何豫馨,龚东琴,温晓乐,等.细菌表面结构与离子强度对微塑料上病原菌附着及抗氯性的影响 [J]. 中国环境科学, 2026,46(2):1038-1046.
He Y X, Gong D Q, Wen X L, et al. Effects of bacterial surface structures and ionic strength on pathogen adhesion to microplastics and their chlorine resistance [J]. China Environmental Science, 2026,46(2):1038-1046.

细菌表面结构与离子强度对微塑料上病原菌附着及抗氯性的影响

何豫馨,龚东琴,温晓乐,陈国炜,刘 丽* (合肥工业大学土木与水利工程学院,安徽 合肥 230009)

摘要：本文以铜绿假单胞菌的野生型(WT)、胞外聚合物(EPS)分泌过量型(Δ*mucA*)和鞭毛缺失型(Δ*fliC*)为模型,结合 XDLVO 理论,系统研究了细菌表面结构、离子强度和氯消毒对聚乙烯(PE)和聚丙烯(PP)MPs 表面细菌附着及抗氯性的影响.结果表明,EPS 分泌增强了细胞疏水性(Δ*mucA* 的γ^{LW}升高、γ^{AB}降低),显著降低排斥势垒ϕ_T,进而促进细菌在 MPs 上的附着与存活;鞭毛则通过静电吸引作用增强附着能力,并提升 MPs 对细菌的保护效应.离子强度(NaCl)对细菌附着呈双重效应:在 NaCl 浓度≤30mmol/L 时,双电层压缩使排斥势垒降至 19%,显著促进附着;而在 100mmol/L 时,Cl^-吸附导致电荷反转,从而抑制附着.尽管氯消毒(1.0mg/L)可有效灭活游离菌体,但其通过增强范德华吸附力($\Delta G_{y_0}^{Tot}$)显著提高了细菌在 MPs 表面的附着率(提升至 45%~75%),从而增强其抗氯性(最高达 2.48 倍).

关键词：微塑料；胞外聚合物；鞭毛；抗氯性；饮用水
中图分类号：X172 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2026)02-1038-09

Effects of bacterial surface structures and ionic strength on pathogen adhesion to microplastics and their chlorine resistance.

HE Yu-xin, GONG Dong-qin, WEN Xiao-le, CHEN Guo-wei, LIU Li* (Department of Civil Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China). *China Environmental Science*, 2026,46(2)：1038~1046

Abstract：This study employed*Pseudomonas aeruginosa* wild-type (WT), an exopolysaccharide (EPS)-overproducing strain (Δ*mucA*), and a flagellum-deficient mutant (Δ*fliC*) as model organisms. Combining the XDLVO theory, we systematically investigated the effects of bacterial surface structures, ionic strength, and chlorination on bacterial adhesion and chlorine resistance to polyethylene (PE) and polypropylene (PP) MPs. Key findings revealed that EPS secretion enhanced cell hydrophobicity (increased γ^{LW} and decreased γ^{AB} in Δ*mucA*), significantly reducing the repulsive energy barrier (Φ_T) and thereby promoting bacterial adhesion and survival on MPs. Flagella facilitated adhesion through electrostatic attraction and amplified the protective effect of MPs on bacteria. Ionic strength (NaCl) exhibited a dual effect: at ⩽30mmol/L, double-layer compression reduced the repulsive barrier by 19%, markedly enhancing adhesion, whereas at 100mmol/L, Cl^- adsorption induced charge reversal, inhibiting adhesion. Although chlorination (1.0mg/L) effectively inactivated free bacteria, it increased bacterial adhesion rates on MPs by 45%~75% through enhanced van der Waals attraction ($\Delta G_{y_0}^{Tot}$), consequently elevating chlorine resistance (up to 2.48-fold).

Key words：microplastics；extracellular polymeric substances (EPS)；flagella；chlorine resistance；drinking water

塑料制品在环境中广泛存在,并在风化、紫外辐射及微生物作用下持续降解,最终形成粒径为 0.001~5mm 的微塑料(MPs)[1].研究表明,MPs 已广泛分布于海洋、湖泊、河流、地下水[2],乃至饮用水供水系统等多种水体环境中[3].传统水处理工艺对 MPs 的去除效果有限,处理后饮用水中仍可保留多达 70%的原水 MPs 残留[4].此外,供水系统中塑料管材的使用也被认为是饮用水中 MPs 的潜在来源之一[5].

与大尺寸塑料颗粒相比,MPs 因其更大的比表面积和更强的吸附能力,易于富集重金属[6]、抗生素[7]和塑化剂[8]等污染物,形成复合污染载体.同时,MPs 表面为微生物附着与生物膜形成提供了有利位点[9-10],并可能扰动水体中微生物的生态行为[11]及消毒效果[12-13].尽管已有研究指出, MPs 表面附着的细菌对氯的耐受性可能增强[14],然而其内在抗性机制尚不明确,尤其在饮用水消毒条件下的关键调控路径仍有待揭示.

细菌在 MPs 表面的定殖及其抗性受多重环境因子调控,包括水动力条件、营养水平和消毒剂特性等[15-16].在细菌表面结构中,胞外聚合物(EPS)和鞭毛

收稿日期：2025-07-20
基金项目：安徽省自然科学基金资助项目(2508085ME116)
* 责任作者, 教授, lliu@hfut.edu.cn

是影响其附着行为的关键因素[17].鞭毛不仅赋予细菌运动能力,还显著调控其在石英砂、二氧化硅等固体表面的附着行为[18].EPS 作为微生物聚集和定殖的核心介质[19].通过其多糖、蛋白质和腐殖质等组分中的酰胺、羧基、酚羟基等官能团[20],调节细胞表面疏水性、电荷分布从而增强细菌对消毒剂的抵抗能力[15].此外,水体中离子强度的变化也被证实显著影响细菌的附着行为[21],然而在当前关于 MPs-细菌互作的研究中,仍缺乏对细菌关键表面结构(如 EPS 和鞭毛)如何与环境因子(尤其是离子强度)共同调控其在 MPs 表面附着行为及抗氯性的系统性认知,特别在饮用水环境中,仍缺乏系统性认识.

为深入揭示 MPs 在饮用水中对病原菌所发挥的保护作用机制,本研究以饮用水系统中常见机会致病菌铜绿假单胞菌为代表.此外,为系统阐明表面结构对细菌附着与抗氯行为的影响机制,同时更全面地反映实际饮用水系统中可能存在的菌株多样性,本研究以选取其野生型(WT)、EPS 分泌过量型(Δ*mucA*)及鞭毛缺失型(Δ*fliC*)突变株为模式菌株,以聚乙烯(PE)和聚丙烯(PP)为代表性 MPs 材料,结合实验观测与 XDLVO(extended-Derjaguin-Landau-Verw-ey-Overbeek)理论模拟,系统探讨氯消毒、离子强度等关键环境因子下 MPs 对细菌附着行为及抗氯性能的影响机制.旨在阐明 MPs 在饮用水微生物控制中的潜在风险,为水处理及消毒工艺的优化提供参考.

1　材料与方法

1.1　实验前准备

1.1.1　细菌培养与纯化　本实验所用抗卡那霉素的铜绿假单胞菌菌株(野生型 WT、EPS 分泌过量型 Δ*mucA*、鞭毛缺失型 Δ*fliC*)由中科院微生物研究所提供.使用无菌接种环,从保藏的琼脂斜面培养基中挑选目标菌株,将其接种于 LB 液体肉汤培养基(含 10g/L NaCl,5g/L 酵母提取物,1g/L 葡萄糖和 10g/L 蛋白胨)中.于 37℃、150r/min 恒温摇床中振荡培养 16h.取 20mL 培养液,在 7000*g*、4℃条件下离心 10min.弃去上清液,用无菌磷酸缓冲液(PBS)重复洗涤菌体沉淀 3 次,以彻底去除残留培养基及代谢产物.用无菌 PBS 将纯化后的菌体浓度调至 OD_{600}=0.1(对应菌浓度约为 5.0×10^7cells/mL,经荧光倒置显微镜计数验证)备用.所有器皿及培养基均于 121℃高压蒸汽灭菌(LX-B50,华泰,合肥)20min 后使用.

1.1.2　水样制备　实验用水取自合肥工业大学给排水实验室饮用水龙头.经以下步骤处理:用 75%乙醇擦拭水龙头后,开启水流持续冲洗 5min,以排除管道残留物影响.收集约 20L 水样,于室温(25±1)℃静置 24h,使余氯自然衰减至浓度低于 0.01mg/L.使用 0.22μm 的无菌水系滤膜(47mm Ø,津腾,天津)对水样进行过滤除菌,收集滤后水样备用.

1.1.3　实验设置　为探究 EPS 和鞭毛对细菌在 MPs 表面附着及其抗氯性的影响,设置四因素实验:菌株类型(WT、Δ*mucA*、Δ*fliC*),MPs 类型(PE、PP,粒径 25 μm,浓度 10mg/L,密度约 0.92g/cm^3,比表面积约 0.26m^2/g),氯浓度(0mg/L 对照、1.0mg/L)及离子强度(1,5,10,30,100mmol/L NaCl).实验前,MPs 经 75%乙醇浸泡 1h、去离子水洗涤 3 次、50~55℃烘干;所有实验器材经 121℃高压灭菌 20min 后紫外照射 30min.所有氯暴露实验均在避光条件下进行,并将溶液 pH 值调节至 7.0±0.2,以排除光照和 pH 值波动对氯稳定性的干扰.

1.2　分析方法

1.2.1　生物量分析　取 10mL 细菌悬浮液,超声处理(40kHz,20min)收集 MPs 附着菌,另取 10mL 细菌悬浮液,经 5μm 滤头过滤收集游离菌.采用 LIVE/DEAD® BacLightTM 试剂盒(L-7012,Inv-itrogen)染色:将 SYTO-9 和碘化丙啶(PI)按 1:1 混合,取 100μL 染液加入 2mL 稀释好的细菌溶液中,25℃避光孵育 20min 用 0.2μm 黑色聚碳酸酯膜(Whatman, Nuclepore, Clifton, NJ)过滤样品,通过荧光倒置显微镜(IX73,奥林巴斯,日本)200×拍照观察,每个样品随机选 10 个视野,红色、绿色荧光分别代表死细胞和活细胞,使用 ImageJ 软件计数分析.

1.2.2　Zeta 电位分析　电位由 Zeta 电位仪(Nano-ZS90,马尔文,英国)在 25℃下测量,在电位标准毛细管池中进行 Zeta 电位粒径测量[22].对于悬浮细菌及微塑料,选择水为分散剂,蛋白质及相应微塑料为目标物质,取 0.75mL 样品溶液置于毛细管池中摇匀,结合 Zeta 电位仪分散技术软件等待读数.所有测量至少重复 3 次.

1.2.3　接触角测定　接触角使用接触角分析仪(SCA20,Dataphysics,德国)测量,具体实验步骤如下:

纯化后的菌液用 PBS 重悬,经 0.22μm 醋酸纤维滤膜过滤(菌密度≈10^8cells/mm^2);MPs 样品由甲苯溶解(2% *w*/*v*)后滴加至玻片,干燥成厚约 10μm 薄膜[23].使用接触角分析仪(SCA20,Dataphysics,德国)于 25℃用无柄液滴法测量,分别滴加 3 种探针液(超纯水、甘油、二碘甲烷),用高分辨率相机记录液滴形状,软件拟合计算接触角.每个样品每种探针液重复测 6 次,取平均值.

1.2.4 XDLVO 表面能参数及 XDLVO 相互作用能的计算 采用 XDLVO 理论定量计算了细菌与微塑料之间的总相互作用能.总相互作用能(Φ_T)由式(1)计算[24]:

$$\Phi_T = \Phi_{LW} + \Phi_{EL} + \Phi_{AB} \tag{1}$$

式中:Φ_{LW} (Liftshitz−van der Waals interaction, LW)为范德华相互作用能,k_BT;ϕ_{EL}(Ele−ctrostatic interaction, EL)为静电相互作用能,k_BT;Φ_{AB} (Lewis acid−base interaction, AB)为路易斯酸碱相互作用能,k_BT.

Φ_{LW} 使用 Hamaker 常数计算[25],见式(2)、(3):

$$\Phi_{LW} = -\frac{AR}{6H} \tag{2}$$

$$\begin{aligned} A &= -12\pi y_0^2 \Delta G_{y_0}^{LW} \\ &= 24\pi y_0^2 \left(\sqrt{\gamma_B^{LW}} - \sqrt{\gamma_W^{LW}}\right)\left(\sqrt{\gamma_C^{LW}} - \sqrt{\gamma_W^{LW}}\right) \end{aligned} \tag{3}$$

式中:R 为细菌的半径,m;A 为计算获得的 Hamaker 常数,J;根据界面张力参数可以计算出 A 的值.y_0 表示最小平衡距离,0.158nm;γ_C^{LW}、γ_W^{LW} (21.8mJ/m^2)、γ_B^{LW},分别是微塑料、水、细菌的范德华项表面张力参数,可由式(4)计算:

$$\gamma_1\left(1+\cos\theta\right) = 2\left(\sqrt{\gamma_i^{LW}\gamma_1^{LW}} + \sqrt{\gamma_i^+\gamma_1^-} + \sqrt{\gamma_i^-\gamma_1^+}\right) \tag{4}$$

式中:γ_L^{Tot},γ_L^{LW},γ_L^-,γ_L^+分别是液体表面张力参数、表面张力非极性的参数、电子供体和电子受体参数;θ 是微塑料及细菌在 3 种探针液体(即水,甘油和二碘甲烷)中的接触角;γ_C^{LW},γ_C^-,γ_C^+和γ_B^{LW},γ_B^-,γ_B^+是微塑料Φ_{EL}及细菌的各表面张力参数.

总的表面能(γ^{Tot})计算如式(5)(6):

$$\gamma_C^{Tot} = \gamma_C^{LW} + \gamma_C^{AB} = \gamma_C^{LW} + 2\sqrt{\gamma_C^+\gamma_C^-} \tag{5}$$

$$\gamma_B^{Tot} = \gamma_B^{LW} + \gamma_B^{AB} = \gamma_B^{LW} + 2\sqrt{\gamma_B^+\gamma_B^-} \tag{6}$$

静电相互作用能Φ_{EL}计算如式(7):

$$\Phi_{EL} = \pi\varepsilon R\left(\begin{array}{l} 2\xi_C\xi_B \ln\left(\dfrac{1+e^{-kh}}{1-e^{-kh}}\right) + \\ \left(\xi_C^2+\xi_B^2\right)\ln\left(1-e^{-2kh}\right) \end{array}\right) \tag{7}$$

式中:ε是介电常数,7.1×10^{-10}C/(V·m);ξ_C 和 ξ_B 分别是微塑料和细菌表面的 zeta 电位值,V;k 是体系扩散双电层厚度的倒数,m^{-1},可由式(8)计算:

$$k = \sqrt{\frac{e^2\sum n_i z_i^2}{\varepsilon kT}} \tag{8}$$

式中:e 是电子电荷,−1.6×10^{-19}C;z_i 是离子价态;n_i 是离子在溶液中的数量浓度;k 是玻尔兹曼常数,1.38×10^{-23}J/K;T 是开尔文温度,298K.

Vanoss 等[26]提出的 XDLVO 纳入了路易斯酸碱作用力Φ_{AB},用于研究细菌底物之间的相互作用.Φ_{AB} 计算方法如式(9)、(10):

$$\Phi_{AB} = 2\pi R\lambda\Delta G_{y_0}^{AB}\exp\left(\frac{y_0 - H}{\lambda}\right) \tag{9}$$

$$\begin{aligned} \Delta G_{y_0}^{AB} &= 2\sqrt{\gamma_W^+}\left(\sqrt{\gamma_C^-} + \sqrt{\gamma_B^-} - \sqrt{\gamma_W^-}\right) + 2\sqrt{\gamma_W^-} \\ &\left(\sqrt{\gamma_C^+} + \sqrt{\gamma_B^+} - \sqrt{\gamma_W^+}\right) - 2\left(\sqrt{\gamma_C^+\gamma_B^-} + \sqrt{\gamma_C^-\gamma_B^+}\right) \end{aligned} \tag{10}$$

式中:λ为水中酸碱相互作用的特征衰减长度,0.6nm[25].$\Delta G_{y_0}^{AB}$ 为酸碱相互作用自由能.

1.2.5 统计分析 每组实验设置 3 组平行样,各组实验至少重复 3 次.分析实验结果使用数据平均值及标准差.数据的显著性分析结合单因素/多因素方差分析(ANOVA)与 Fisher's LSD 事后检验完成.

2 结果分析

2.1 细菌表面结构与离子强度对抗氯性的影响

为探究细菌表面结构(EPS、鞭毛)及离子强度对其在 MPs 环境中抗氯性能的影响,本文在不同微塑料(PE、PP)体系中,采用 1.0mg/L 氯避光处理 0.5h 后,测定不同菌株(WT、Δ*mucA*、Δ*fliC*)的存活率(图 1).结果显示,不同菌株在 MPs 体系中的抗氯能力存在显著差异.例如,在 5mmol/L NaCl 的 PE 体系中,Δ*mucA* 菌株的存活率为 49.34%~53.47%,显著高于野生型 WT(43.69%~47.16%); 在 10mmol/L NaCl 条件下,Δ*mucA* 存活率维持在 48.12%~55.26%,而 WT 为 46.82%~49.17%,差异依旧明显.这表明,丰富的 EPS 分泌显著增强了细菌在 MPs 表面环境中的抗氯能力.相比之下,鞭毛缺失株 Δ*fliC* 在相同条件下的存活率普遍略低于 WT,提示鞭毛可能在一定程度上参与铜绿假单胞菌的抗氯过程,但其具体作用相较于 EPS 仍需进一步系统评估.

从离子强度的影响来看,随着NaCl浓度的升高,细菌的抗氯性总体呈增强趋势.例如,在 PE 体系中,WT 菌株的存活率从 5mmol/L NaCl 下的43.68%~47.16%,分别提升至10mmol/L和30mmol/L的 46.82%~49.17%和 47.76%~53.81%.然而,当 NaCl浓度升高至 100mmol/L 时,菌株存活率普遍下降.如在 PP 体系中,Δ*mucA* 菌株的存活率由 30mmol/L 时的 52.87%~56.57%降至 100mmol/L 时的 47.40%~49.54%.不难看出,在不同氯浓度条件下,随着离子强度的升高,细菌在 NaCl 和 $CaCl_2$ 体系中的存活率呈现相似的变化趋势.尽管 $CaCl_2$ 体系的促进作用略高于 NaCl,但两者差异并不显著.

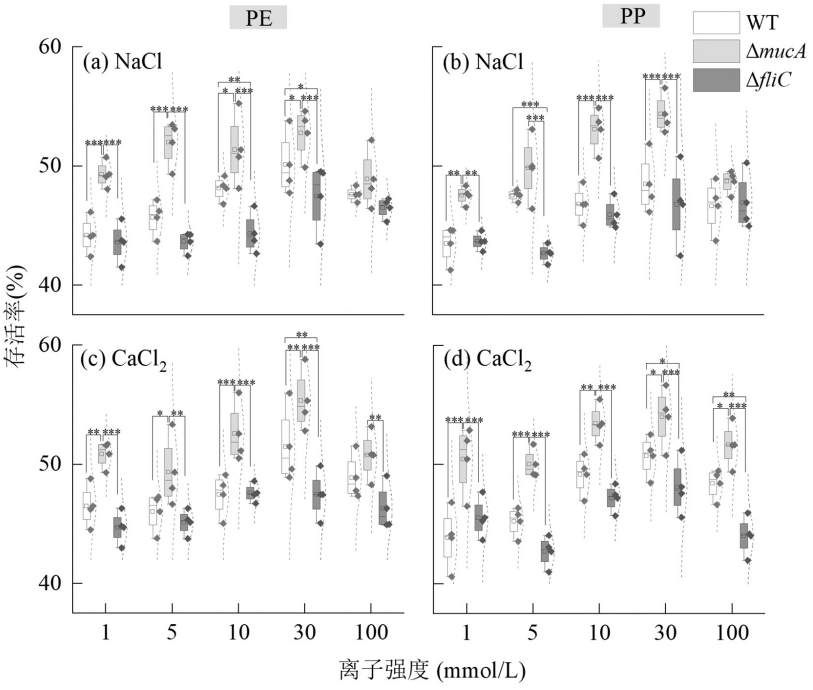


图 1　不同离子强度下细菌存活率的变化

Fig.1　Changes in bacterial survival rates under different ionic strengths

*P≤0.05 **P≤0.01 ***P≤0.001

2.2　细菌表面结构与环境因子对附着行为的影响

为进一步探究微塑料对细菌保护效应的差异,由图 2 可见,不同菌株在 MPs 表面的附着能力存在明显差异.在 30mmol/L NaCl 的氯化 PP 体系中,Δ*mucA* 菌株的附着率显著高于 WT 和 Δ*fliC*,约提升了 10%,推测 EPS 分泌增强了 MPs 表面的粘附性,从而促进更多细菌附着[27].此外,氯消毒可进一步刺激 EPS 分泌,进一步增强细菌在微塑料表面的定殖能力.

总体来看,氯化处理明显促进了细菌的附着.例如,在 PE 体系中,30mmol/L NaCl 条件下,WT 菌株的附着率在氯处理组相较于未氯化组提升了 1.07~1.44 倍.整体而言,在无氯条件下,PE 和 PP 体系中细菌的附着率一般为 5%~40%;而在加入 1.0mg/L 氯后,附着率提升至 45%~75%,表明氯处理通过促进 EPS 分泌显著增强了细菌在微塑料表面的附着能力及环境保护效应.

离子强度同样对细菌附着表现出一定的促进作用,但在高浓度下产生抑制效应.例如,在未氯化的 PE 体系中,WT 菌株的附着率随 NaCl 浓度从 5mmol/L 提升至 10mmol/L 至 30mmol/L 时,分别由 11.17%~18.45%升高至 18.87%~25.47%和 25.00%~33.49%;然而,当离子强度升至100mmol/L时,附着率反而下降至 17.54%~22.33%.这一现象可能与高离子强度下 Cl^-和 Na^+在 MPs−细菌界面上的吸附行为有关.Na^+可能占据微塑料表面的吸附位点,Cl^-吸附则降低表面等电点,增强负电荷密度,从而削弱细菌与 MPs 间的粘附力[28].

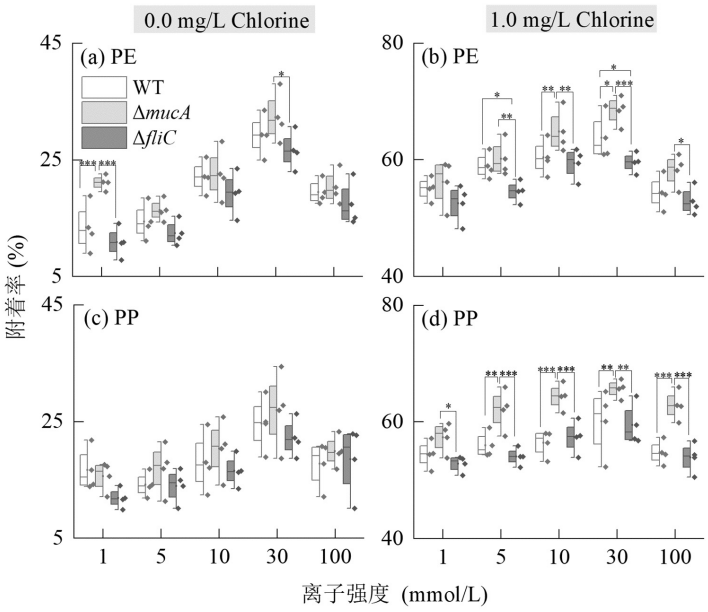


图 2 不同离子强度下细菌附着率的变化

Fig.2 Changes in bacterial adhesion rates under different ionic strengths

*P≤0.05 **P≤0.01 ***P≤0.001

2.3 细菌表面结构与环境因子对细菌−微塑料交互作用的影响

为深入探究细菌表面性质与微塑料间的相互作用机制,图 3 及表 1 显示,WT、Δ*mucA*、Δ*fliC* 菌株的水接触角分别为(42.5±4.1)°、(27.9±1.1)°、(33.0±1.8)°,均表现出一定程度的亲水性,其中 Δ*mucA* 的接触角最小,表明其表面更易润湿.表面能参数计算结果显示,3 种菌株均以电子供体(γ^-)为主,电子受体(γ^+)较弱,例如 Δ*fliC* 的γ^-值为 50.34mJ/m^2,而γ^+仅为 0.23mJ/m^2,表明其倾向于作为电子供体,具有较强的路易斯碱特性.此外,Δ*mucA* 的γ^{LW}值最高,表明其非极性组分比例较高,表面疏水性更强.

图 3 显示,细菌 Zeta 电位的电负性随离子强度增大而减小.该结果可以用反离子对双层的压缩、Stern 电位的降低和高离子强度下有效表面电荷的减少来解释[29].经分析发现每种细菌获得的 Zeta 电位曲线形状差异并不显著.因此,可以明确电解质浓度主要影响 Zeta 电位的具体数值,而不影响 Zeta 电位的整体变化趋势.此外,Δ*mucA* 菌株的电位显著低于另外两种菌株,这一结果与 Zheng 等的研究类似,进一步证实了 EPS 分泌过量菌株其表面电荷电负性高于其他菌株[30].

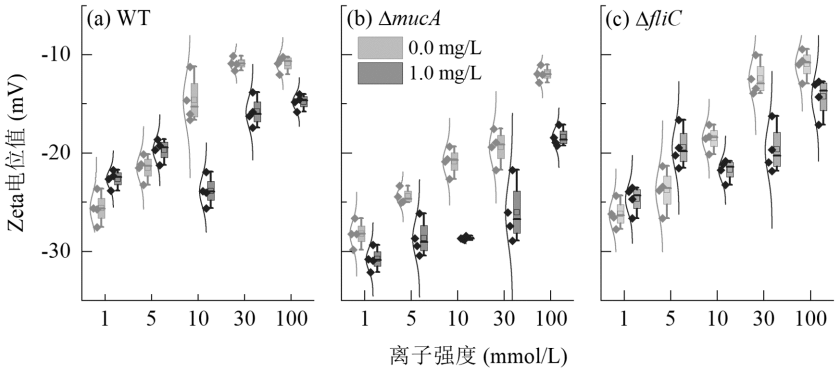


图 3 不同离子强度(NaCl)下细菌的电位分布

Fig.3 The potential distribution of bacteria under different ionic strengths (NaCl)

在 XDLVO 理论框架下,细菌与 MPs 表面之间的总自由能变化量$\Delta G_{y_0}^{Tot}$可作为预测其附着行为的

指标[31].当 $\Delta G_{y_0}^{Tot}$<0 时,表明细菌趋于附着;反之则表明排斥作用为主.计算结果表明,在多数条件下,AB 项对细菌附着的贡献大于 LW 项,说明酸碱相互作用是细菌与 MPs 间吸附的主要驱动力.

表 1　铜绿假单胞菌的接触角(水 θ_W、甘油 θ_G、二碘甲烷 θ_D)和表面张力参数

Table 1　Contact angle (water θ_W, glycerol θ_G, diiodomethane θ_D) and surface tension parameters for *Pseudomonas aeruginosa*

样品	接触角(°)			表面张力参数(mJ/m^2)				
	θ_W	θ_G	θ_D	γ^{LW}	γ^+	γ^-	γ^{AB}	γ^{Tot}
WT	42.5±4.1^a	64.7±3.7^a	47.1±3.1^a	35.87	0.27	56.37	7.85	43.73
Δ*mucA*	27.9±1.1^b	45.4±2.7^b	32.8±2.6^{ab}	43.03	0.06	52.91	3.50	46.52
Δ*fliC*	33.0±1.8^b	47.8±3.2^a	43.6±2.5^b	37.76	0.23	50.34	6.78	44.53

注:同列数值后不同字母表示菌种间差异显著(P<0.05).

如表 2 所示,Δ*mucA* 在相同条件下的 $\Delta G_{y_0}^{Tot}$ 绝对值最大,例如在氯化处理的 PP 体系中,Δ*mucA* 和 WT 的 $\Delta G_{y_0}^{Tot}$ 分别为−14.20 和−9.54mJ/m^2,进一步印证了其更强的疏水性.尽管接触角测定显示该突变株整体润湿性较强,但同时表现出更高的表面疏水性和对微塑料的黏附能力.这一现象可能源于接触角主要反映细胞宏观尺度润湿行为,而细菌−微塑料相互作用则更依赖于 EPS 中疏水基团在微观界面上的暴露与分布.同时,氯化处理显著增大 $\Delta G_{y_0}^{Tot}$ 的绝对值,如Δ*mucA* 在 PE 体系中的 $\Delta G_{y_0}^{Tot}$ 由−9.35mJ/m^2 增至−14.20mJ/m^2,且与 Hamaker 常数 A 呈正相关,表明氯化处理增强了范德华吸引力,从而促进附着.

基于表面张力参数进一步计算细菌与微塑料(以 PE 为例)间的 XDLVO 相互作用能(图 4).结果显示,在距离 MPs 表面 2~5nm 范围内存在明显的能量势垒,且不同菌株间存在显著差异.在未氯化、30mmol/L NaCl 条件下,WT、Δ*mucA* 及Δ*fliC* 的排斥势垒分别为 691.67、214.81 和 2781.54kT,说明Δ*mucA* 最易附着,而Δ*fliC* 附着难度最高,WT 介于两者之间.

此外,离子强度的升高显著降低了细菌−MPs 之间的排斥势垒.例如,WT 随 NaCl 浓度由 1mmol/L 升至 30mmol/L,势垒由 3638.75kT 降至 691.67kT;而当浓度升至 100mmol/L 时,势垒变化趋于平稳.氯化处理同样显著降低了相互作用势垒,WT 在 1、5、10 和 30mmol/L NaCl 条件下,经氯处理后其势垒分别降至 1591.38、1125.80、409.07 及 109.80kT,相较于未氯化组下降幅度达 2~6 倍.综上所述,Δ*mucA* 菌株因 EPS 分泌丰富、表面疏水性强,在 MPs 表面具有更高的附着倾向.氯化处理通过增强范德华力和疏水性显著促进了细菌−MPs 间的吸附过程;而离子强度则通过调节电荷屏蔽效应进一步影响两者间的能量势垒和附着行为.这些结果从热力学角度系统揭示了细菌在 MPs 表面附着于抗氯性的机制基础.

表 2　铜绿假单胞菌和微塑料间的表面自由能参数

Table 2　Surface free energy parameters between Pseudomonas aeruginosa species and microplastics

样品			A	$\Delta G_{y_0}^{LW}$	$\Delta G_{y_0}^{AE}$	$\Delta G_{y_0}^{Tot}$
菌种	MPs	氯(mg/L)	(×10^{-21}J)	(mJ/m^2)	(mJ/m^2)	(mJ/m^2)
WT	PP	0.0	4.54^a	−4.83^a	−0.25^{Aa}	−5.08^{Aa}
		1.0	5.16^b	−5.48^b	−7.12^{Ab}	−12.60^{Ab}
	PE	0.0	2.12^c	−2.25^c	−2.53^{Ac}	−4.78^{Ac}
		1.0	3.98^d	−4.23^d	−5.31^{Ad}	−9.54^{Ad}
Δ*mucA*	PP	0.0	6.50^a	−6.91^a	−3.30^{Ba}	−10.21^{Ba}
		1.0	7.39^b	−7.85^b	−11.18^{Bb}	−19.03^{Bb}
	PE	0.0	3.03^c	−3.22^c	−6.13^{Bc}	−9.35^{Bc}
		1.0	5.69^d	−6.05^d	−8.15^{Bd}	−14.20^{Bd}
Δ*fliC*	PP	0.0	5.08^a	−5.39^a	−3.77^{Ca}	−9.16^{Ca}
		1.0	5.76^b	−6.13^b	−3.22^{Cb}	−9.35^{Cb}
	PE	0.0	2.36^c	−2.51^c	−6.44^{Cc}	−8.95^{Cc}
		1.0	4.45^d	−4.72^d	−7.43^{Cd}	−12.15^{Cd}

注:同列数值后不同大写字母表示菌种间差异显著(P<0.05);同一菌种内不同小写字母表示材料与消毒浓度交互作用处理间差异显著(P<0.05).

3　讨论

本研究系统探讨了在 1.0mg/L 氯浓度条件下,细菌在 MPs 表面的附着行为与抗氯性机制.结果表明,MPs 可为细菌(如铜绿假单胞菌)提供关键的附着界面,其定殖行为受双电层排斥力、范德华吸引力及与 EPS 相关的酸碱作用力共同调控[32].鞭毛缺失株(Δ*fliC*)表现出较弱的电子供体能力(γ^-=50.34mJ/m^2,低于 WT 的 56.37mJ/m^2),该特性削弱了其与带负电 MPs 之间的静电吸引,导致其附着率和存活率均为最低.这与鞭毛在促进细菌初始附着中的关键作用一致[33],其机制可能包括破坏静电屏障或提供附着

接触点等.相比之下,EPS 分泌增强型 Δ*mucA* 株具有更高的γ^{LW}(43.03mJ/m²,WT 为 35.87mJ/m²)和更强的疏水性.XDLVO 理论计算结果显示,Δ*mucA* 与 MPs 之间的排斥势垒最低(−215kT,WT 为 −692kT,0.0mg/L Cl,30mmol/L NaCl),因此附着性最强,且氯耐受性最高.该结果印证了 EPS 通过增强细胞疏水性、降低静电排斥,同时形成物理屏障以阻隔氯攻击,从而显著提升细菌环境适应性的作用[34].

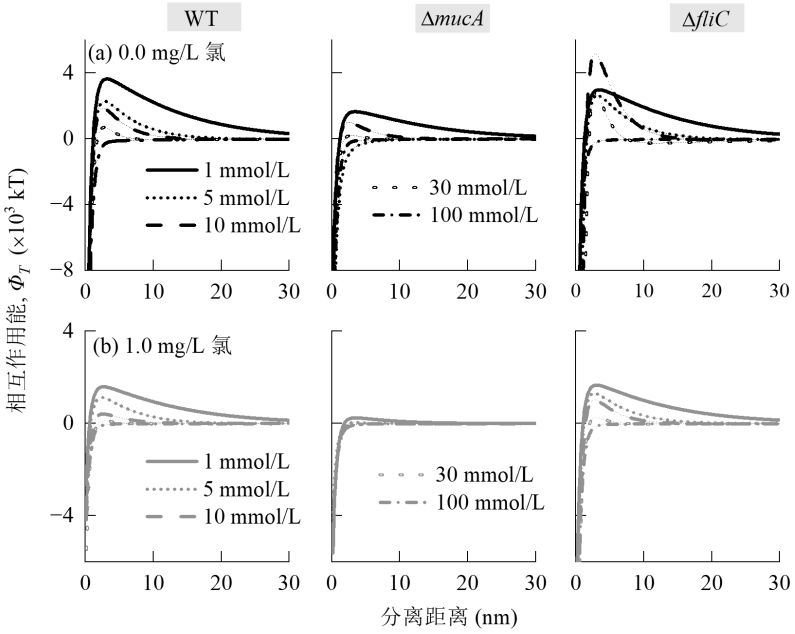


图 4 不同离子强度下细菌与微塑料间相互作用能曲线的变化

Fig.4 Changes in the interaction energy curve between bacteria and microplastics under different ionic strengths

环境中离子强度(NaCl)对细菌附着行为呈剂量依赖特征.在低至中等离子强度(≤30mmol/L NaCl)下,Na^+可压缩双电层,显著降低 EL 排斥力,促使 WT 株在 PE 表面的附着率提高 1.06~3.72 倍,排斥势垒下降至−692kT(由原始的−3639kT 降低 5.3 倍),增强了 MPs 的物理屏护效应.相反,在高离子强度条件下(100mmol/L NaCl),Cl^-吸附可能导致 MPs 表面等电点降低,增强其负电荷密度,从而加大 EL 排斥.同时,渗透胁迫效应可引起细胞失水[35],导致 Δ*mucA* 株的附着率下降 6.56%~57.48%、存活率下降 1.98%~16.21%,表现出高盐度下抑制细菌附着的典型现象[36].氯消毒(1.0mg/L)则表现出双重效应.一方面,氯可有效灭活游离菌体;另一方面,消毒应激会刺激与分泌 EPS 相关基因的表达[37],诱导细菌分泌更多 EPS,显著提高其在 MPs 表面的附着率(提升 1.8~3.0 倍,最高达 45%~75%).此外,消毒处理还增强了细菌表面疏水性(Δ*mucA*−PE 体系$\Delta G_{y_0}^{Tot}$增加 51.9%)以及范德华吸附力(Hamaker 常数上升),进一步促进了细菌定殖和抗氯性增强.

综合上述结果,EPS 富集型菌株(如 Δ*mucA*)在含 MPs 的供水系统中展现出更强的适应能力.这主要归因于其更高的疏水性、更低的细菌−MPs 相互作用能垒,以及 EPS 所形成的物理屏障效应,从而显著增强了对氯消毒的抵抗性,增加了其在 MPs 表面长期定殖与传播的风险.基于此,建议供水输配过程中合理调控离子强度,优选≤30mmol/L NaCl,以降低细菌在 MPs 表面的过度附着.在高盐(100mmol/L NaCl)条件下,细菌附着率的降低可能同时涉及电荷反转引起的界面能垒变化,以及渗透胁迫对细胞生理状态的影响.未来若能结合渗透胁迫相关实验与细胞生理表征,并系统开展界面特性的分析,将有助于深入验证并阐明其具体机制.然而,实际饮用水离子强度通常为 3~10mmol/L[38],因此上述结论主要用于机理探讨,其在工程实践中的应用价值尚需在更接近实际水质参数的条件下进一步验证.在消毒策略上,建议采用脉冲式投氯或联合使用紫外(UV)、臭氧等多种消毒工艺,以降低 EPS 过量分泌及其带来的微生物风险.未来研究应进一步关注 MPs 在输配水管网中老化(如表面氧化、生物膜覆盖)对微生物长期定殖、生物膜演化

及病原体传播的影响,为实现饮用水系统中微塑料-病原菌复合污染的多屏障风险控制提供更加全面的理论支撑.

需要指出的是,本研究应用XDLVO理论时基于标准参数设定,未考虑 MPs 表面老化、粗糙度及生物膜形成等动态过程对界面作用的潜在影响.此外,实验室模型亦简化了实际管网的中水质波动、水力条件与生物膜群落多样性等复杂因素.未来研究将系统开展浓度-时间梯度实验,深入揭示抗氯性的剂量-时间效应规律;结合蛋白质组学、原子力显微镜及渗透胁迫生理表征等手段,进一步阐释相关分子机制与界面过程;并关注 MPs 老化及实际工况下的微生物演替规律,为饮用水系统中 MPs-病原菌复合污染的风险控制提供更全面的理论支撑.本研究为评估 MPs-病原菌复合污染的环境风险、优化管网中离子强度调控策略及改进消毒工艺提供了重要的理论依据.

4　结论

4.1　EPS 分泌增强型菌株(Δ*mucA*)具有更强的细胞疏水性及最低的 XDLVO 排斥势垒,表现出最高的 MPs 附着量和最强的抗氯能力.相反,鞭毛缺失株(Δ*fliC*)因电子供体能力较弱,附着能力最差,验证了鞭毛在介导细菌初始附着中的关键作用.

4.2　低至中等离子强度(≤30mmol/L NaCl)可有效压缩双电层,显著降低细菌与 MPs 间的能垒,从而促进附着并增强抗氯性;而高离子强度(100mmol/L NaCl)则由于 MPs 表面电负性增强以及渗透胁迫作用,显著抑制细菌的附着与存活.

4.3　氯消毒(1.0mg/L)虽可有效灭活游离细菌,但同时诱导 EPS 分泌增加,并增强细菌表面对 MPs 的疏水性与范德华吸引力,从而显著提升 MPs 表面的细菌附着率,削弱整体消毒效果.

4.4　EPS 分泌旺盛的菌株可将 MPs 转化为潜在的微生物庇护所,显著提高其在消毒条件下的生存和定殖能力,提示饮用水系统中 MPs 作为病原菌载体的风险不容忽视.

参考文献：

[1] Nguyen L H, Nguyen B S, Le D T, et al. A concept for the biotechnological minimizing of emerging plastics, micro- and nano-plastics pollutants from the environment: A review [J]. Environmental Research, 2023,216:114342.

[2] Cole M, Lindeque P, Halsband C, et al. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review [J]. Marine Pollution Bulletin, 2011,62(12):2588-2597.

[3] Rochman C M, Hoellein T. The global odyssey of plastic pollution [J]. Science, 2020,368(6496):1184-1185.

[4] Wang Z, Lin T, Chen W. Occurrence and removal of microplastics in an advanced drinking water treatment plant (ADWTP) [J]. Science of The Total Environment, 2020,700:134520.

[5] Yang X, Zhou Y, Xia R, et al. Microplastics and chemical leachates from plastic pipes are associated with increased virulence and antimicrobial resistance potential of drinking water microbial communities [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024,463:132900.

[6] 王俊杰,陈晓晨,李权达,等.老化作用对微塑料吸附镉的影响及其机制 [J]. 环境科学, 2022,43(4):2030-2038.
Wang J J, Chen X C, Li Q D, et al. Effects of aging on the Cd adsorption by microplastics and the relevant mechanisms [J]. Environmental Science, 2022,43(4):2030-2038.

[7] 王　林,王姝歆,曾祥英,等.老化作用对微塑料吸附四环素的影响及其机制 [J]. 环境科学, 2022,43(10):4511-4521.
Wang L, Wang S X, Zeng X Y, et al. Effect of aging on adsorption of tetracycline by microplastics and the mechanisms [J]. Environmental Science, 2022,43(10):4511-4521.

[8] Liu X, Shi H, Xie B, et al. Microplastics as both a sink and a source of bisphenol A in the marine environment [J]. Environmental Science & Technology, 2019,53(17):10188-10196.

[9] Shu J, Hou S, Cao H, et al. Spread performance and underlying mechanisms of pathogenic bacteria and antibiotic resistance genes adhered on microplastics in the sediments of different urban water bodies [J]. Environmental Pollution, 2025,382:126758.

[10] 李　雪,罗玉华,李　华,等.水环境中微塑料与微生物的相互作用研究进展 [J]. 中国环境科学, 2024,44(12):6962-6971.
Li X, Luo Y H, Li H, et al. Advances in the study of microplastic-microbial interactions in the aquatic environment [J]. China Environmental Science, 2024,44(12):6962-6971.

[11] Montoya D, Rastelli E, Casotti R, et al. Microplastics alter the functioning of marine microbial ecosystems [J]. Ecology and Evolution, 2024,14(11):e70041.

[12] Shen M, Zhao Y, Liu S, et al. Can microplastics and disinfectant resistance genes pose conceivable threats to water disinfection process? [J]. Science of The Total Environment, 2023,905:167192.

[13] He W, Luo J, Huang J, et al. Two-stage injection of polymer and microsand during ballasted flocculation for treating kaolin waters with or without humic acid: Floc evolutional characteristics, performance and mechanisms [J]. Water Research, 2024,259:121846.

[14] Shen M, Zeng Z, Li L, et al. Microplastics act as an important protective umbrella for bacteria during water/wastewater disinfection [J]. Journal of Cleaner Production, 2021,315:128188.

[15] He S, Jia M, Xiang Y, et al. Biofilm on microplastics in aqueous environment: Physicochemical properties and environmental implications [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022,424:127286.

[16] Tiwari N, Santhiya D, Sharma J G. Microbial remediation of micro-

nano plastics: Current knowledge and future trends [J]. Environmental Pollution, 2020,265:115044.

[17] He L, Qin J, Guo J, et al. Freeze−thaw treatment of bacteria significantly affects bacterial transport behaviors in both saturated and unsaturated porous media: Deep investigation the roles of flagella and extracellular polymeric substances [J]. Science of The Total Environment, 2023,890:164083.

[18] Baquero F, Coque T M, Martínez J L, et al. Gene Transmission in the One Health Microbiosphere and the Channels of Antimicrobial Resistance [J]. Frontiers in Microbiology, 2019,10:2892.

[19] Cunha C, Faria M, Nogueira N, et al. Marine vs freshwater microalgae exopolymers as biosolutions to microplastics pollution [J]. Environmental Pollution, 2019,249:372−380.

[20] Xia L, Chen M, Li G, et al. Can photocatalysis inhibit interspecies bacterial cooperation to quench the formation of robust complex bacterial biofilms in water environments? [J]. Water Research, 2024, 262:122137.

[21] Busalmen J P, De Sánchez S R. Influence of surface oxides on the adhesion of a wild strain of Pseudomonas sp. to aluminium brass [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2003,52(1):13−19.

[22] Habib S, Iruthayam A, Abd Shukor M Y, et al. Biodeterioration of Untreated Polypropylene Microplastic Particles by Antarctic Bacteria [J]. Polymers, 2020,12(11):2616.

[23] Cheng Y, Lu J, Fu S, et al. Enhanced propagation of intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in municipal wastewater by microplastics [J]. Environmental Pollution, 2022,292:118284.

[24] Wang D, Zhang W, Hao X, et al. Transport of biochar particles in saturated granular media: Effects of pyrolysis temperature and particle size [J]. Environmental Science & Technology, 2013,47(2):821−828.

[25] Xu K, Li Y, Zou X, et al. Investigating microalgae cell−microsphere interactions during microalgae harvesting by ballasted dissolved air flotation through XDLVO theory [J]. Biochemical Engineering Journal, 2018,137:294−304.

[26] Van Oss C J, Chaudhury M K, Good R J. Interfacial Lifshitz−van der Waals and polar interactions in macroscopic systems [J]. Chemical Reviews, 1988,88(6):927−941.

[27] Rummel C D, Jahnke A, Gorokhova E, et al. Impacts of biofilm formation on the fate and potential effects of microplastic in the aquatic environment [J]. Environmental Science & Technology Letters, 2017,4(7):258−267.

[28] Liu W, Gu C, Li J, et al. High salinity alters the adsorption behavior of microplastics towards typical pollutants and the phytotoxicity of microplastics to Synechococcus [J]. Sustainability, 2024,16(3):1107.

[29] Wu X, Lyu X, Li Z, et al. Transport of polystyrene nanoplastics in natural soils: Effect of soil properties, ionic strength and cation type [J]. Science of The Total Environment, 2020,707:136065.

[30] Xue Z, Seo Y. Impact of chlorine disinfection on redistribution of cell clusters from biofilms [J]. Environmental Science & Technology, 2013:130110105143004.

[31] Fathiah Mohamed Zuki, Pourzolfaghar H, Edyvean R G J, et al. Interpretation of initial adhesion of Pseudomonas putida on Hematite and Quartz using surface thermodynamics, DLVO, and XDLVO theories [J]. Surface Engineering and Applied Electrochemistry, 2022, 58(5):478−490.

[32] Azeredo J, Oliveira R. The role of exopolymers in the attachment of *sphingomonas paucimobilis* [J]. Biofouling, 2000,16(1):59−67.

[33] Yoshihara A, Nobuhira N, Narahara H, et al. Estimation of the adhesive force distribution for the flagellar adhesion of Escherichia coli on a glass surface [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015,131:67−72.

[34] Sheng G P, Yu H Q, Li X Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review [J]. Biotechnology Advances, 2010,28(6):882−894.

[35] Magalhães E A, De Jesus H E, Pereira P H F, et al. Beach sand plastispheres are hotspots for antibiotic resistance genes and potentially pathogenic bacteria even in beaches with good water quality [J]. Environmental Pollution, 2024,344:123237.

[36] Zita A, Hermansson M. Effects of ionic strength on bacterial adhesion and stability of flocs in a wastewater activated sludge system [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994,60(9):3041−3048.

[37] Shemesh M, Kolter R, Losick R. The biocide chlorine dioxide stimulates biofilm formation in *Bacillus subtilis* by activation of the histidine kinase kinC [J]. Journal of Bacteriology, 2010,192(24): 6352−6356.

[38] Ershov V A, Ershov B G. Oxidative dissolution and the aggregation of silver nanoparticles in drinking and natural waters: The influence of the medium on the process development [J]. Toxics, 2024,12(10):757.

作者简介：何豫馨(2002−),女,四川乐山人,合肥工业大学硕士研究生,主要研究为微塑料对细菌抗生素抗性传播的影响.发表论文 1 篇. 1452273346@qq.com.