

2-28-2015

## Adsorption conditions optimization of the attapulgite on Lactobacillus cells

ZHAO Yuping

*School of Life Science and Chemical Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an, Jiangsu 223003, China*

TANG Zixin

*School of Life Science and Chemical Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an, Jiangsu 223003, China*

YANG Li

*School of Life Science and Chemical Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an, Jiangsu 223003, China*

*See next page for additional authors*

Follow this and additional works at: <https://www.ifoodmm.cn/journal>



Part of the [Food Science Commons](#)

---

### Recommended Citation

Yuping, ZHAO; Zixin, TANG; Li, YANG; and Yunqi, FENG (2015) "Adsorption conditions optimization of the attapulgite on Lactobacillus cells," *Food and Machinery*: Vol. 31: Iss. 1, Article 10.

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2015.01.010

Available at: <https://www.ifoodmm.cn/journal/vol31/iss1/10>

This Fundamental Research is brought to you for free and open access by Food and Machinery. It has been accepted for inclusion in Food and Machinery by an authorized editor of Food and Machinery.

---

## Adsorption conditions optimization of the attapulgite on Lactobacillus cells

### Authors

ZHAO Yuping, TANG Zixin, YANG Li, and FENG Yunqi

# 凹凸土对乳酸球菌的吸附条件优化

## Adsorption conditions optimization of the attapulgite on *Lactobacillus* cells

赵玉萍 唐梓鑫 杨莉 冯云琪

ZHAO Yu-ping TANG Zi-xin YANG Li FENG Yun-qi

(淮阴工学院生命科学与化学工程学院, 江苏 淮安 223001)

(School of Life Science and Chemical Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an, Jiangsu 223003, China)

**摘要:**优化凹凸土对乳酸球菌的最佳吸附条件。通过比较不同种类和浓度的酸和碱预处理凹凸土的结果可知,采用 1 mol/L  $H_3PO_4$  预处理的凹凸土,对乳酸球菌的吸附效果最好。在 pH 6、0.4 mol/L 的磷酸盐缓冲液体系统中,凹凸土对乳酸球菌的吸附在 60 min 内基本完成,达到吸附平衡,是最佳的吸附条件。凹凸土对乳酸球菌的吸附能够较好地符合 Langmuir 吸附等温方程。随着温度的升高,凹凸土对乳酸球菌的平衡吸附量增大,该吸附过程为吸热过程。当乳酸球菌的浓度增大时,平衡吸附量也在增大。凹凸土对乳酸球菌的吸附过程属于优惠吸附。

**关键词:**凹凸土;乳酸球菌;吸附

**Abstract:** The best adsorption conditions of the attapulgite on *Lactobacillus* cells were optimized. Different kinds and concentrations of acids and alkalis were used to pretreat the attapulgite, the results showed that 1 mol/L  $H_3PO_4$  was the best. In pH 6, 0.4 mol/L phosphate buffer system, adsorption of attapulgite on *Lactobacillus* cells basically completed in 60 min, and reached to the adsorption equilibrium. Adsorption of attapulgite on *Lactobacillus* cells could well fit the Langmuir adsorption isotherm equation. With the increase of temperature, the equilibrium adsorption of attapulgite on *Lactobacillus* cells increased higher, which was an endothermic process. When *Lactobacillus* cells concentration increases, the equilibrium adsorption capacity was also increasing. The adsorption process belonged to the preferential adsorption.

**Keywords:** attapulgite; *Lactobacillus*; adsorption

凹凸棒石黏土是一种具有一维纳米棒晶结构的天然非金属富镁铝硅酸盐黏土矿物,简称凹凸土。凹凸土显微结构包括 3 个层次:凹凸土的基本结构单元是微棒状或纤维状的一维纳米结构,是针状晶体;由棒晶结构紧密平行聚集而形成了棒晶束;棒晶束间或棒晶间相互聚集堆积成了各种层链状的聚

集体<sup>[1-3]</sup>。由于凹凸土晶体颗粒细小,因此外表面积很大,而其特有的晶体结构和堆积方式又形成了大量的孔道结构,因此内表面积也很大,使得凹凸土具有很强的吸附能力<sup>[1,2]</sup>。另外,凹凸土还具有很好的生物亲和性<sup>[3]</sup>以及减少益生菌受胃肠道逆环境的损伤<sup>[4,5]</sup>。目前鲜有关于凹凸土对益生菌吸附性能和保护机理的报道。本研究拟优化凹凸土对乳酸球菌的吸附条件,并对相关吸附性能进行研究,旨在为凹凸土作为益生菌保护剂的机理研究作一定的参考。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 材料与仪器

乳酸球菌:本实验室保藏;

紫外光栅分光光度计:752 型,上海精密科学仪器有限公司;

台式高速冷冻离心机:TGC-16G-A 型,上海安亭科学仪器厂;

恒温双向磁力搅拌器:90-3 型,上海振荣科学仪器有限公司;

MRS 培养基<sup>[6]</sup>:蛋白胨 10 g,牛肉膏 10 g,酵母膏 5 g,磷酸氢二铵 2 g,葡萄糖 20 g,乙酸钠 5 g,吐温-80 1 mL,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.58 g,  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  0.25 g,  $H_2O$  1 L, pH 6.2~6.4, 121 °C 灭菌 15 min;

蛋白胨、牛肉膏、酵母膏、葡萄糖:生化试剂,日本 Sigma 公司;

其他试剂:均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.2 试验方法

1.2.1 凹凸土的纯化 将未经处理的凹凸土研磨,过 200 目筛,以 10% 的量加入去离子水,磁力搅拌器搅拌 24 h 后,静置 4 h,取中间层凹凸土悬液,以 10% 的量加入去离子水,重复 3 次<sup>[4]</sup>。

1.2.2 菌悬液的配置 取 10 mL 对数生长期中后期菌液,此时,菌悬液在 600 nm 处测定吸光度 OD 值为 1.3 左右,菌

基金项目:江苏省科技支撑计划——农业部分(编号:BE2013357);

江苏省农业科技自主创新资金(编号:CX(13)3068)

作者简介:赵玉萍(1977—),女,淮阴工学院副教授。

E-mail: zhaoyuping4@126.com

收稿日期:2014-07-26

落为  $1.68 \times 10^{10}$  CFU, 于 5 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 用无菌生理盐水洗涤深沉两遍, 最后将菌体悬浮于生理盐水中, 配制成所需浓度。

1.2.3 离心条件的确定 将 OD 值相近的菌悬液和凹凸土悬液分别置于不同离心管, 并分别加入 80% 的蔗糖溶液, 离心, 测上清液 OD 值。当凹凸土悬液上清液 OD 值接近于 0 而菌悬液上清液 OD 值与原来接近时, 该离心条件作为测定吸附的条件<sup>[7]</sup>。

1.2.4 凹凸土活化最佳酸碱的确定 以浓度分别为 0.6, 0.8, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 mol/L 的  $H_2SO_4$ 、 $H_3PO_4$ 、HCl、 $CH_3COOH$  和浓度分别为 3.0, 5.0, 8.0, 10.0, 15.0 mol/L 的 NaOH 和 KOH 活化处理凹凸土, 液固比为 10 : 1 (V : m), 活化 30 min, 再用生理盐水离心洗涤 2 次, 待用<sup>[8,9]</sup>。

将活化好的凹凸土和菌悬液离心后的菌泥一起悬浮在 10 mL 的生理盐水中, 振荡器充分混合均匀后转移到 50 mL 三角瓶中, 放置于 37 °C, 150 r/min 的摇床上振荡 2 h。振荡结束后, 取振荡后的混合液至离心管中, 在最佳离心条件下离

心, 取上清液, 测其 OD 值, 确定凹凸土预处理的最佳酸或碱。

1.2.5 缓冲液最佳摩尔浓度的确定 将活化好的凹凸土和菌悬液离心后的菌泥一起悬浮在摩尔浓度分别为 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mol/L 的  $NaH_2PO_4$ — $Na_2HPO_4$  缓冲液中, 按 1.2.4 确定最佳摩尔浓度。

1.2.6 缓冲溶液最佳 pH 和最佳吸附时间的确定 将活化好的凹凸土和菌泥一起悬浮在 pH 分别为 6.0, 7.0, 8.0 的无菌  $NaH_2PO_4$ — $Na_2HPO_4$  缓冲液中, 于 37 °C, 150 r/min 的摇床上分别振荡 20, 40, 60, 80, 100, 120 min, 按 1.2.4 方法确定最佳 pH。

1.2.7 吸附等温线的绘制 在上述最佳吸附条件下, 将凹凸土悬浮于最佳缓冲体系中, 浓度为 4 g/L, 分别吸附浓度为 4.4, 4.8, 5.2, 5.6, 6.0, 6.4, 6.8, 7.2 g/L 的乳酸球菌, 充分吸附, 考察温度、菌体浓度对吸附的影响, 绘制吸附等温线<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 最佳离心条件的确定

凹凸土悬液和菌悬液 OD 值为 1.269, 在不同转速下离心不同时间后, 测上清液 OD 值, 所得结果见表 1。

表 1 不同离心条件下悬液的 OD 值

Table 1 Determination of centrifugal conditions

时间/min	700 r/min		800 r/min		900 r/min		1 000 r/min	
	乳球菌	凹凸土	乳球菌	凹凸土	乳球菌	凹凸土	乳球菌	凹凸土
1	1.267	0.483	1.255	0.345	1.153	0.106	1.051	0.096
2	1.258	0.085	1.215	0.045	0.937	0.041	0.799	0.033
3	1.147	0.031	1.042	0.029	0.765	0.030	0.615	0.021

由表 1 可知, 当在 800 r/min 离心 2 min 时, 菌的 OD 值接近起始值, 说明菌基本没有沉降, 而凹凸土 OD 值接近 0, 说明该条件下凹凸土基本沉降, 故最佳离心转速为 800 r/min, 离心时间为 2 min。

### 2.2 预处理凹凸土最佳酸或碱的确定

用不同浓度的酸和碱处理纯化凹凸土, 再用预处理过的凹凸土吸附乳酸球菌, 在 800 r/min 离心 2 min, 测上清液吸光度值, 结果见图 1、2。

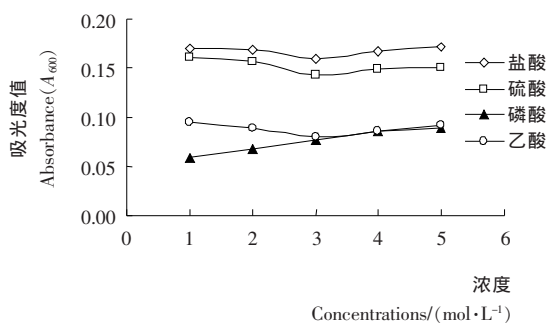


图 1 不同酸预处理凹凸土悬液吸光度值

Figure 1 Results of different acids pretreating attapulgite

综合图 1、2 可知, 用碱预处理凹凸土对乳酸球菌的吸附效果普遍不如酸。盐酸和硫酸预处理效果又不如磷酸和乙酸。由图 1 还可知, 用浓度为 1 mol/L 的磷酸处理凹凸土对乳酸球菌的吸附效果最佳, 吸光度值最小。酸或碱预处理凹凸土, 可除去分布于凹凸土微观孔道结构中的杂质, 疏通孔道, 从而有利于吸附过程中吸附质分子在孔道结构中的扩散。用酸处理的效果较好, 还可能是因为  $H^+$  置换了凹凸土层结构中的阳离子, 如  $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Na^+$ 、 $K^+$  等, 使孔容积得到了进一步增

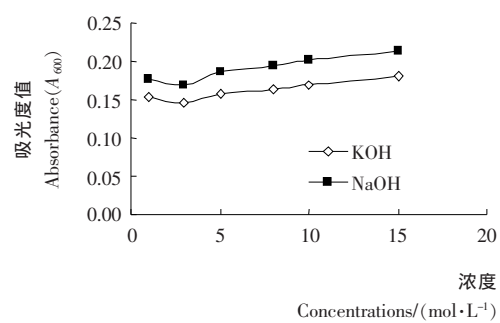


图 2 不同碱预处理凹凸土悬液吸光度值

Figure 2 Results of different alkalis pretreating attapulgite

大,并且使原来层间的键力得到了削弱,使得层状晶格得到了一定程度的开裂,孔道得到进一步的疏通,比表面积得到了进一步的增加,提高了吸附能力<sup>[11]</sup>。

### 2.3 缓冲液最佳摩尔浓度的确定

为探究磷酸缓冲液的摩尔浓度对凹土吸附乳酸球菌性能的影响,选择 pH 6,研究缓冲液不同摩尔浓度对吸附效果的影响,测定上清液吸光度值,结果见图 3。

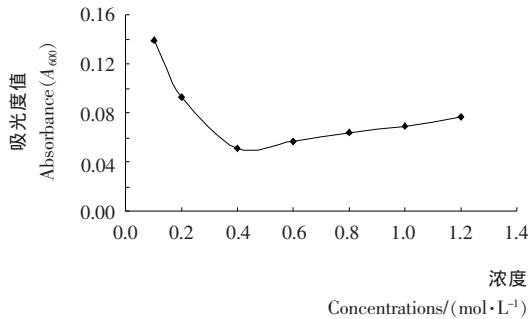


图 3 缓冲液的摩尔浓度对吸附效果的影响

Figure 3 Effects of different concentrations of buffer on the adsorption

由图 3 可知,随着缓冲液摩尔浓度的增加,吸光度值先减少后增加,即凹土对乳酸球菌的吸附先增大,后减小,当缓冲液摩尔浓度为 0.4 mol/L 时,吸附率达到最大,因此凹土吸附乳酸球菌时缓冲液的最佳摩尔浓度为 0.4 mol/L。

### 2.4 缓冲液最佳 pH 和最佳吸附时间的确定

选择摩尔浓度为 0.4 mol/L 的磷酸盐缓冲液,研究不同的 pH 对凹土吸附乳酸球菌的影响,结果见图 4。

由图 4 可知,pH=6 和 7 时,吸附在 60 min 时基本达到饱和,而 pH=8 时,吸附在 40 min 就达到饱和,但饱和和吸附效果没有微酸性和中性好,因此选择 pH 6 作为最佳吸附 pH。同时可以看出,凹土对乳酸球菌的吸附,随着吸附时间的增加,吸附量先逐渐增大,然后趋于稳定,之后吸附量保持不变。前 60 min,凹土对乳酸球菌的吸附很快,之后吸附速度明显变慢,60 min 基本达到吸附平衡,因此凹土对乳酸球菌的最佳吸附时间为 60 min。

### 2.5 吸附等温线结果

选择几组不同浓度的乳酸球菌菌液进行等温吸附试验,以平衡质量浓度  $p_e$  对平衡吸附量  $q_e$  作图,得到凹土吸附乳酸球菌的吸附等温线,见图 5。

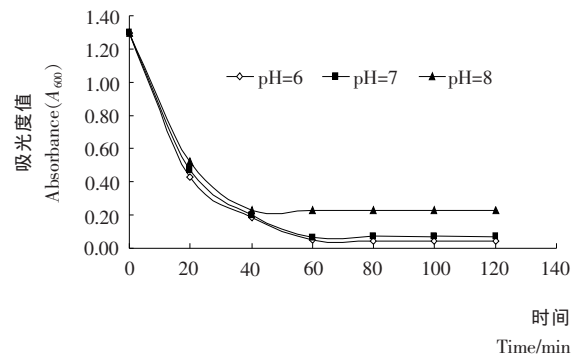


图 4 不同 pH 和时间的缓冲液对吸附效果的影响

Figure 4 Effects of different pH of buffer and time on the adsorption

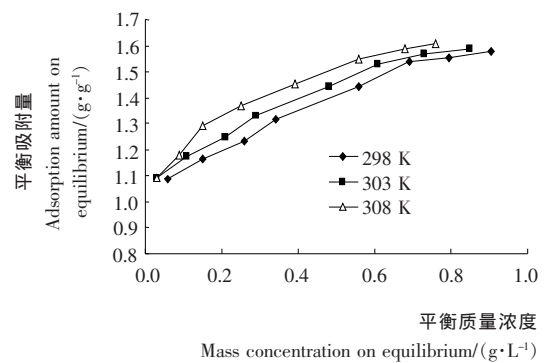


图 5 吸附等温线

Figure 5 Adsorption isotherm curve

由图 5 可知,随着温度的升高,凹土对乳酸球菌的吸附量增大,而且随着平衡浓度的增大,平衡吸附量先增大,然后趋于平缓。

按照公式和表中数据进行 Langmuir 和 Freundlich 方程线性拟合,结果见表 2、3。

对比表 2 和表 3 可知,表 2 中理论推导的单层饱和吸附量  $q_m$  与试验所得饱和吸附量  $q$  比较接近,且  $R_1^2$  均普遍大于  $R_2^2$ ,因而在试验研究的温度和浓度范围内,凹土对乳酸球菌的吸附能够较好地符合 Langmuir 吸附等温方程。随着温度升高,单层饱和吸附量  $q_m$  增大,表明此吸附是吸热过程,即升温有利于凹土对乳酸球菌的吸附。由于  $b > 0$ ,且有  $0 < R_L = 1/(1 + bp_0) < 1$ ,即凹土对乳酸球菌的吸附为优惠吸附。

表 2 Langmuir 线性拟合结果

Table 2 The fitting results of Langmuir

温度/K	$q/(g \cdot g^{-1})$	回归方程	$R_1^2$	$q_m/(g \cdot g^{-1})$	$b/(L \cdot g^{-1})$
298	1.578	$y=0.5430x+1.0805$	0.9750	1.84	0.503
303	1.588	$y=0.5624x+1.1143$	0.9782	1.78	0.504
308	1.610	$y=0.6204x+1.1337$	0.9575	1.61	0.548

表3 Freundlich 线性拟合结果

Table 3 The fitting results of Freundlich

温度/K	回归方程	$R_2^2$	K	n
298	$y=0.1329x+0.4212$	0.9388	0.0954	7.524
303	$y=0.1109x+0.4345$	0.9282	0.1038	9.017
308	$y=0.1152x+0.4633$	0.9551	0.1235	8.681

### 3 结论

本研究对凹凸土进行纯化,研究了纯化凹凸土对乳酸球菌的最佳吸附条件。主要考察了吸附时间、缓冲液 pH 值、摩尔浓度以及温度等因素对凹凸土吸附乳酸球菌的影响。通过用  $H_2SO_4$ 、 $H_3PO_4$ 、 $HCl$ 、 $CH_3COOH$ 、 $KOH$  和  $NaOH$  预处理凹凸土可知,采用 1 mol/L 的  $H_3PO_4$  预处理凹凸土,对乳酸球菌的吸附效果最好。在 pH 6.0、0.4 mol/L 的磷酸盐缓冲液体系中,凹凸土对乳酸球菌的吸附在 60 min 内基本完成,达到吸附平衡,是最佳的吸附条件。在试验的 pH 范围内,凹凸土对乳酸球菌的吸附速率随 pH 的升高而变慢,说明吸附适宜在偏酸性的条件下进行。凹凸土对乳酸球菌的吸附能够较好地符合 Langmuir 吸附等温方程。随着温度的升高,凹凸土对乳酸球菌的平衡吸附量增大,表明此吸附是吸热过程。当乳酸球菌的浓度增大时,平衡吸附量也在增大。凹凸土对乳酸球菌的吸附过程属于优惠吸附。

### 参考文献

- 1 杨利营, 盛京. 凹凸棒粘土的研究开发应用[J]. 江苏化工, 2001, 29(6): 33~37.
- 2 樊国栋, 沈茂. 凹凸棒粘土的研究及应用进展[J]. 化工进展, 2009, 28(1): 99~105.
- 3 Xi-Jun Ma, Li-Hua Liu, Kai Zhu. Preparation and properties of modified attapulgite/polyurethane bioactive macromolecular carrier [J]. Research on Chemical Intermediates, 2012(38): 223~232.
- 4 赵玉萍, 黄颖娟, 吴洁, 等. 以凹凸土为载体的新型益生菌制剂的制备[J]. 食品工业科技, 2013(3): 141~144.
- 5 赵玉萍. 以凹凸土为载体的益生菌制备方法: 中国, 201010248836 [P]. 2010-12-22.
- 6 郭本恒. 益生菌[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 22.
- 7 Xingmin Rong, Qiaoyun Huang, Xiaomin He, et al. Interaction of *Pseudomonas putida* with kaolinite and montmorillonite: a combination study by equilibrium adsorption, ITC, SEM and FTIR [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008(64): 49~55.
- 8 黄昭先. 凹凸棒土吸附四环素的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
- 9 傅正强. 靖远凹凸棒石吸附水溶液中 Cd(II)性能的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
- 10 赵玉萍, 冯良东, 李辉. 白腐菌预处理稻壳灰吸附性能研究[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(10): 104~107.
- 11 许干, 杜卫刚, 周伟, 等. 改性凹凸棒土净化含铬废水的研究[J]. 天津化工, 2007, 21(6): 58~60.

(上接第1页)

### 4 更从容: 中国食品安全监管正步入与世界接轨的“常态”

“中国政府对食品安全的监管思路与模式, 日趋科学、有序, 对危机的处理更加从容。”孟素荷指出, 通过对 2014 年食品安全热点的解析不难看出这一点。2014 年出现的诸多食品安全隐患, 如配制酱油、熟肉制品、蜂蜜违规添加甜蜜素、桶装水污染问题等, 均是在政府部门主导的两次大规模抽检中及时发现问题、向行业提出预警并逐一解决, 整个链条的衔接相对完整。在对 2014 年食安事件(如福喜事件)的执法中, 较之以往更加从容、有序。中国对食品安全的监管及警示、召回等制度框架的完善与实施等, 正进入与世界接轨的“常态”, 2014 年是个重要的转折。

专家们指出, 影响中国食品安全的主要因素——由于环境污染引发的我国产品原料污染等问题尚未有效化解。而原料污染必然传导到食品工业, 且这种困局短期内难以有效化解。食品安全应下功夫从产业链前端发力, 从优质原料入手。与此同时, 食品掺假则是影响中国食品工业健康发展的毒瘤。陈君石院士认为: “食品掺假, 国际上亦称为食品欺

诈, 不论是否会影响消费者健康, 只要是影响消费者信心的, 都属于食品安全问题。”2013~2014 年的欧洲马肉风波影响巨大, 中国以鸡肉代替牛、羊肉, 在蜂蜜中违法添加甜蜜素等问题时有发生。值得提醒的是, 2015 年, 当中国食品工业增速整体放缓, 利润下滑时, 造假和偷工减料会有所抬头, 应予以警惕、揭露和有效的处罚。

孟素荷指出, 从 2011 年至 2014 年, 中国食品科学技术学会在对 4 年来食品安全热点事件的追踪中发现, 媒体在关注点的变化中进步与提升。从 2011 年关注方便食品与非法添加; 到 2012 年关注标准与过程控制; 到 2013 年关注原料污染与恶意造假; 至 2014 年关注微生物污染与原料安全, 4 年间食品安全关注热点的变化, 显示了舆论监督的视角与中国食品安全从危机应对到风险预防的变化相对应, 是中国食品安全工作的重要推进力量。而 2014 年媒体报道渐趋客观、理性。但就整体而言, 中国食品安全的最大危机仍是信任危机。要想重铸信任之路, 既要认真夯实工作基础, 又需由政府出面, 推进大规模、公益性的公众科普, 以聚集各方优势, 释放食品安全的正能量。

(中国食品科学技术学会秘书处 供稿)