

陈灿,王建龙. 2011. 酿酒酵母吸附Pb(II)的表面特性研究[J]. 环境科学学报, 31(8): 1587-1593

Chen C, Wang J L. 2011. Cell surface characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* after Pb(II) uptake [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 31(8): 1587-1593

酿酒酵母吸附Pb(II)的表面特性研究

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

收稿日期: 2010-11-08 修回日期: 2010-12-10 录用日期: 2010-12-15

摘要:为深入探讨酿酒酵母吸附Pb(II)的微观作用机制,本文利用表面显微分析技术(SEM-EDS、TEM-EDS、AFM)研究了酿酒酵母细胞吸附重金属离子Pb(II)前后的细胞表面变化. 研究表明,酿酒酵母细胞与Pb(II)作用后,细胞表面除吸附Pb(II)外,同时产生大量更高浓度的含Pb(II)沉淀,导致Pb(II)从溶液中被去除. 酵母与Pb(II)反应前,酵母细胞表面可检测到的主要元素包括C、O、N、P、S、K、Mg;酵母与Pb(II)作用后,细胞表面始终保持C、O、P吸收峰,而N、K、Mg、S吸收峰随反应条件不同而减弱、消失或增强. P作为细胞表面组分可能与Pb(II)结合. 酵母与Pb(II)作用过程中,重金属离子促进酵母细胞释放细胞内含物. 原子力显微镜(AFM)证实,云母片表面对酵母吸附Pb(II)后细胞的铺展变形作用明显增大.

关键词:酿酒酵母;生物吸附;表面特性;重金属;AFM;Pb(II)

文章编号: 0253-2468(2011)08-1587-07 中图分类号: X703.1 文献标识码: A

Cell surface characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* after Pb(II) uptake

CHEN Can, WANG Jianlong*

Laboratory of Environmental Technology, INET, Tsinghua University, Beijing 100084

Received 8 November 2010; received in revised form 10 December 2010; accepted 15 December 2010

Abstract: To understand the metal-microbe interaction between Pb(II) and intact cells of *Saccharomyces cerevisiae*, the surface characteristics of yeast cells before and after adsorbing Pb(II) were investigated by scanning electron microscopy with energy-dispersive X-ray analysis (SEM-EDX), transmission electron microscopy with energy-dispersive X-ray analysis (TEM-EDX) as well as atomic force microscopy (AFM). The changes of the component elements, surface configuration and three-dimensional structures of the cells before and after interacting with Pb(II) were detected, which showed that Pb(II) was adsorbed by the cell surface. Simultaneously, a Pb-containing precipitate, with higher concentration than the surface-adsorbed Pb, was formed on the cell surface, contributing more to removing Pb(II) from the aqueous solution. The intact cells released intracellular substances during Pb(II) uptake. The morphological distortion of the yeast cells on the surface of mica sheet enlarged after uptaking Pb(II) under AFM observation.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*; biosorption; surface characteristics; heavy metals; AFM; Pb(II)

1 引言(Introduction)

生物吸附法是一种新兴的废水处理方法,目前还处于实验研究阶段(王建龙等,2010). 重金属离子与微生物细胞的相互作用机制十分复杂,缺乏系统深入的研究,限制了生物吸附法的应用(Wang and Chen, 2006; 2009). 三大表面显微分析技术:带

能谱的(EDS)的扫描电子显微镜技术(SEM)、带能谱(EDX)的透射电子显微镜技术(TEM)、原子力显微镜技术(AFM)可以从不同角度对细胞进行成像观察、分析与表征,观察细胞表面微观形貌、表面组分、三维立体构象的变化. AFM是近十几年来表面成像技术中最重要进展之一,是阐明细胞表面性质及相互作用关系的独特工具(Ahimou *et al.*,

基金项目: 国家自然科学基金(No. 50830302);中国博士后科学基金特别资助(No. 200902091)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 50830302) and the China Postdoctoral Science Foundation Special Funded Project (No. 200902091)

作者简介: 陈灿(1973—),女,博士,E-mail: chencan@tsinghua.edu.cn; *通讯作者(责任作者), E-mail: wangjl@tsinghua.edu.cn

Biography: CHEN Can (1973—), female, Ph. D., E-mail: chencan@tsinghua.edu.cn; * **Corresponding author**, E-mail: wangjl@tsinghua.edu.cn

2002; Wright *et al.*, 2006). 目前国内外环境领域研究中, SEM 最为普遍, 其次是 TEM, 应用报道最少的是 AFM. 综合利用 SEM-EDS、TEM-EDS、AFM 探讨生物吸附重金属离子的机制还较少 (Wang and Chen, 2006).

前期工作, 我们已经研究了酵母细胞吸附 Zn(II)、Pb(II)、Ag(I) 等多种金属离子的吸附性能、影响因素、吸附平衡等温特性、动力学、热力学等, 并初步探讨了生物吸附机理, 发表了部分初步研究结果 (Chen and Wang; 2007; 2008a; 2008b; 2010; 陈灿等, 2006a; 2006b; 2007; 2008a; 2008b; 2008c; 郜瑞莹等, 2007). 在此基础上本文综合利用 SEM-EDS、TEM-EDS、AFM 分析了酵母吸附 Pb(II) 前后的细胞表面特性, 为酵母细胞吸附金属离子的微观机理提供直接的信息, 也为类似体系的细胞-离子相互作用关系的表面吸附特性研究提供参考.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 菌株和试剂

新鲜活酵母是利用购买于中国科学院微生物研究所、编号为 2.606 的酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 培养所得. 培养条件: 在 YEPD 斜面培养基上于 4 °C 保存, 1~3 个月更新 1 次. YEPD 培养基成分: 酵母粉 10 g, 蛋白胨 20 g, 葡萄糖 20 g, 去离子水 1000 mL, 琼脂 20 g, 自然 pH. 液体培养基不

加琼脂. 接种前所有培养基进行高压灭菌 (115 °C, 20 min). 从斜面培养基上取一环酵母接种于 100 mL 液体 YEPD 培养基 (250 mL 锥形瓶) 中振荡培养 24 h (30 °C, 150 r·min⁻¹). 然后取 5 mL 该酵母液接种于 100 mL 液体 YEPD 培养基 (250 mL 锥形瓶) 中培养 72 h (30 °C, 150 r·min⁻¹). 去离子水离心洗涤 3 次 (3000 r·min⁻¹, 5 min), 倾去上清液, 收集离心管底部洗涤后的湿酵母与 Pb 离子溶液反应. 为便于与其它文献比较, 湿重转化为干重计算. 酵母细胞干重 (g) 的测量条件: 105 °C 烘干至恒重, 6 个平行样, 取平均值.

用去离子水将分析纯硝酸铅配制为 Pb(II) 浓度为 10 mmol·L⁻¹ 的储备液, 使用前用去离子水稀释. 不使用缓冲溶液, 以避免缓冲溶液中的成分可能干扰酵母对重金属离子的吸附.

2.2 生物吸附实验方法

根据表 1 的反应条件 (C_0 为 Pb(II) 初始浓度), 取 0.1 g (以干重计算) 离心洗涤后的湿酵母细胞与 50 mL 水溶液 (初始 pH = 4) 反应振荡 (30 °C, 150 r·min⁻¹) 一段时间, 然后离心分离 (12000 r·min⁻¹, 5 min). 测量上清液中 Pb(II) 离子浓度, 计算酵母吸附量. Pb(II) 离子浓度 C 的分析方法以及吸附量 q 计算方法见文献 (陈灿等, 2008a). 吸附后的酵母用去离子水离心洗涤 2~3 次用于电镜分析.

表 1 电镜样品说明

Table 1 Samples for SEM/TEM/AFM detection

样品编号	金属离子	吸附剂	$C_0 / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	Time/h	电镜观察
S1	原始酵母	新鲜酵母	—	—	SEM/TEM
S2	Pb ²⁺	新鲜酵母	1	8	SEM/TEM/AFM
S3	Pb ²⁺	新鲜酵母	1	0.5	SEM
S4	Pb ²⁺	新鲜酵母	0.1	8	SEM/TEM
S5	Pb ²⁺	新鲜酵母	0.1	0.5	SEM
S6	空白	新鲜酵母	0	8	AFM

2.3 SEM 样品的制备与测量

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. 样品镀膜后在高真空方式下观察. 仪器型号: 环境电子扫描显微镜 FEI Quanta 200 FEG (荷兰).

本文利用扫描电镜中的二次电子像 (secondary electron imaging, SEI) 和背散射电子像 (the backscattered electron, BSE) 来研究细胞吸附

Pb(II) 前后细胞表面特性. 二次电子信号来自于样品表面层 5~10 nm, 信号的强度对样品微区表面相对于入射束的取向非常敏感, 因此, 二次电子像适合于显示表面形貌衬度. 原子序数衬度是利用对样品表层微区原子序数或化学成分变化敏感的物理信号, 如背散射电子、吸收电子等作为调制信号而形成的一种能反映微区化学成分差别的像衬度, 实际上反映了样品相应不同区域平均原子序数的差

异,据此可定性分析样品微区的化学成分分布.背散射电子像可以较为直观地观察表面成分变化情况.

2.4 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.

2.5 AFM 样品的制备与测量

酵母样品用去离子水离心洗涤 2~3 次.用去离子水稀释适当倍数.取 20 μL 菌体悬浮液置于新解离的直径为 10 mm 的天然云母片基底上,在室温下自然干燥沉积,然后在 SPA-300HV 扫描探针显微镜(原子力显微镜)下采用轻敲模式、大气环境中进行成像观察.所用探针为商用 NSC16/AIBS 探针,微悬臂长度为 230 μm .SPI3800N 分析处理软件进行图像的处理和分析.扫描参数如扫描尺度、扫描速率、增益参数值等在成像扫描过程中根据实际情况进行调节,并以使得探针针尖加载到样品上的作用力最小且能获得稳定扫描图像质量为依据,以防止因针尖压力过大造成样品损坏及扫描图像因假象的存在而失真等情况出现.

3 结果与讨论 (Results and discussions)

3.1 扫描电子显微镜 (SEM) 观察结果与讨论

酵母与 Pb(II) 反应前,细胞已经严重变形,椭球状细胞拉伸后呈不规则杆状,细胞界限不清晰(图 1 a),这是活细胞在低渗溶液(样品制备过程中,用去离子水洗涤)环境中的一种自然反应.当营养条件变差或衰老时,酵母细胞的卵形个体拉长而变成腊肠形,一旦环境转变有利于它生长时,又可长成丰满的卵形(郑善良等,1992).与金属离子反应前,酵母细胞表面干净,没有任何沉积物出现,可以检测到 C、N、O、P、K、Mg、S 元素,EDS 分析结果见图 1b(由于 SEM 检测前,细胞表面喷碳,EDS 没有计算 C 含量).

酵母与 Pb(II) 反应后,细胞表面出现白色含 Pb 沉淀物,沉淀物多少、表面成分与 Pb 离子初始浓度、反应时间有关(见图 2).酵母与初始浓度为 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Pb(II) 反应 8 h 后,细胞椭球状形貌有所恢复,但是细胞扁平,表面膜样物覆盖,大量沉淀生成,出现明显纳米级点状物质,见图 2a、图 2b. EDX 谱图(图 2c, d)显示,吸附 Pb(II) 后,细胞表

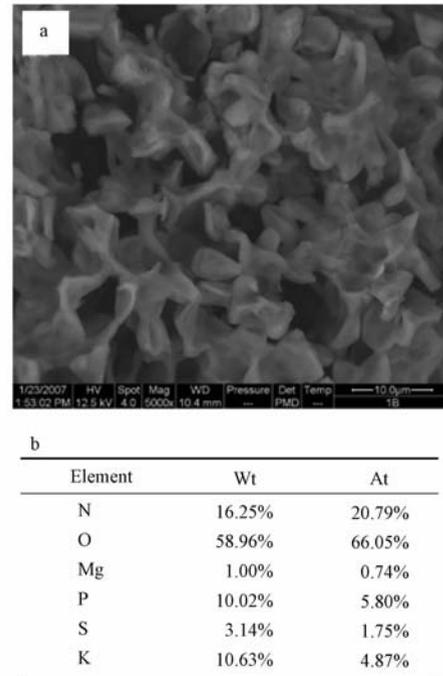


图 1 新鲜培养酵母细胞(S1)扫描电镜分析(a.背散射扫描电镜图($\times 5000$);b.S1 样品表面 EDX 能谱计算结果)

Fig. 1 SEM-EDX of the the intact cells of *S. cerevisiae* before Pb^{2+} biosorption (Sample 1) (a. BSE ($\times 5000$), b. EDX of the sample 1)

面 N、S、Mg 峰消失,K 峰含量降低或消失,P 峰保留,说明鲜酵母吸附 Pb^{2+} 过程与 K、Mg、N、S 等物质的流失有关,结合 Pb^{2+} 的表面基团可能主要是 P. 沉淀中 Pb 原子比(37.76%,图 2b 中 4[#]位)明显高于细胞表面吸附的 Pb(23.62%,图 2b 中 1[#]位),见 EDX 能谱图 2c,图 2d.反应 0.5 h,细胞表面形成的沉淀物虽然更小、更少(图 2e,2f),吸附量也更低,为 0.22 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$,低于反应 8h 时的吸附量 0.58 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$,但是沉淀已经可以被明显观察,说明酵母吸附 Pb^{2+} 形成沉淀较快,0.5 h 内即已发生.此时细胞表面较为清晰,膜样覆盖物似乎减少,可能是因为反应时间短、吸附还未平衡、释放的内部物质少.

与低浓度 Pb^{2+} (0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 接触 0.5 h、8 h,均可以观察到少量沉淀(图 2g,2h),而且反应时间对吸附量影响不大,均为 0.55 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 左右,这说明低浓度条件下,0.5 h 吸附即达到平衡.但是,EDX 未能检测出 Pb 的吸收峰,可能与 Pb 离子浓度低、细胞表面吸附量低有关,也说明 EDX 不够灵敏.与低浓度 Pb^{2+} (0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 反应 8h,细胞表面可

检测到 O、P、K、S 峰;反应 0.5 h,细胞表面组分更接近于反应前酵母细胞,可以检测到 N、O、Mg、P、S、K. 显然 N、S 元素的流失与 Pb^{2+} 初始浓度和反应时

间有关. 上述分析表明,细胞表面形貌和成分、含 Pb 沉淀的形成是一个逐步变化的过程,主要与 $Pb(II)$ 初始浓度有关,其次与时间有关.

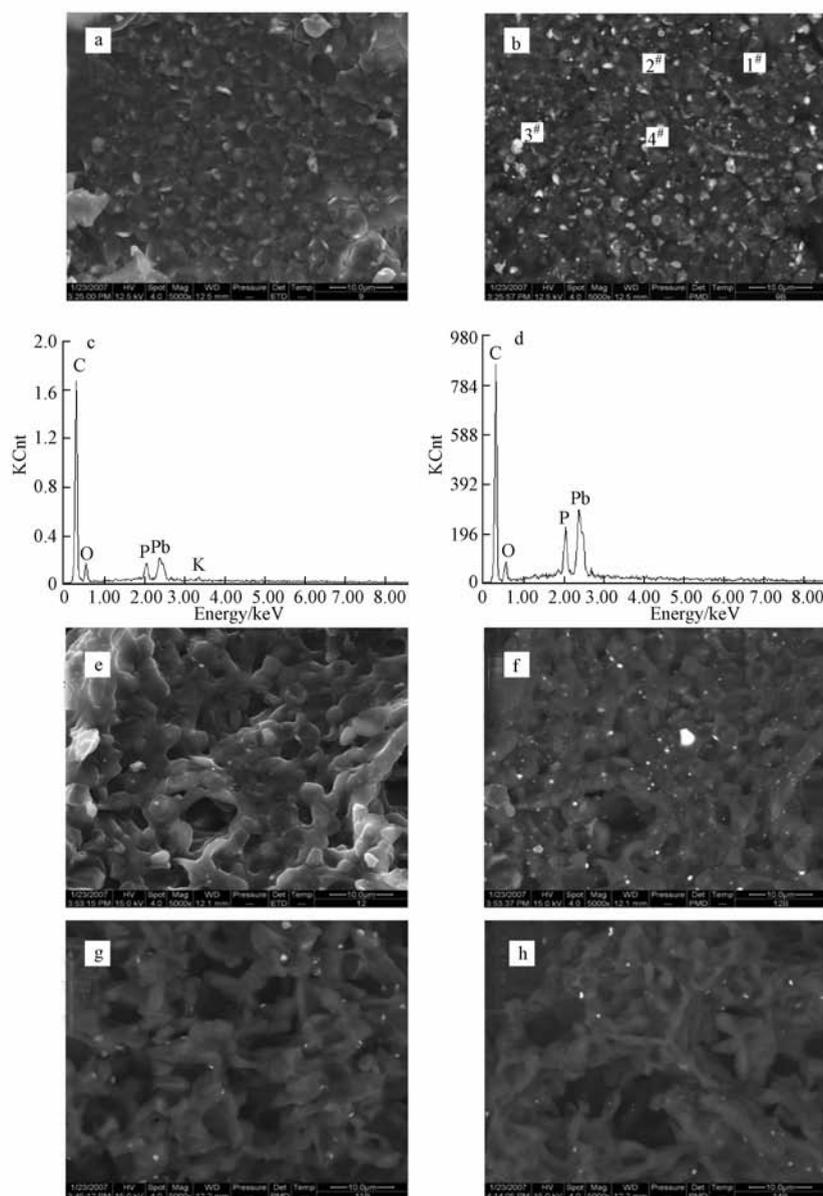


图 2 酵母细胞与 Pb^{2+} 反应后扫描电镜分析((a) SEI; S2-Pb ($1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 8h) $\times 5000$; (b) BSE; S2-Pb $\times 5000$; (c) EDX: (b) 中细胞表面, 1#位; (d) EDX: (b) 中沉淀, 4#位; (e) SEI; S3-Pb ($1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 0.5h) $\times 5000$; (f) BSE; S3-Pb $\times 5000$; (g) BSE; S4-Pb ($0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 8h) $\times 5000$; (h) BSE; S5-Pb ($0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 0.5h) $\times 5000$)

Fig. 2 SEM-EDX of the *S. cerevisiae* after contact with Pb^{2+} ((a) SEI; S2-Pb ($1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 8h) $\times 5000$; (b) BSE; S2-Pb $\times 5000$; (c) EDX: cell surface of 1# site in (b); (d) EDX: precipitate in 4# site in (b); (e) SEI; S3-Pb ($1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 0.5h) $\times 5000$; (f) BSE; S3-Pb $\times 5000$; (g) BSE; S4-Pb ($0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 8h) $\times 5000$; (h) BSE; S5-Pb ($0.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 0.5h) $\times 5000$)

3.2 透射电子显微镜 (TEM) 观察结果与讨论

在 TEM 观察下,鲜酵母与 $Pb(II)$ 作用后,细胞边缘透明,产生明显含 Pb 黑色沉淀物(相应 EDX 谱图未显示)分布于细胞周围以及细胞内,见图 3. 本

文 TEM 样品没有采用传统的包埋切片方法进行制备,而是采用离心洗涤后的湿酵母稀释一定浓度后滴加于铜网上自然干燥的样品,样品不镀碳膜,不冷冻干燥. 酵母细胞为 μm 级,比较厚,TEM 仍然可

以观察到细胞含 Pb 黑色沉淀物等细节,很可能与酵母细胞与Pb(II)作用过程中细胞内容物流失,导致细胞变薄、易于透过光线有关. SEM 研究中也观察到细胞表面出现膜样覆盖物. Soares *et al* (2002) 研究了活酵母细胞与 Cu^{2+} 作用过程中释放了可在 260nm 处有吸收的紫外有机物 (UV_{260}), 猜测来自细胞内部,且对 Cu^{2+} 具有络合作用. 从多方面的信息推测,酵母细胞与 Pb 离子溶液或水溶液作用后,细胞不仅可以释放内部无机物质(如 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Na^+) (陈灿等, 2006a; Chen and Wang, 2008a; 2008b), 还可能同时释放内部有机物,如糖类(单糖、多糖)、蛋白质(氨基酸、多肽)、核酸(核苷酸)、脂类等有机物质. 细胞内容物的成分还有待结合其它技术,如紫外技术、化学分析技术等予以进一步分析判断.

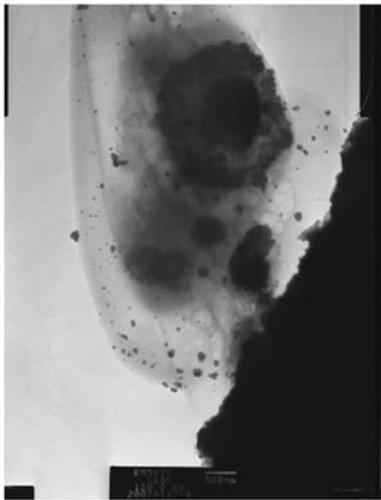


图3 酵母细胞与 Pb^{2+} 反应后透射电镜分析(S2: 酵母-Pb ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 8h) $\times 10000$)

Fig. 3 TEM of *S. cerevisiae* after with Pb^{2+} : S2-Pb ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 8h) $\times 10000$)

一般 TEM 细胞样品是采用包埋切片方法进行制样后检测,可以观测到金属离子在细胞表面或内部的分布状况,或者研究细胞吸附离子的过程. Suh 等(1998)利用 TEM 方法研究了酵母细胞吸附 Pb^{2+} 的过程,发现当细胞浓度 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, Pb^{2+} 初始浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, Pb^{2+} 首先用 3 ~ 5 min 吸附于 *S. cerevisiae* 细胞壁表面,不依赖于新陈代谢;50 min 后 Pb^{2+} 到达细胞膜,还没有进入细胞质;2 h 后大部分 Pb^{2+} 进入细胞质. 5 d 后,细胞覆盖整个细胞,无法分辨细胞器,这时细胞已经死亡. 24 h 时,观察到酵母吸附 Pb^{2+} 时释放出 K^+ 和 Mg^{2+} , 并推测 24 h 后细

胞对 Pb^{2+} 的吸附可能不依赖于细胞新陈代谢过程(仅浓度梯度扩散). 该吸附过程与离子浓度也有关. Das 等(2007)采用细胞包埋切片方法获得的高清晰 TEM 照片,证明了 *Aspergillus versicolor* 所吸附的 Hg 仅分布于细胞壁,而细胞内部没有检测到 Hg. 本文 TEM 样品制备简单,虽然提供的信息量不如切片法,仍然从不同角度提供了细胞吸附金属离子的细胞表面信息.

3.3 原子力显微镜(AFM)观察结果与讨论

鲜酵母与Pb(II) ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 反应 8 h 后,细胞皱缩程度减小,但细胞塌陷、扁平、粘连厉害,高度约 $0.8 \sim 0.9 \mu\text{m}$, 低于反应前酵母细胞,比较图 4a, b. 表面出现许多不均匀分布的小颗粒,有的颗粒大小为 $234 \text{ nm} \times 164 \text{ nm} \times 40 \text{ nm}$, 有的颗粒大小为 $184 \text{ nm} \times 110 \text{ nm} \times 17 \text{ nm}$, 推测是 Pb 的沉积颗粒物,见图 4b. 云母片表面对吸附了 Pb^{2+} 后的鲜酵母铺展变形作用明显增大,与葛小鹏等(2004)对蜡状芽孢杆菌吸附Pb(II)的研究一致,可能与细胞周围渗透压、细胞吸附Pb(II)后改变细胞表面电性等有关.

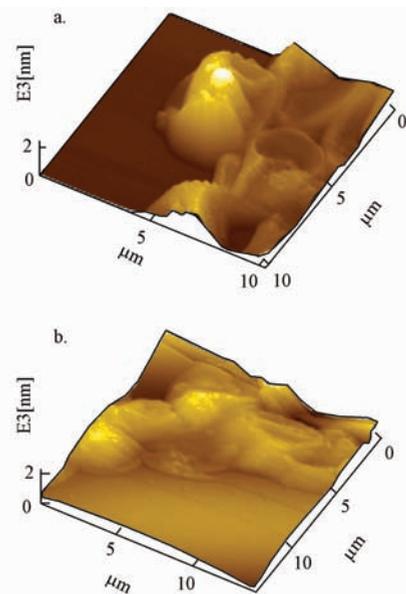


图4 酵母细胞与 Pb^{2+} 反应前后原子力显微镜分析(a. S6 酵母(与水反应 8 h); b. S2 酵母-Pb ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 8 h))

Fig. 4 AFM of *S. cerevisiae* before and after Pb^{2+} biosorption (a. S6: before lead biosorption, b. S2: after lead biosorption ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 8 h))

葛小鹏等(2004)认为蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) 在云母片表面的铺展变形作用,反映了细胞

等软性生物样品在云母基片上附着时自身形貌的变化,这种变化是与特定环境条件下样品与基底表面的相互作用紧密相连.认为总表面能的最小化在此类形貌改变中起着重要作用,包括表面电荷(包括细胞样品和云母基底)、细胞内部的作用力(如渗透压等),并在控制细胞与基底表面间的粘附、细胞与细胞之间的粘结、凝聚以及细胞与各种金属离子的吸附、蓄积作用等方面起着重要作用.有研究表明,pH > 4 条件下,酵母细胞表面带负电荷(Ahimou *et al.*, 2002; Naeem *et al.*, 2006).酵母吸附 Cu^{2+} 后,在中性 pH 值条件下,表面电荷由负电荷转变为正电荷,可能与细胞表面静电力吸引有关,带负电荷的官能团与带正电的 Cu^{2+} 相结合.细胞表面官能团的离子化状态的变化,可能影响其粘附性能也会发生变化.本文研究表明,干酵母吸附 Zn^{2+} 前后铺展变形差别不明显(结果未显示),而鲜酵母吸附 Pb(II) 后酵母的铺展变形作用明显增大.这说明铺展变形作用与酵母状态、离子种类等都有关.

在生物吸附领域,利用 AFM 成像技术研究生物吸附机制报道还较少.黄富荣等(2005)利用 AFM 技术研究了红螺菌对 Cu^{2+} 、 Cr^{6+} 的吸附行为.原子力成像表明,吸附前细胞的胞外聚合物分散分布,吸附后胞外聚合物出现交联,形成一个新的二维网状结构,并且吸附 Cu^{2+} 后的交联程度比吸附 Cr^{6+} 高.

AFM 技术几乎应用于各分支学科中的表面或界面研究中(Pan *et al.*, 2006),但是绝大多数文献(包括本文)局限于利用 AFM 获得表面构象,对细胞表面分子力与物理性质方面缺乏分析.Ahimou 等(2002)利用 AFM 测量了酵母细胞表面力-距离曲线,分析了酵母细胞吸附 Cu^{2+} 前后表面电荷变化,为重金属生物吸附微观机理的研究提供了一个良好的实例和方法,在生物吸附机理研究中,可以利用 AFM 开展更为细致深入的研究.

4 结论(Conclusions)

表面显微分析技术(SEM-EDS、TEM-EDS、AFM)证实:

1) 低渗环境下(去离子水),新鲜培养酿酒酵母细胞变形明显,典型椭球状细胞拉伸后呈不规则杆状.

2) 新鲜培养酿酒酵母细胞与 Pb(II) 作用后,细胞表面吸附了 Pb(II),同时产生大量更高浓度的含

Pb(II) 水解沉淀,从而从溶液中被去除.吸附量以及沉积物的形成受重金属离子初始浓度以及反应时间的影响.

3) 酵母与 Pb(II) 作用过程中,Pb 离子促进细胞释放细胞内容物.酵母表面可检测到的主要元素为 C、O、N、P、S、K、Mg.与 Pb(II) 作用后,细胞表面始终保持 C、O、P 峰,而 N、K、Mg、S 峰随反应条件不同而减弱、消失或增强.P 作为细胞表面组分可能与 Pb(II) 结合.

4) 原子力显微镜(AFM)证实,云母片表面对酵母吸附 Pb(II) 后细胞的铺展变形作用明显增大.

责任作者简介: 王建龙(1964—),教授(博士生导师).在水污染控制和核废物处理处置等领域从事教学与科研工作. E-mail: wangjl@tsinghua.edu.cn. Tel: 010-32784843.

参考文献(References):

- Ahimou F, Denis F A, Touhami A, *et al.* 2002. Probing microbial cell surface charges by atomic force microscopy [J]. *Langmuir*, 18 (25): 9937-9941
- Chen C, Wang J L. 2007. Characteristics of Zn^{2+} biosorption by *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 20: 478-482
- Chen C, Wang J L. 2008a. Removal of Pb^{2+} , Ag^+ , Cs^+ and Sr^{2+} from aqueous solution by brewery's waste biomass [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 151(1): 65-70
- Chen C, Wang J L. 2008b. Investigating the interaction mechanism between zinc and *Saccharomyces cerevisiae* using combined SEM-EDX and XAFS [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79 (2): 293-299
- Chen C, Wang J L. 2010. Removal of heavy metal ions by waste biomass of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Journal of Environmental Engineering-ASCE*, 136(1): 95-102
- 陈灿, 王建龙. 2006a. 酿酒酵母吸附 Zn(II) 过程中阳离子(K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Ca^{2+}) 的变化分析 [J]. *环境科学*, 27(11): 2261-2267
- Chen C, Wang J L. 2006a. Cation(K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Ca^{2+}) release in Zn(II) biosorption by *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Environmental Science*, 27(11): 2261-2267 (in Chinese)
- 陈灿, 王建龙. 2006b. 酿酒酵母吸 Zn^{2+} 的特性及其动力学研究 [J]. *清华大学学报(自然科学版)*, 46(12): 30-33
- Chen C, Wang J L. 2006b. Kinetics of Zn^{2+} biosorption by *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *J Tsinghua Univ (Sci & Tech)*, 46 (12): 30-33 (in Chinese)
- 陈灿, 王建龙. 2007. 酿酒酵母吸附 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ag^+ 、 Cu^{2+} 的动力学特性研究 [J]. *环境科学学报*, 27(4): 544-553
- Chen C, Wang J L. 2007. Biosorption of heavy metal ions (Zn^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , Cu^{2+}) by a brewery's waste: kinetic and equilibrium [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 27(4): 544-553 (in

- Chinese)
- 陈灿, 王建龙. 2008a. 酿酒酵母对 Ag^+ 的吸附特性研究[J]. 环境科学, 29(11):3200-3205
- Chen C, Wang J L. 2008a. Characteristics of Ag^+ biosorption by the waste biomass of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Environmental Science, 29(11): 3200-3205 (in Chinese)
- 陈灿, 王建龙. 2008b. 酿酒酵母与 Ag^+ 的相互作用机制研究 [J]. 环境科学, 29 (12): 3561-3567
- Chen C, Wang J L. 2008b. Mechanism of interaction between Ag^+ and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Environmental Science, 29 (11): 3561-3567 (in Chinese)
- 陈灿, 王建龙. 2008c. 酿酒酵母对放射性核素铯的生物吸附[J]. 原子能科学技术, 42(4): 308-313
- Chen C, Wang J L. 2008c. Biosorption of cesium by *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Atomic Energy Science and Technology, 42(4): 308-313 (in Chinese)
- Das S K, Das A R, Guha A K. 2007. A study on the adsorption mechanism of mercury on *Aspergillus versicolor* biomass [J]. Environmental Science and Technology, (41): 8281-8287
- 葛小鹏, 潘建华, 刘瑞霞, 等. 2004. 重金属生物吸附研究中蜡状芽孢杆菌菌体微观形貌的原子力显微镜观察与表征[J]. 环境科学学报, 24(5): 753-760
- Ge X P, Pan J H, Liu R X, et al. 2004. Application of atomic force microscopy in the characterization of cell morphology of *Bacillus Cereus* bacteria in the biosorption process of heavy metal ions [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 24(5): 753-760 (in Chinese)
- Naeem A, Woertz J R, Fein J B. 2006. Experimental measurement of proton, Cd, Pb, Sr, and Zn adsorption onto the fungal species *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Environmental Science and Technology, 40(18): 5724-5729
- Pan J H, Ge X P, Liu R X, et al. 2006. Characteristic features of *Bacillus cereus* cell surfaces with biosorption of Pb(II) ions by AFM and FT-IR [J]. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces, 52(1): 89-95
- Soares E V, Duarte A, Boaventura R A, et al. 2002. Viability and release of complexing compounds during accumulation of heavy metals by a brewer's yeast [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 58(6): 836-841
- Suh J H, Kim D S, Yun J W, et al. 1998. Process of Pb^{2+} accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Biotechnology Letters, 20(2): 153-156
- Wang J L, Chen C. 2009. Biosorbents for heavy metals removal and their future [J]. Biotechnology Advances, 27(2):195-226
- Wang J L, Chen C. 2006. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: a review[J]. Biotechnology Advances, 24(5): 427-451
- 王建龙, 陈灿. 2010. 生物吸附法去除重金属离子的研究进展[J]. 环境科学学报, 30(4):673-701
- Wang J L, Chen C. 2010. Research advances in heavy metal removal by biosorption[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 30(4):673-701 (in Chinese)
- Wright C J, Armstrong I. 2006. The application of atomic force microscopy force measurements to the characterisation of microbial surfaces[J]. Surface and Interface Analysis, 38(11): 1419-1428
- 郑善良, 胡宝龙, 盛宗斗, 等. 1992. 微生物学基础[M]. 北京: 化学工业出版社
- Zheng S L, Hu B L, Sheng Z D, et al. 1992. Basis of Microbiology [M]. Beijing: Chemistry Industry Press (in Chinese)