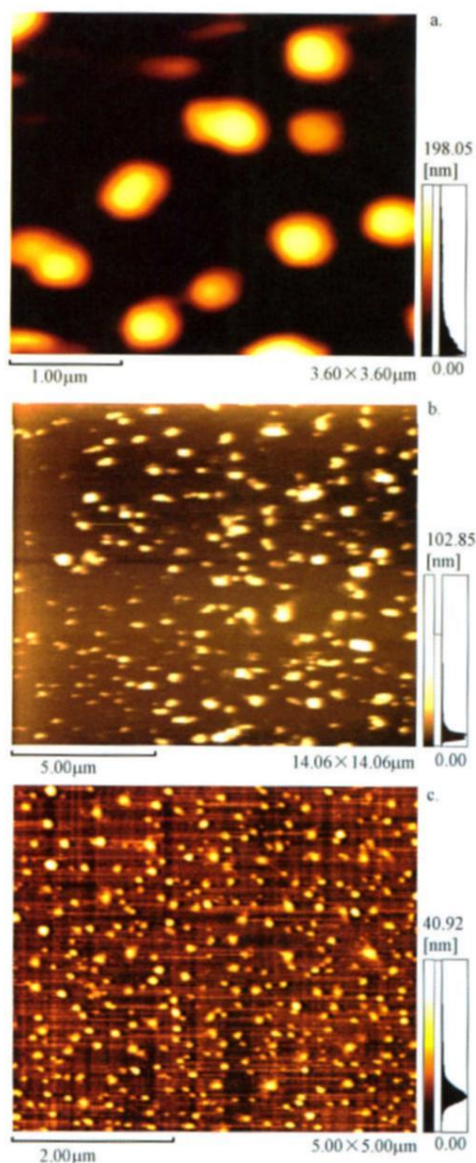


图 1 大肠杆菌 K_{88} (a), MMT-Cu (b) 和 MMT (c) 的原子力显微镜图

Fig 1 AFM image of *E. coli* K_{88} (a), MMT-Cu (b) and MMT (c)

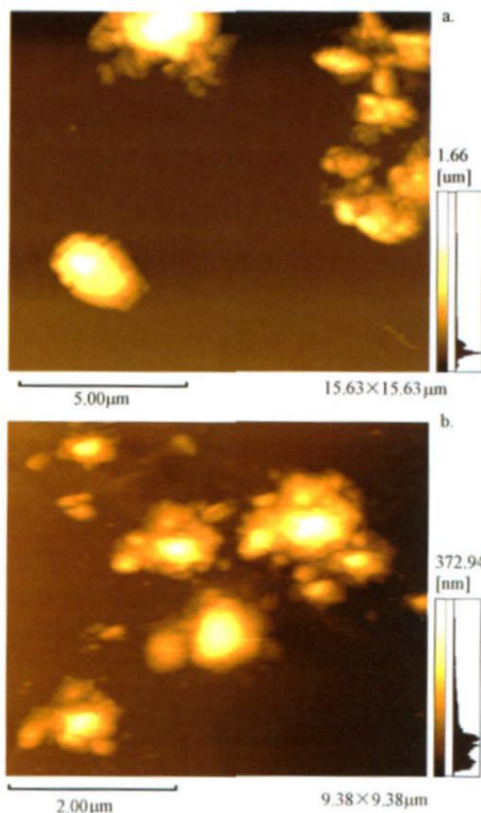


图 2 MMT (a)和 MMT-Cu (b)吸附大肠杆菌 K_{88} 的原子力显微镜图

Fig 2 AFM images of MMT and MMT-Cu after adsorption of *E. coli* K_{88}

3.2 吸附时间对 MMT或 MMT-Cu吸附能力的影响

MMT或 MMT-Cu对大肠杆菌 K_{88} 的吸附率随时间的变化情况见图 3所示.由图 3可见, MMT或 MMT-Cu对大肠杆菌 K_{88} 均有较强的吸附作用,随作

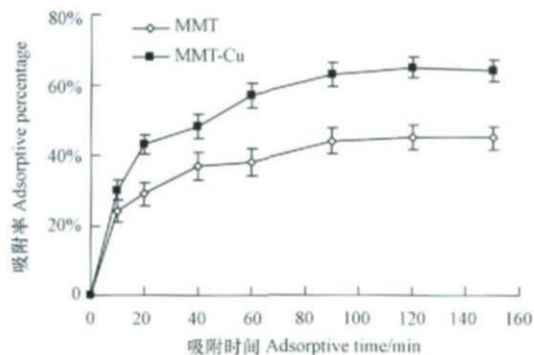


图 3 吸附时间对 MMT或 MMT-Cu吸附大肠杆菌 K_{88} 的影响

Fig 3 Effect of adsorption time on adsorption of *E. coli* K_{88} on MMT and MMT-Cu

用时间的延长, 吸附率逐渐增加, 达吸附平衡所用的时间大约在 90min 左右. 由此可见, MMT-Cu 对大肠杆菌 K_{88} 的吸附能力要明显高于 MMT.

3.3 MMT 或 MMT-Cu 对不同浓度细菌的吸附能力

MMT 或 MMT-Cu 对不同浓度细菌的吸附能力见图 4. 图 4 显示, 在所试细菌浓度范围内, 随着细菌浓度的增加, MMT 或 MMT-Cu 对大肠杆菌 K_{88} 的吸附率也随之增加. 而且, MMT-Cu 对大肠杆菌 K_{88} 的吸附能力要明显高于 MMT.

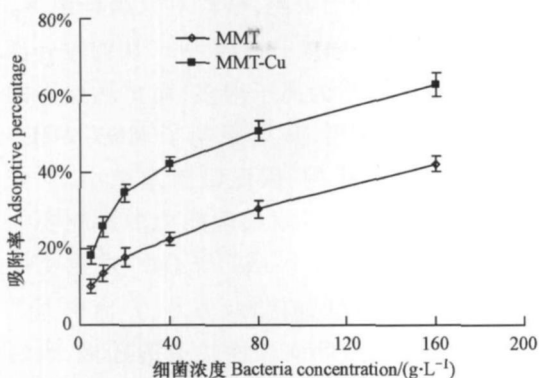


图 4 MMT 或 MMT-Cu 对不同浓度大肠杆菌 K_{88} 的吸附率

Fig 4 Effect of bacteria concentration on MMT and MMT-Cu adsorption of *E. coli* K_{88}

3.4 介质 pH 对 MMT 或 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力的影响

图 5 为介质 pH 对 MMT 和 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力的影响. 由图 5 可见, 介质 pH 值对 MMT 或 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力均有一定的影响. 对于 MMT-Cu 而言, 在 $pH < 4$ 或 $pH > 9$ 时, 其吸附大肠杆菌的能力较弱; 对于 MMT 而言, 在 $pH = 2$ 或 $pH > 9$ 时, 其吸附大肠杆菌的能力相对较弱. 另

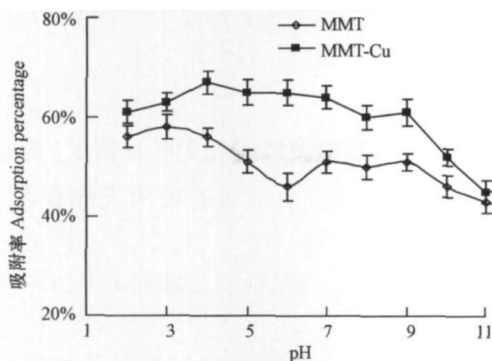


图 5 介质 pH 对 MMT 或 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力的影响

Fig 5 Effect of pH on adsorption of *E. coli* K_{88} on MMT and MMT-Cu

外, 介质 pH 在 6 左右时, MMT 与细菌间出现吸附低谷.

3.5 介质离子强度对 MMT 或 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力的影响

介质离子强度对所试材料吸附大肠杆菌 K_{88} 能力的影响见图 6. 由图 6 可见, 随着介质离子强度的增大, MMT 或 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 的能力均呈下降趋势, 但介质离子强度对 MMT-Cu 吸附细菌能力的影响程度要大于对 MMT 的影响.

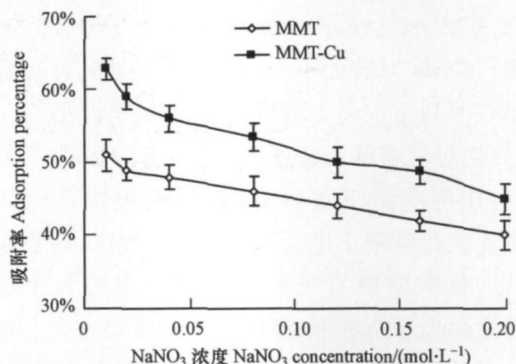


图 6 介质离子强度对 MMT 和 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力的影响

Fig 6 Effect of ionic strength on adsorption of *E. coli* K_{88} on MMT and MMT-Cu

3.6 温度对 MMT 或 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力的影响

温度对 MMT 或 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力影响的测定结果见图 7. 由图 7 可见, 在实验温度范围内 (277K、288K、298K 和 310K), MMT 或 MMT-Cu 对大肠杆菌 K_{88} 的吸附能力随温度的升高而有所增加. 此外, 随吸附温度的上升, MMT 或 MMT-Cu 对细菌吸附率增加的幅度也比较接近.

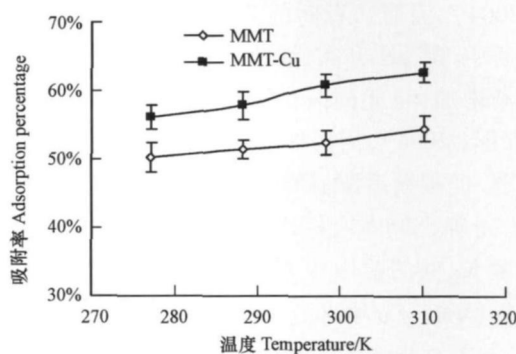


图 7 温度对 MMT 和 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 能力的影响

Fig 7 Effect of temperature on adsorption of *E. coli* K_{88} on MMT and MMT-Cu

4 讨论 (Discussion)

4.1 MMT 或 MMT-Cu 对大肠杆菌 K_{88} 的吸附性能

本实验采用原子力显微镜观察发现, 不论是 MMT 还是 MMT-Cu 均与大肠杆菌 K_{88} 能发生吸附作用, 二者与大肠杆菌 K_{88} 作用 90min 后达到吸附平衡, 但 MMT-Cu 吸附大肠杆菌的能力要明显高于 MMT 的吸附能力. 然而, 本研究所试材料的比表面积测定结果表明, MMT 的比表面积大于 MMT-Cu. 比表面积大小反映了材料表面张力及与吸附物间 van der Waals 力的大小, 说明载铜后蒙脱石表面张力下降. 但马玉龙等 (2005) 报道, 载铜蒙脱石 Zeta 电位的绝对值要低于蒙脱石, 说明有少量 Cu^{2+} 可通过静电作用吸附于蒙脱石的层间、棱边甚至微孔中, 使蒙脱石所带正电荷密度增加. 所以, 就静电吸附而言, 载铜蒙脱石吸附细菌的能力要大于蒙脱石. 因为在生理条件下, 细菌细胞壁带负电荷 (Breen *et al.*, 1995). 可见, 虽然载铜后蒙脱石与细菌间 van der Waals 作用力下降, 但其与细菌间的静电作用力增强, 总体来说, 载铜蒙脱石吸附细菌的能力要高于蒙脱石.

4.2 介质 pH 对 MMT 或 MMT-Cu 吸附细菌能力的影响

Breen 等 (1995) 和 Yee 等 (2000) 报道: 介质 pH 值主要通过改变细菌和矿物质表面所带正负电荷密度, 进而影响细菌与矿物质间的静电吸附. 本研究表明, 介质 pH 对 MMT 和 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 的能力有一定的影响. 在 $pH = 2$ 时, 由于大肠杆菌 K_{88} 细胞壁是中性的 (Mullen *et al.*, 1989; Fowle *et al.*, 1999), 而 MMT 带负电荷 (Stotzy, 1989; 郭彤, 2004), 因而二者间的静电吸附作用较弱. 在酸性介质中, 随 pH 升高, 细菌细胞表面带的负电荷密度逐渐增加, 与此同时, MMT 所带负电荷密度也增加 (郭彤, 2004), 因而细菌与 MMT 间的静电吸附能力减弱. 但载铜后蒙脱石表面所带正电荷密度增加 (马玉龙等, 2005), 相比 MMT 而言, MMT-Cu 与大肠杆菌 K_{88} 间的静电吸附作用增强. 而在 $pH < 4$ 的介质中, MMT-Cu 中部分 Cu^{2+} 可能会溶出, 使 MMT-Cu 表面正电荷密度降低, 其吸附大肠杆菌的能力有所下降. 在 $pH > 9$ 的介质中, 由于 Cu^{2+} 与 OH^- 生成 $Cu(OH)_2$ 沉淀, 从而使 MMT-Cu 与大肠杆菌 K_{88} 间的吸附作用下降. 另外, 介质 pH 在 6 左右时, MMT 与细菌间出现吸附低谷, 这或许与蒙脱石的零电荷

点有关, 因为当吸附体系的 pH 值处于蒙脱石的零电荷点时, 蒙脱石的表面电荷为零, 此时其静电吸附能力相对较弱.

4.3 介质离子强度对 MMT 或 MMT-Cu 吸附细菌能力的影响

本研究表明, 随着离子强度的增加, MMT 或 MMT-Cu 吸附大肠杆菌 K_{88} 的能力呈下降趋势. 这可用“双电层”理论加以解释 (Van Loosdrecht *et al.*, 1989). 在离子强度低时, 颗粒表面间的双电层相对较厚, 这种趋势有利于吸附, 材料对大肠杆菌 K_{88} 的吸附率较大. 当离子强度升高时, Na^+ 从颗粒表面扩散开, 使 Stern 层吸附的离子增多, 而扩散层中的部分离子被压入紧密层, 从而限制了 MMT、MMT-Cu 和细菌表面的相互作用, 因而吸附率减小. 但介质离子强度对 MMT-Cu 吸附细菌能力的影响要大于 MMT, 可能是由于溶液中 Na^+ 与 Cu^{2+} 发生交换反应, 改变了 MMT-Cu 表面电性. 另外, 介质中 Na^+ 可促进 Cu^{2+} 由 MMT 层间向表面棱边的迁移, 表面棱边 Cu^{2+} 浓度的增加会影响 MMT 的表面电荷 (Morton *et al.*, 2001).

4.4 温度对 MMT 或 MMT-Cu 吸附细菌能力的影响

在实验温度范围内 ($4^{\circ}C$ 、 $15^{\circ}C$ 、 $25^{\circ}C$ 和 $37^{\circ}C$), MMT 或 MMT-Cu 对大肠杆菌 K_{88} 的吸附能力随温度的升高而有所增加. 这是由于温度升高, 吸附剂向细菌表面扩散的速率加快, 扩散更加完全, 有利于吸附. 此外, 随温度的上升, MMT 或 MMT-Cu 对细菌吸附率增加的幅度也比较接近, 说明温度对蒙脱石基材料吸附细菌性能的影响程度相近, 也反映了吸附温度主要通过提高细菌和材料的扩散速率来提高二者间的吸附作用, 而对矿物本身的影响可能甚微.

5 结论 (Conclusions)

- 1) 蒙脱石与载铜蒙脱石对大肠杆菌 K_{88} 均有一定的吸附作用, 但载铜后蒙脱石吸附大肠杆菌 K_{88} 的能力明显增强.
- 2) 大肠杆菌 K_{88} 与载铜前后蒙脱石作用 90min 后均可达吸附平衡.
- 3) 介质 pH 值、离子强度和温度对载铜前后蒙脱石吸附细菌的能力均有不同程度的影响. 在 $pH < 4$ 或 $pH > 9$ 的介质中, 载铜蒙脱石对大肠杆菌 K_{88} 的吸附能力下降; 而在 $pH = 6$ 左右的介质中, MMT 与细菌间出现吸附低谷, 吸附能力明显降低. 随着介

质离子强度的减弱或吸附温度的升高, MMT 或 MMT-Cu 对大肠杆菌 K_{88} 的吸附能力呈上升趋势.

责任作者简介: 马玉龙 (1966-), 男, 教授, 主要从事生物化工、废物治理与资源化利用方面的研究工作.

参考文献 (References):

- Breen P J, Cmpadre C M, Fifer E K, *et al* 1995. Quaternary ammonium compounds inhibit and reduce the attachment of viable *Salmonella typhimurium* to poultry tissues [J]. *Journal of Food Science* 60: 1191—1196
- Fowle D A, Fein J B 1999. Competitive adsorption of metal cations onto two gram positive bacteria: Testing the chemical equilibrium model [J]. *Journal of Geochemistry and Cosmochimica Acta* 63: 3059—3067
- 郭彤. 2004 硅酸盐纳米微粒对断奶仔猪肠道病原菌吸附、杀菌机理的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 71—110
- Guo T. 2004 Study on the mechanisms of adsorptive and antibacterial activity against intestinal pathogen of Cu (II)-exchanged silicate nanoparticles in weanling pigs [D]. Hangzhou Zhejiang University, 71—110 (in Chinese)
- 胡秀荣, 吕光烈, 陈林深, 等. 2002 天然蒙脱石与细菌相互作用机理的研究 [J]. *药学报*, 37(9): 718—720
- Hu X R, L G L, Chen L S, *et al* 2002. Study of the mechanism of the interaction between montmorillonite and bacterium [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica* 37(9): 718—720 (in Chinese)
- 马玉龙, 郭彤, 许梓荣, 等. 2005 载铜蒙脱石的制备与表征 [J]. *硅酸盐学报*, 33(8): 1041—1044
- Ma Y L, Guo T, Xu Z R, *et al* 2005. Preparation and characterization of copper-loaded montmorillonite [J]. *Journal of the Chinese Ceramic Society*, 33(8): 1041—1044 (in Chinese)
- Ma Y L, Xu Z R, Guo T, *et al* 2004. Adsorption of methylene blue on Cu(II)-exchanged montmorillonite [J]. *Journal of Colloid and Interface Science* 280: 283—288
- Morton J D, Semrau J D, Hayes K F. 2001. An X-ray absorption spectroscopy study of the structure and reversibility of copper adsorbed to montmorillonite clay [J]. *Journal of Geochemistry and Cosmochimica Acta* 65: 2709—2722
- Mullen M D, Wolf D C, Ferris F G. 1989. Bacterial sorption of heavy metals [J]. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 55: 3143—3149
- Yee N, Fein J B, Daughney C J 2000. Experimental study of the pH, ionic strength and reversibility behavior of bacteria-mineral adsorption [J]. *Journal of Geochemistry and Cosmochimica Acta* 64: 609—617
- Stotzky G. 1989. Surface interactions between clay minerals and microbes: viruses and soluble organics and the probable importance of these interactions to the ecology of microbes in soil. In: Berkeley R C W (Ed), *Microbial Adhesion to Surface* [M]. Chichester, UK: Ellis Horwood, 231—247
- Van Loosdrecht M C C, Lykkema J, Norde W. 1989. Bacterial Adhesion: A physicochemical approach [J]. *Microbial Ecology*, 17: 1—15