

酿酒酵母与 Ag^+ 的相互作用机制研究

陈灿, 王建龙*

(清华大学核能与新能源技术研究院环境技术研究室, 北京 100084)

摘要: 为探讨酿酒酵母与 Ag^+ 的相互作用机制, 分析了酵母吸附 Ag^+ 过程中细胞阳离子的释放状况, 并利用红外光谱 (FTIR)、带能谱仪的扫描电镜 (SEM-EDX)、带能谱仪的透射电镜 (TEM-EDX) 等手段表征了酵母细胞在吸附 Ag^+ 前后表面官能团的变化以及 Ag^+ 在酵母细胞中的存在位置和状态. 结果表明, 酵母细胞吸附 Ag^+ 伴随着大量细胞阳离子 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 的释放. Ag^+ 的存在会抑制体系 pH 值增加, 并促进 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 的释放. 与 Ag^+ 的吸附类似, K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 的释放也很快, 并且符合准二级动力学方程. 酵母对 Ag^+ 的吸附, 可被认为是离子交换机制和共价结合机制共同发挥作用. FTIR 证明酵母表面羧基对 Ag^+ 的吸附发挥重要作用. 电镜分析结果表明, 酵母细胞表面不仅吸附了 Ag^+ , 同时产生更高浓度的含 Ag 沉淀物, 使 Ag^+ 从溶液中去掉, 这些含 Ag 沉淀不均匀地分布于细胞表面, 含 Ag 沉淀的性质以及形成过程还需要借助其他分析手段进行进一步确认.

关键词: 酿酒酵母; 生物吸附; Ag^+ ; 相互作用; 机制

中图分类号: X703.1; X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)12-3561-07

Mechanism of Interaction Between Ag^+ and *Saccharomyces cerevisiae*

CHEN Can, WANG Jian-long

(Laboratory of Environmental Technology, INET, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: To understand the characteristics of Ag^+ biosorption by the waste biomass of *Saccharomyces cerevisiae*, the release phenomena of the cell physiological cations, such as K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ , and pH value change during Ag^+ uptake were investigated. The presence of Ag^+ promoted the release of the cations, and decreased the absorption of H^+ . Ion exchange was one of the mechanisms involved in metal-microbe interaction. Ag^+ also exhibited a degree covalent binding with the biomass. Both Ag^+ uptake and cation release (K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} or Na^+) followed the pseudo-second order kinetics. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) indicated that the carboxyl group on the surface of the cells could play important role in metal-microbe interaction. The scanning electron microscopy with energy-dispersive X-ray analysis (SEM-EDX) and transmission electron microscopy with energy-dispersive X-ray analysis (TEM-EDX) were used to directly observe the change of the component elements and surface configuration of the cells before and after the interaction of the microbe with Ag^+ , and the results proved that Ag^+ was adsorbed by the cell surface. Simultaneously, the precipitate containing Ag with higher concentration than the surface-adsorbed Ag was formed on the cell surface also resulted in the removal of Ag^+ from the aqueous solution.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*; biosorption; Ag^+ ; interaction; mechanism

银广泛应用于现代工业、医学、宇宙航空以及科学研究中. 银自然资源缺乏, 对细胞毒性大, 又是一种污染元素, 从废水中回收和去除银具有重要的经济意义和环境意义.

生物吸附法是一种新兴的废水处理方法, 利用生物吸附剂吸附 Ag^+ 已有一些报道. 酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 是一类重要工业微生物, 利用酵母作为原材料, 可以降低生物吸附剂生产成本, 具有廉价、来源稳定、量大、易于获得和安全的特点, 有利于生物吸附的工业化应用^[1]. 关于酿酒酵母吸附 Ag^+ 的特性, 特别是 Ag^+ 与酵母细胞的相互作用机制方面还缺乏研究.

本研究分析了酵母吸附 Ag^+ 过程中细胞阳离子释放情况以及体系 pH 值变化情况, 并借助富里叶变换红外光谱 (FTIR)、带能谱的扫描电镜 (SEM-

EDX)、带能谱的透射电镜 (TEM-EDX) 等方法对 Ag^+ 与酵母细胞的相互作用机制进行了探讨.

1 材料与方法

1.1 菌株

酿酒酵母由燕京啤酒厂提供, 研磨后过 $150\ \mu\text{m}$ 筛, 保存于干燥器中备用.

1.2 试剂

用去离子水将分析纯 AgNO_3 配制为 Ag^+ 浓度为 $10\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的储备液, 使用前用去离子水稀释.

收稿日期: 2007-12-13; 修订日期: 2008-01-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (50830302); 国家重点实验室 (环境模拟与污染控制国家重点联合实验室) 专项基金项目 (08K05ESPCT); 中国博士后科学基金项目 (20080430350)

作者简介: 陈灿 (1973 ~), 女, 博士, 主要研究方向为水污染控制, E-mail: chencan@tsinghua.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: wangjl@tsinghua.edu.cn

1.3 生物吸附试验方法

取 0.1 g(干重)酵母细胞、100 mL 硝酸银离子溶液于 250 mL 锥形瓶中,此时酵母细胞浓度为 1 g/L.置于恒温摇床上振荡(30℃, 150 r·min⁻¹),然后离心分离(12 000 r·min⁻¹, 5 min),收集上清液测量金属离子浓度并测量 pH 值,计算酵母吸附量.2 个平行样,1 个空白样,取平均值.

1.4 分析方法

ICP-AES(全谱直读等离子体发射光谱仪,美国热电 IRIS Intrepid II XSP)或火焰原子吸收法(原子吸收分光光谱仪,德国 AAS 6 Vario)测定上清液金属离子 Ag⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Na⁺ 浓度.用 pH 计(意大利 HANNA HI223 或美国热电 ORION 4 STAR)测量溶液 pH 值.

1.5 计算方法

生物吸附量:
$$q_t(\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}) = [(c_0 - c_t) \times V/W]/1\,000 \quad (1)$$

去除率: $\eta(\%) = (c_0 - c_t)/c_0 \times 100 \quad (2)$
式中, t : 反应时间(h); c_0 : 重金属离子初始浓度 (mmol L⁻¹); c_t : 反应 t 时刻溶液中重金属离子的浓度 (mmol·L⁻¹); V : 反应溶液体积 (mL); W : 酵母细胞干重 (g).

1.6 FTIR 样品制备与测量

按 1.3 方法进行吸附实验.干酵母 0.1 g(干重)置于 100 mL 三角瓶,与 50 mL 水溶液(初始 pH=4)反应,振荡反应一定时间(30℃, 150 r/min)后酵母离心洗涤 2~3 次.然后冷冻干燥.取少量干燥的酵母样品与少量 KBr 晶体混匀,研细,压片制样后测定 IR 谱.分析仪器:Perkin-Elmer 公司富里叶变换红外和拉曼光谱仪(Spectrum GX).

1.7 SEM-EDX 样品的制备与测量

吸附反应后的酵母细胞用去离子水离心洗涤 2~3 次后冷冻干燥.采用导电胶粘附形式进行检测.样品镀碳膜,在低真空方式下观察.仪器型号:环境电子扫描显微镜 FEI Quanta 200 FEG(荷兰).

1.8 TEM 样品的制备与测量

酵母样品用去离子水离心洗涤 2~3 次,稀释适当倍数,然后滴加于铜网上,待自然干燥后用高分辨透射电镜 JEM-1010 在 120 kV 电子加速电压下观察.

2 结果与讨论

2.1 酵母吸附 Ag⁺ 过程中细胞阳离子 K⁺、Na⁺、Mg²⁺、Ca²⁺ 的释放

酵母吸附 Ag⁺ 过程中(简称 Ag-Bio 吸附系统),

细胞同时释放大量的阳离子 K⁺、Na⁺、Mg²⁺、Ca²⁺, 释放量分别约为:0.638~0.703、0.078~0.096、0.014~0.016、0.004~0.021 mmol·g⁻¹(图 1).众多文献报道了不同状态酵母以及其他生物体在吸附重金属离子过程中释放 K⁺、Na⁺、Mg²⁺ 或 Ca²⁺[1~3].与空白生物吸附系统(简称 Bio 系统)释放的阳离子量进行比较,发现 Ag⁺ 可以促进酵母释放更多的 Mg²⁺ 和 Ca²⁺(而 Na⁺、K⁺ 则相差不大),比空白生物系统净增长 0.036~0.045 mmol·g⁻¹.以 meq·g⁻¹ 为单位进行比较,发现多释放的 (Mg²⁺ + Ca²⁺) 的量是对应时间酵母对 Ag⁺ 吸附量的 27%~42%.由于 Mg²⁺、Ca²⁺ 等离子的释放通常作为离子交换机制在生物吸附中起作用的标志[4],结果表明废弃干酵母吸附 Ag⁺ 的过程存在离子交换机制,并且当 Ag⁺ 初始浓度是 0.5 mmol·L⁻¹,干酵母浓度 1 g·L⁻¹ 条件下,离子交换对 Ag⁺ 吸附的贡献率不超过 42%,说明还有其他作用机制在起作用.实际上随着 Ag⁺ 初始浓度(平衡浓度)的升高, (Mg²⁺ + Ca²⁺) 的释放量占相应 Ag⁺ 吸附量的比值 j (以 meq·g⁻¹ 为单位进行计算)迅速下降.当 Ag⁺ 离子初始浓度在 1.0 mmol·L⁻¹、平衡浓度在 0.72 mmol·L⁻¹ 及以上时, (Mg²⁺ + Ca²⁺) 释放量与 Ag⁺ 的吸附量的比值趋于平衡(见图 2),说明离子交换机制随着 Ag⁺ 浓度的升高在生物吸附过程中发挥的作用迅速下降,至基本维持不变.

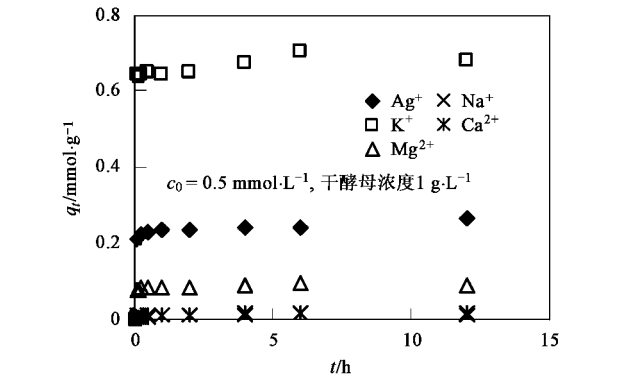


图 1 酵母吸附 Ag⁺ 过程 K⁺、Na⁺、Mg²⁺、Ca²⁺ 释放量随时间的变化

Fig.1 K⁺, Na⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ release during Ag⁺ uptake by the waste yeast cells

Singelton 等[5]报道了 1 株酿酒酵母在吸附 Ag⁺ 的同时释放 H⁺、Ca²⁺、Mg²⁺, 且 H⁺ 释放受细胞浓度影响大,认为 Ag⁺ 主要以共价相互作用与酵母表面结合. Akthar 等[6]利用经过碱处理过的真菌 *Aspergillus niger* 吸附 Ag⁺, 发现 Ag⁺ 的吸附仅仅用与细胞表面 Mg²⁺、Ca²⁺ 的交换机制即可以解释,所吸

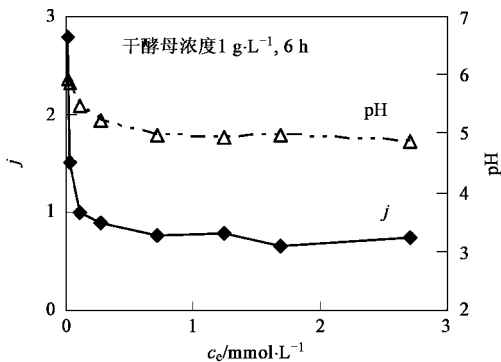


图2 体系 pH 值、干酵母(Mg²⁺ + Ca²⁺)释放量与 Ag⁺ 吸附量的比值 *j* 随 Ag⁺ 平衡浓度的变化

Fig.2 Final pH and the ratio of Mg²⁺ plus Ca²⁺ release quantity to Ag⁺ uptake quantity (based on meq·g⁻¹)

附的 Ag⁺ 可以用稀硝酸充分洗脱.然而更多的报道认为离子交换机制在重金属离子的生物吸附中仅起部分作用^[1,4].

图2还显示,随着 Ag⁺ 平衡浓度(初始浓度)的升高,吸附量升高(未显示),生物吸附体系 pH 值却不断降低(抑制了体系 pH 值升高幅度),说明 Ag⁺ 与 H⁺ 可能存在竞争关系,降低酵母吸附 H⁺ 的程度,或者与细胞表面 H⁺ 发生交换作用,表现出 Ag⁺ 与细胞表面的结合具有部分共价结合性质^[7].这与

金属离子的软硬分类原则是一致的. Ag⁺ 作为软离子,易优先与细胞表面 S 结合,其次是 N,结合力最弱的为 O^[8].

根据上述分析,酵母对 Ag⁺ 的吸附,可以认为是离子交换机制和共价结合机制共同发挥了作用.

通常,用于描述重金属离子生物吸附过程的动力学方程为准二级速率方程^[9]:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{v_2} + \frac{t}{q_e}$$

(3)

式中, *q_e* 为平衡吸附量(mmol·g⁻¹), *v₂* 为准二级方程初始吸附速率[mmol·(g·h)⁻¹].

重金属生物吸附过程中,人们对细胞阳离子的释放虽然有所研究,但是阳离子释放动力学还鲜见报道.利用准二级速率方程对本实验数据(包括 Ag-Bio 体系、空白 Bio 体系)进行拟合,得到动力学方程参数,结果见表1.其中 *k₂* 是准二级速率方程常数[g/(mmol·h)].表1显示, Ag⁺ 吸附过程以及 K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Na⁺ 释放过程都符合准二级速率方程, *R*² 都在 0.99 以上.比较各系统中各离子初始释放或吸附速率,发现除 Na⁺ 外, Ag⁺ 可以促进酵母更快、更多地释放 K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺,特别是 Mg²⁺、Ca²⁺,与前述结果一致.表1还显示, K⁺ 初始释放速率最大, Ca²⁺ 初始释放速率最小.

表1 废弃干酿酒酵母吸附 Ag⁺ 以及细胞阳离子 K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Na⁺ 释放的准二级动力学方程参数¹⁾

Table 1 Parameters of the pseudo-second order rate equation of Ag ⁺ uptake and the cation release (K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Na ⁺) by the waste yeast						
反应系统	离子	<i>v₂</i> /mmol·(g·h) ⁻¹	<i>k₂</i> /g·(mmol·h) ⁻¹	<i>q_e</i> /mmol·g ⁻¹	<i>q_e</i> 实测值/mmol·g ⁻¹	<i>R</i> ²
Ag-Bio	Ag ⁺	1.989 7	29.14	0.261 3	0.263 8	0.998
	K ⁺	25.839 8	55.18	0.684 3	0.679 5	0.999
	Mg ²⁺	2.345 8	269.47	0.093 3	0.0924 3	0.999
	Na ⁺	0.649 6	2 827.27	0.015 16	0.014 93	0.998
	Ca ²⁺	0.029 4	61.12	0.021 9	0.020 61	0.996
Bio	K ⁺	17.391 3	39.21	0.666 0	0.667	1
	Mg ²⁺	0.428 7	112.08	0.061 9	0.061 73	0.999
	Na ⁺	0.179 2	667.23	0.016 39	0.016 7	0.996
	Ca ²⁺	0.012 1	41.20	0.017 1	0.015 38	0.997

1) *c*₀ = 0.5 mmol·L⁻¹, 干酵母浓度 1 g/L, 0 ~ 12 h

2.2 FTIR 分析

酵母细胞吸附 Ag⁺ 前后的红外图谱见图3.根据文献[10~13],分析如下:出现在3 355 cm⁻¹的强宽峰,是典型的缔合羟基,该缔合羟基可与酰胺Ⅱ带(RNHCOCH₃)中的 N—H(伸缩振动)以某种程度的氢键结合,也可能反映了酰胺中 N—H 的伸缩振动.

2 926 cm⁻¹为 CH₂ 的不对称伸缩振动峰.1 657 cm⁻¹处的吸收峰为酰胺Ⅰ带,是羰基强吸收, C=O 的伸缩振动,如—CONH₂.1 535 cm⁻¹吸收峰为酰胺Ⅱ带,是 N—H 弯曲振动和 C—N 伸缩振动.1 237 cm⁻¹为酰胺Ⅲ带,是 C—N 伸缩振动和 N—H 弯曲振动,可能有 P=O 伸缩振动的贡献,或含 S 基团的非对

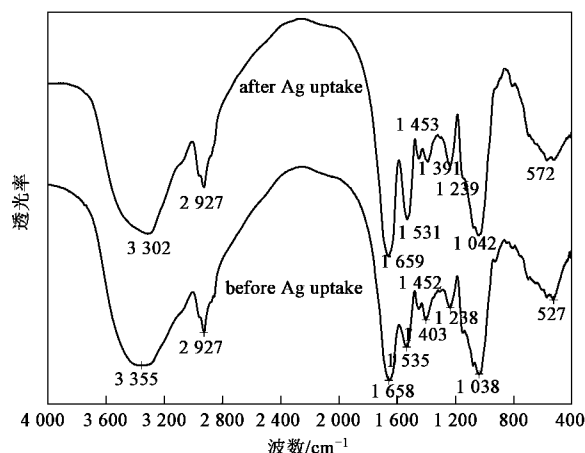


图3 废弃干酵母吸附 Ag^+ 前后的红外谱图

Fig.3 FTIR spectra of the waste yeast cell of *S. cerevisiae* before and after Ag^+ uptake

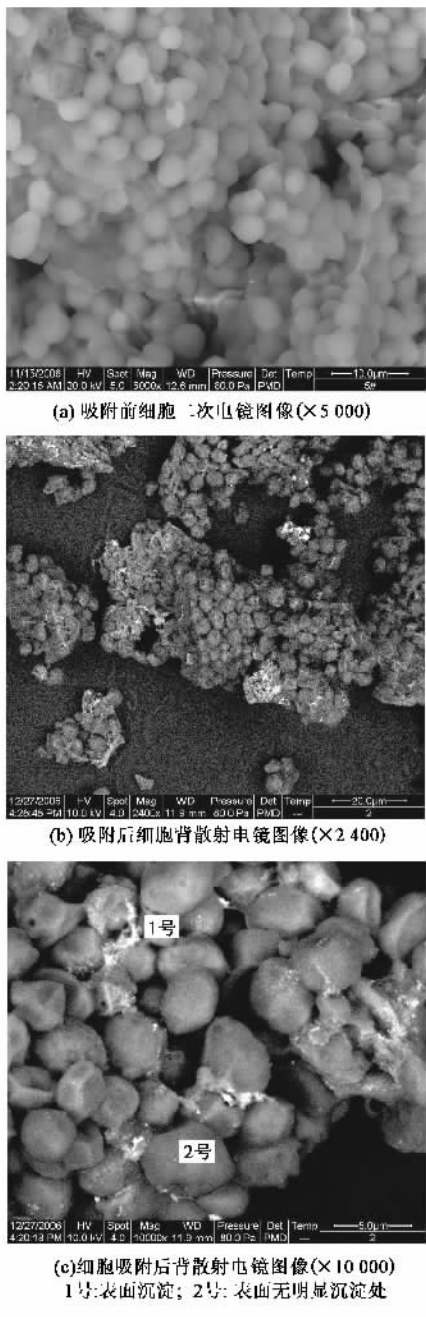
称伸缩振动, C—S—O 的贡献. 其中酰胺 I 带、II 带是蛋白质的特征谱带. 酰胺键可来源于细胞壁表面蛋白质缩氨酸键或几丁质聚 *N*-乙酰氨基葡萄糖. 1452 cm^{-1} 为 CH_3 与 CH_2 的弯曲振动. 1403 cm^{-1} 是羧酸阴离子(羧酸酯)的对称振动或 CH_3 变形振动, 是 C—O 的伸缩振动峰, 糖醛酸中 COOH 伸缩振动的特征峰. 1038 cm^{-1} 为糖类的 C—O—H 的伸缩振动, 可能含 P—O—C 伸缩振动的贡献. $1000 \sim 1200\text{ cm}^{-1}$ 的吸收峰是所有已知糖类的特征峰范围. 在 $812, 574, 525\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收, 由于指纹区的复杂性, 进行吸收谱带的判属有一定难度, 这里不作分析. 上述结果表明酵母细胞的主要成分是含有大量羟基的多糖化合物以及蛋白质等物质. 酵母细胞吸附 Ag^+ 后, 红外谱图的变化主要有 3 点: ①表征羧基的 C—O 伸缩振动峰发生位移, 从 1403 cm^{-1} 变化为 1391 cm^{-1} , 结合上述文献认为细胞表面羧基团发挥了重要作用; ②羟基或氨基的伸缩振动峰位移 53 cm^{-1} (从 3355 降低到 3302 cm^{-1}), 说明羟基、氨基在酵母吸附重金属离子过程中发挥了作用; ③在 1535 cm^{-1} (酰胺 II 带, 是 N—H 弯曲振动和 C—N 伸缩振动) 以及 1038 cm^{-1} (表征多糖 C—O 或 P—O—C 振动的峰) 有减小或增加 4 cm^{-1} 的微小变化, 说明 Ag^+ 干扰了细胞表面官能团的微环境, 不排除相关元素如 O、N 等参与了酵母吸附 Ag^+ 的可能性. 羧基在重金属生物吸附中发挥了重要作用, 许多文献有所报道, 如乳酸菌对 Ag^+ 的吸附^[11], *Pseudomonas* sp. 对 La 的吸附^[14], 植物 *Atriplex canescens* 对 Cd 和 Cr(III) 的吸附^[13], 干燥褐藻对 Cu^{2+} 的吸附^[15]. Torres 等^[11] 证

实海藻酸钙表面的羧基以及羟基是 Ag^+ 主要吸附位. 酵母表面羧基和氨基在吸附 Cu^{2+} 中发挥了重要作用^[12]. Gomes 等^[16] 证实羧基是某株红酵母 *Rhodotorula mucilaginosa* 吸附 Ag^+ 的主要活性位点. 尽管细胞表面羧基可能发挥主要或者首要的作用, 但是其他基团如氨基、磷酸基等也可能发挥作用^[15].

2.3 SEM-EDX 分析

废弃干酵母吸附 Ag^+ 前后的 SEM 照片以 EDX 能谱分析结果分别见图 4、图 5. 反应前, 酵母细胞表面干净, 可以检测到 C、N、K、P、S、O、Mg 等成分[见图 4(a)]. 与 Ag^+ 作用后, 酵母细胞椭球状形貌变化不大, 并仍然保留 C、N、P、S、O 成分. 细胞表面 Ag 峰出现, 说明细胞表面吸附了 Ag^+ . 同时, K、Mg 峰消失, 进一步证实酵母吸附 Ag^+ 过程中释放 K^+ 、 Mg^{2+} 以至酵母细胞表面含量降低至 EDX 观测不出. 干酵母细胞表面不仅吸附了 Ag^+ [见图 4(c)2 号位, Ag 原子比达到 0.77%], 同时产生更高浓度的含 Ag 沉淀物[见图 4(c)1 号位, Ag 原子比达到 2.46%]使 Ag^+ 从溶液中去除. 这些含 Ag 沉淀不均匀分布于细胞表面, 见图 4(b).

Simmons 等^[17] 利用无活性冷冻干燥酿酒酵母吸附 Ag^+ , 发现细胞壁和细胞内有含 Ag 沉淀, 主要成分是 Ag 和 S, 尽管初步推测是死细胞残余酶活性将 Ag^+ 还原为 Ag_2S , 但是仍然不能定义 Ag^+ 与酵母细胞相互作用的准确性质以及导致形成沉淀的细胞组分. 李映蓉等^[18] 分别利用一种绿藻和一种硅藻吸附 Ag^+ , 发现细胞表面出现大量沉积物, 同时电子密度加大, 所吸附的 Ag 覆盖了藻的整个细胞壁表面, 并经穆斯堡能谱分析, 认为被吸附的 Ag 主要以 +1 价的形式存在. 孙道华等^[19,20] 证实气单胞菌和海带在吸附过程中可以和 Ag^+ 形成沉淀沉积在细胞表面, 但未指明沉淀的成分. Lin 等^[21] 研究乳酸杆菌 *Lactobacillus* sp. 吸附 Ag^+ , 发现细胞表面出现了不均匀分布的含 Ag 纳米颗粒, 细胞不仅吸附了 Ag^+ , 并且部分 Ag^+ 被细胞表面还原为 Ag^0 . Vigneshwaran 等^[22] 利用真菌 *Aspergillus flavus* 吸附 Ag^+ , 发现细胞表面形成 Ag^0 纳米颗粒, 并推测是细胞蛋白质成分维持了单分散性 Ag 纳米颗粒形态. Torres 等^[11] 利用 SEM-EDX、XRD 等手段证实海藻酸钙小球生物吸附 Ag^+ 过程中, 形成 Ag^0 纳米颗粒沉淀在小球表面, Ag 颗粒大小与反应条件如反应时间、Ag 浓度等有关. 其他众多文献也报道了活性或非活性生物体细胞与 Ag^+ 作用后可能在细胞内或细胞外生成 Ag^0 纳米颗粒^[23,24].



$c_0 = 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 24 h, 干酵母浓度 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

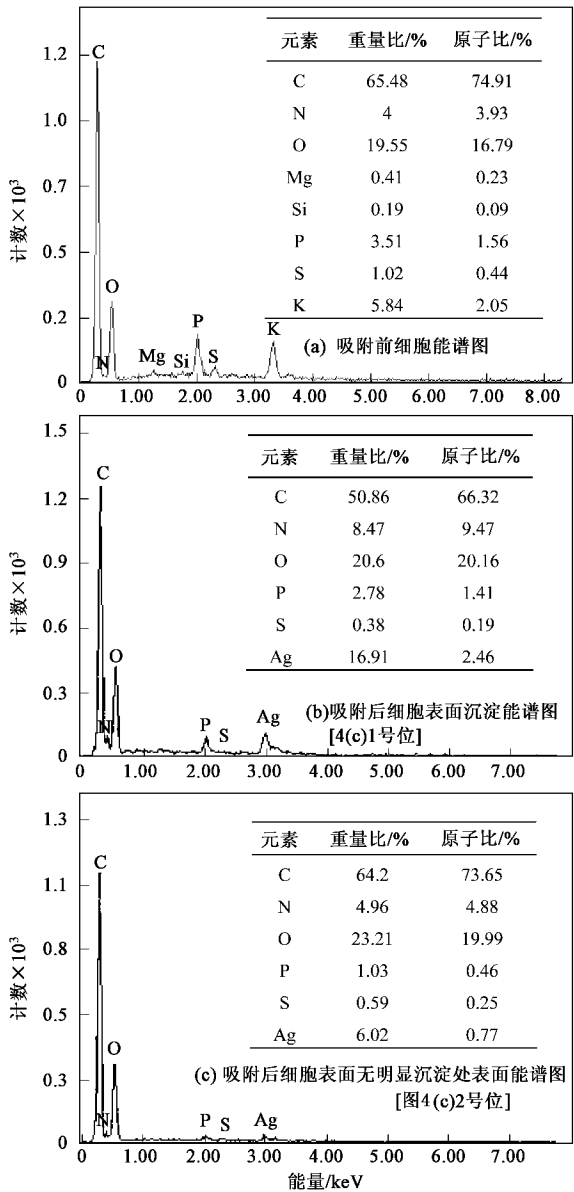
图 4 废弃干酵母吸附 Ag⁺ 前后的 SEM 特征

Fig.4 Secondary electron SEM,backscattered electron SEM of the waste yeast before and after Ag⁺ uptake

2.4 TEM-EDX 分析

进行 TEM 观察前,细胞样品未进行切片,直接滴加于 Cu 网上自然干燥后进行观察,酵母细胞较大,在 TEM 下细胞不透明,呈黑色,基本看不到细胞内部,见图 6(a).

细胞吸附高浓度 Ag⁺ (10.0 mmol·L⁻¹)后,部分细胞 Ag 表面含量高,原子比达到 22.74%,除 Cu 网



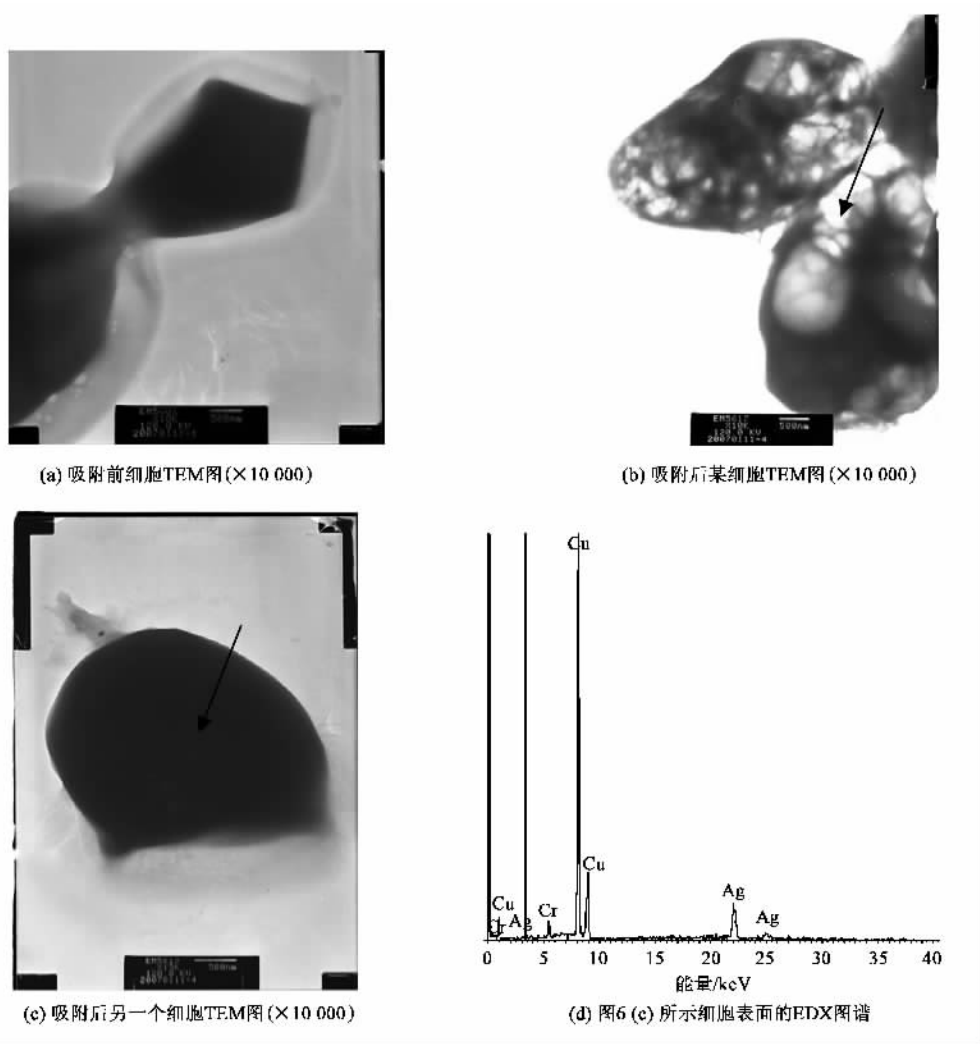
$c_0 = 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 24 h, 干酵母浓度 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

图 5 废弃干酵母吸附 Ag⁺ 前后的能谱图

Fig.5 EDX of the waste yeast before and after Ag⁺ uptake

成分以及能谱仪带来的 Cu、Cr 外,未检测到其他元素[见图 6(c)、6(d)].结合 SEM 观察到含 Ag 颗粒,推测细胞表面可能有 Ag⁰ 形成,但需要其他手段进行分析.还有的细胞似乎细胞内容物流失,使得细胞内部细胞器隐约可见[见图6(b)].但是露出的白色细胞器表面 Ag 的含量迅速下降到原子比仅 2.65%,并检测到 C、O、P 等成分(省略有关 EDX 图).Tsezos 等^[25]利用 3 种不同的微生物吸附 Ag⁺,TEX-EDX 检测到细胞表面吸附的 Ag,以及细胞成分 C、O 元素等.

本实验中含银沉淀物以及吸附了银的细胞表面



$c_0 = 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 24 h

图 6 废弃干酵母吸附 Ag^+ 前后的 TEM 以及 EDX 能谱

Fig. 6 TEM and EDX of the waste yeast cell before and after Ag^+ uptake

仍然可以检测到 C、N、P、S、O，是沉淀本身组分还是周围细胞成分，目前还不清楚。含 Ag 沉淀物的形成机制、具体成分等，还需要借助其他分析手段，例如光电子能谱(XPS)、X 射线衍射(XRD)、紫外及可见(UV-VIS)等方法进一步研究。

3 结论

(1) 酵母吸附 Ag^+ 过程中伴随着大量阳离子 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 的释放，并且 Ag^+ 抑制体系 pH 值增加，促进 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 的释放。与 Ag^+ 的吸附类似， K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 的释放也符合准二级动力学方程。

(2) 酵母对 Ag^+ 的吸附，可以认为离子交换机制和共价结合机制共同发挥了作用。

(3) FTIR 证明酵母表面羧基对 Ag^+ 的吸附发挥

了重要作用。

(4) 电镜分析结果表明，酵母细胞表面不仅吸附了 Ag^+ ，同时产生更高浓度的含 Ag 沉淀物使 Ag^+ 从溶液中去掉。这些含 Ag 沉淀不均匀分布于细胞表面。

参考文献:

[1] Wang J L, Chen C. Biosorption of heavy metal by *Saccharomyces cerevisiae*: a review[J]. Biotechnology Advances, 2006, **24**(5): 427-451.

[2] Latha J N L, Rashmi K, Mohan P M. Cell-wall-bound metal ions are not taken up in *Neurospora crassa* [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2005, **51**(12): 1021-1026.

[3] 何宝燕, 尹华, 彭辉, 等. 酵母菌吸附重金属铬的生理代谢机制及细胞形貌分析[J]. 环境科学, 2007, **28**(1): 194-198.

[4] Reddad Z, Gerente C, Andres Y, et al. Adsorption of several metal ions onto a low-cost biosorbent: kinetic and equilibrium studies[J].

- Environmental Science and Technology, 2002, **36**(9): 2067-2073.
- [5] Singleton I, Simmons P. Factors affecting silver biosorption by an industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1996, **65**(1): 21-28.
- [6] Akthar N, Sastry S, Mohan M. Biosorption of silver ions by processed *Aspergillus niger* biomass[J]. Biotechnology Letters, 1995, **17**(5): 551-556.
- [7] Brady J M, Tobin J M. Binding of hard and soft metal ions to *Rhizopus arrhizus* biomass[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1995, **17**(9): 791-796.
- [8] Chen C, Wang J L. Influence of metal ionic characteristics on their biosorption capacity by *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, **74**: 911-917.
- [9] Ho Y S, McKay G. Pseudo-second order model for sorption processes [J]. Process Biochemistry, 1999, **34**(5): 451-465.
- [10] 卢涌泉, 邓振华. 实用红外光谱解析[M]. 北京: 电子工业出版社, 1989. 21-34.
- [11] Torres E, Mata Y N, Blazquez A L, *et al.* Gold and silver uptake and nanoprecipitation on calcium alginate beads[J]. Langmuir, 2005, **21**(17): 7951-7958.
- [12] Han R P, Yang G Y, Zhang J H, *et al.* Study on mechanism of beer yeast adsorbing copper ion by spectroscopy [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2006, **26**(12): 2334-2337.
- [13] Sawalha M F, Peralta-Videa J R, Saupe G B, *et al.* Using FTIR to corroborate the identity of functional groups involved in the binding of Cd and Cr to saltbush (*Atriplex canescens*) biomass [J]. Chemosphere, 2007, **66**(8): 1424-1430.
- [14] Kazy S K, Das S K, Sar P. Lanthanum biosorption by a *Pseudomonas* sp.: equilibrium studies and chemical characterization[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2006, **33**(9): 773-783.
- [15] Murphy V, Hughes H, McLoughlin P. Cu(II) binding by dried biomass of red, green and brown macroalgae[J]. Water Research, 2007, **41**(4): 731-740.
- [16] Gomes N C M, Rosa C A, Pimentel P F, *et al.* Uptake of free and complexed silver ions by different strains of *Rhodotorula mucilaginosa* [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2002, **33**(1): 62-66.
- [17] Simmons P, Singleton I. A method to increase silver biosorption by an industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1996, **45**(1-2): 278-285.
- [18] 李映苓, 王若南, 赵逸云, 等. 斜生栅藻和汉氏菱形藻对 $\text{Ag}(\text{I})$ 离子吸附的比较研究[J]. 贵金属, 2004, **25**(1): 7-10.
- [19] 孙道华, 李清彪, 凌雪萍, 等. 气单胞菌 SH10 吸附银离子机制的研究[J]. 环境科学学报, 2006, **26**(7): 1107-1110.
- [20] 孙道华, 李清彪, 王琳, 等. 海带吸附银离子机制的研究[J]. 化学工程, 2007, **35**(1): 1-4.
- [21] Lin Z Y, Zhou C H, Wu J M, *et al.* A further insight into the mechanism of Ag^+ biosorption by *Lactobacillus* sp. strain A09[J]. Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2005, **61**(6): 1195-1200.
- [22] Vigneshwaran N, Ashtaputre N M, Varadarajan P V, *et al.* Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus* [J]. Materials Letters, 2007, **61**(6): 1413-1418.
- [23] Sastry M, Ahmad A, Khan M I, *et al.* Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete [J]. Current Science, 2003, **85**(2): 162-170.
- [24] Mandal D, Bolander M E, Mukhopadhyay D, *et al.* The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application[J]. Applied Microbiology And Biotechnology, 2006, **69**(5): 485-492.
- [25] Tsezos M, Remoudaki E, Angelatou V. Biosorption sites of selected metals using electron microscopy[J]. Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology, 1997, **118**(3): 481-487.