

前 言

微生物吸附金属是指利用活的或者死的微生物细胞及其来自微生物的产物，通过物理、化学作用（包括络合、沉积、氧化还原、离子交换等作用）吸附金属的过程。微生物吸附金属已被人们知道了几十年，近年来因其在环保和贵金属回收中的应用潜力，愈加受到重视。贵金属包括钌（Ru）、铑（Rh）、钯（Pd）、银（Ag）、锇（Os）、铱（Ir）、铂（Pt）、金（Au）等八种金属。随着工业的发展，贵金属的应用越来越广泛，但铂等贵金属资源稀少，远不能满足工业发展的需要。因此，铂等贵金属的回收具有重要的经济意义。

含贵、重金属废水主要来源于电镀、采矿、冶金、化工、纺织、石油等工业部门，它们对生态环境有极大的危害，因此引起人们高度的重视^[1]。如何消除贵、重金属的危害并有效地回收废水中的贵、重金属成为当前环境保护和资源回收中所面临的一个重大问题。

处理含贵、重金属废水的传统方法有沉淀法、化学氧化还原法、离子交换法、电处理法、膜技术分离法等^[2,3]。但上述方法在处理低浓度（ $<100\text{mg/L}$ ）贵、重金属废水时，操作繁琐、运行成本高，并容易造成二次污染。许多研究表明，生物吸附法有吸附速率快、吸附容量大、投资少、成本低廉、重复利用率高等优点。因此，近十年来，用微生物细胞作为生物吸附剂处理含贵、重金属的废水已成为一个研究热点，而且被认为是现有金属回收技术中的一种很有经济价值的替代技术^[4]。此外，随着生物吸附研究的深入，微生物吸附金属的应用范围也更为广阔。

一 微生物吸附金属的研究

细菌、真菌和藻类都有较强的吸附金属的能力。在细菌中，如枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）和蜡状芽孢杆菌（*Bacillus cereus*）对 La^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 等离子有较强的吸附能力^[5]；大肠杆菌（*Escherichia coli*）对 Hg^{+} 、 Ag^{+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 等^[5]，柠檬酸细菌（*Citrobacter sp.*）对 Cd^{2+} ^[6]、假单胞菌（*Pseudomonas sp.*）对 UO_2^{2-} ^[7]，铜绿假单胞菌（*Pseudomonas aeruginosa*）对 La^{3+} 、 Eu^{3+} 、 Yb^{3+} ^[7,8]，动胶菌（*Zoogloea ramigera*）对 Cu^{2+} 、 Cr^{3+} 、 UO_2^{2-} ^[9]，黄单胞菌（*Myxococcus xanthus*）对 Pb^{2+} ^[10] 都有较强的吸附能力。

真菌类的微生物如少根根霉（*Rhizopus arrhizus*）、少孢子根霉（*Rhizopus oligosporus*）、黑曲霉（*Asperigglus niger*）和产黄青霉（*Penicillium chrysogenum*），由于菌丝体粗大，吸附金属后易于分离，吸附量大等特点，吸附金属的研究比较深入，它们可以吸附 UO_2^{2-} 、 Th^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cr^{2+} 、 Ra^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 等多种金属离子

[11]。真菌类微生物对金属离子的吸附和细菌类似，大多富集在细胞壁上，且都可逆，吸附速率快。而利用工业的废菌体，如酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 菌体作为生物吸附剂来回收 (或去除) Ag⁺、Cu²⁺、Cd²⁺、Ni²⁺等金属也有报道^[12,13]。

藻类微生物是生物吸附剂的一大组成部分，它们可以吸附多种金属离子，而且吸附效率相当高，对一些金属离子如 Zn²⁺、Hg⁺、Cd²⁺、Cu²⁺、UO₂²⁻、Pb²⁺等的富集可达几千倍，是工业污水有效的清洁剂。尹平河等人^[14]研究了几种藻类对 Pb²⁺、Cd²⁺、Cu²⁺的吸附，其最大吸附容量分别是：1.0~1.6、1.0~1.2 和 0.8~1.2mmol/g (干重)，这些海藻的吸附容量比其他种类的大多数生物体的吸附容量都高得多^[15]，与离子交换树脂 (交换容量一般在 1~1.5mol/g) 的交换容量相近^[16]。

国外已有利用生物吸附剂回收贵金属的报道。Gardea-Torresdey 等人^[17]发现死的紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 可以从溶液中吸附并还原 Au³⁺，其过程几乎不受溶液 pH 的影响，并可观测到有元素态胶体金的形成。Suyama 等人^[18]利用鸡羽毛吸附回收贵金属，对 Au³⁺、Pt⁴⁺、Pd²⁺的吸附量分别为鸡羽毛干重的 17%、13% 和 7%。Hosea 等人^[19]用普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 吸附 Au³⁺，在菌体浓度为 5.0g/L 时发现 0.1mmol/L 的 AuCl₄⁻ (pH3.0) 和 Au(CN)₂⁻ (pH2.0) 可完全被吸附。Savvaidis^[20]研究了几种微生物，例如酿酒酵母，红霉素链霉菌 (*Streptomyces erythreus*)、钝顶螺旋藻 (*Spirulina platensis*) 从金-硫脲溶液回收金的特性，发现在低 pH 的环境下它们对金有很强的吸附能力。Niu 和 Volesky^[21]用枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、产黄青霉 (*Penicillium chrysogenum*) 和一种马尾藻 (*Sargassum* sp) 吸附氰溶液中的金，在 pH2.0 的条件下吸附量分别为 8.0mmol/g、7.2mmol/g、3.2mmol/g，当在溶液中加入 L-一半胱氨酸后，其吸附量分别增加到 20.5 mmol/g、14.2mmol/g、4.7mmol/g^[22]。Akthar 等人^[23]发现用碱处理的黑曲霉菌体可有效地从稀银溶液中回收银，吸附的银可达菌体干重的 10%，用稀硝酸溶液可将所结合的银离子完全洗脱下来，吸附剂经 Ca²⁺/Mg²⁺溶液洗涤后即可再使用。Korenevskii 等人^[24]利用小型真菌 (*micromycete*) 从 AgNO₃ 溶液中吸附银，最大吸附量为 15-23mgAg⁺/g 干菌体。

关于微生物吸附贵金属的研究国内鲜有报道。黄淑惠^[25]曾从一些真菌菌株中筛选到一株吸附金能力较强的芽枝状枝孢 (*Cladosporium cladosporioides*) AS.3.3995，该菌株的死菌体对金的最大吸附量为 140mgAu³⁺/g 干菌体。刘月英等人用从矿区土壤中筛选到的巨大芽孢杆菌 D01 的洗涤细胞吸附金，在起始金离子浓度与菌体浓度之比为 305mg/g、pH3.0 和 30°C 的条件下，吸附 30 min，吸附率可达 99.1%，吸附量为 302.0mg/g 干菌体^[26]；菌株 D01 的死菌体在 100mgPt⁴⁺/L、1g 干菌体/L、pH3.5 和 30°C 的条件下，吸附 24h，Pt⁴⁺的饱和吸附量为 94.3mg/g 干菌体^[27]。他们用啤酒酵母废菌体吸附 Au³⁺，在 200mgAu³⁺/L、2g 干菌体/L、pH 值 3.0 和 30°C 的条件下，吸附 60min，吸附量可达 55.9mg Au³⁺/g 干菌体^[28]；用金

霉菌链霉菌 (*Streptomyces aureo-science*) 废菌丝体吸附 Au^{3+} , 在 $100mgAu^{3+}/L$ 、 $2g$ 菌体/L、pH 值 3.5 和 $30^{\circ}C$ 的条件下, 吸附 45 min, 吸附量可达 $45.6mg Au^{3+}/g$ 菌体^[29]。傅锦坤等人^[30]筛选到一株吸附银能力较强的乳酸杆菌 (*Lactobacillus sp.*) A09, 该菌株在 $100mg Ag^{+}/L$ 、 $0.8g$ 干菌体/L、pH4.5 和 $30^{\circ}C$ 的条件下, 吸附 24h, 银的吸附量为 $125mgAg^{+}/g$ 菌体。刘月英等人^[31]利用从矿坑水分离筛选的地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*) R08 死菌体吸附 Pd^{2+} , 在起始 Pd^{2+} 浓度 $200mg/L$ 、菌浓度 $0.4g/L$ 、pH3.5 和 $30^{\circ}C$ 条件下, 吸附 45min, 每克菌体可吸附 $224.8mgPd^{2+}$ 。

二 固定化菌体吸附金属的研究

利用游离菌体吸附金属的特性, 虽然可以从含金属的废水、废液中回收或去除贵、重金属。但用游离菌体作吸附剂存在许多缺点, 例如颗粒小、机械强度低; 菌体与排出水难以分离等。如果用固定化技术使菌体固定化, 装在填充床或流化床反应器进行吸附, 就可克服上述缺点。与用游离菌体作为吸附剂比较, 用固定化菌体作为生物吸附剂还具有许多优点: (1) 可提高生物量的浓度, 提高废水处理的效率; (2) 减少吸附—解吸循环中吸附剂的损耗; (3) 固液相易分离; (4) 增强吸附剂机械强度和化学稳定性; (5) 延长吸附剂使用周期, 降低成本。若将多种对不同金属具有不同亲和性的微生物固定化, 分别装填组成复合式的生物反应器, 则可用于处理含多种金属离子成分的废水。

1 菌体固定化方法简介

微生物细胞固定化方式多种多样, 任何一种限制微生物细胞自由移动的方法都可用于制备固定化微生物吸附剂。一般可分成吸附法、结合法、交联法和包埋法等四大类。

(1) 吸附法: 吸附法可分为物理吸附法和离子吸附法。前者是用具有高度吸附能力的硅胶、活性炭、多孔玻璃、石英砂和纤维素等吸附剂将细胞吸附到其表面上使之固定化。后者是细胞在解离状态下因静电引力 (即离子键合作用) 而固着于带有相异电荷的离子交换剂上, 如 DEAE-纤维素、DEAE—Sephadex、CM—纤维素等。吸附法操作简单, 反应条件温和, 载体可以反复利用, 但结合不牢固, 细胞易脱落。

(2) 结合法: 结合法可分为离子键结合法和共价键结合法。前者依靠离子键使菌体和载体结合而固定化, 载体有 DEAE—纤维素、TEAE—纤维素、DEAE—Sephadex 等, 离子键结合法条件温和, 操作简单, 但结合力弱, 菌体易脱落。后者是微生物细胞表面上的功能团与固相支持物表面的反应基团之间通过化学共价键而结合。用该方法制备的固定化细胞结合键牢固, 不易脱落, 稳定性良好, 但反应条件激烈操作复杂, 控制条件苛刻, 细胞大多死亡。

(3) 交联法: 通过双功能试剂将微生物细胞彼此发生交联作用, 制成具有网

状结构的固定化菌体。常用的双功能试剂有戊二醛、己二胺、顺丁烯二酸酐、双偶氮苯等。采用交联法制备的固定化细胞结合牢固，但颗粒小，使用不便，通常将交联法和吸附法或包埋法结合使用，效果较好。

(4) 包埋法：包埋法是将菌体细胞以物理的方法包埋在各种载体中，常用的载体有琼脂、海藻酸钠、卡拉胶、聚丙烯酰胺和明胶。该方法操作简单，固定化菌体机械强度高。

2 固定化菌体吸附金属的研究进展

Brierley 等人^[32]用微生物菌体，制成颗粒状的金去除剂 (MRA) 并装柱，从珠宝生产厂的金氰化液中回收金，金的回收率大于 99%，吸附量达 155mg Au^{3+} /gMRA；从 Ag^+ 浓度为 245mg/L 的废水中回收银，吸附量达 94mg Ag^+ /gMRA；从 7mg Pt^{4+} /L 的水溶液中回收铂，吸附量为 53mg Pt^{4+} /gMRA；从 10mg Pd^{2+} /L 的水溶液中回收钯，吸附率达 99%，吸附量为 436mg Pd^{2+} /gMRA。Darnall 等人^[33]用聚丙烯酰胺凝胶固定普通小球藻 (*Chlorella Vulgaris*)，该固定化细胞随溶液 pH 的变化可选择性地回收不同的贵、重金属离子。Pethkar 等人^[34]用经处理的家禽羽毛包埋芽枝状枝孢 (*Cladosporium cladosporioides*)，所制备的固定化细胞在 Au^{3+} 浓度为 100mg Au^{3+} /L、生物吸附剂浓度 3% (W/V) 和 pH4.0 的条件下，吸附 60min， Au^{3+} 的吸附率为 80%，吸附量达 100mg Au^{3+} /g 固定化细胞。Michel 等^[6]和 Darnall 等^[35]用聚丙烯酰胺凝胶分别固定化柠檬酸细菌细胞和普通小球藻，在较佳条件下能够长期使用，分别可以分离废水中 90% 以上的 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Au^{3+} 等；Garnham 和 Codd 等^[36]用海藻酸钙固定盐生小球藻 (*Chlorella salina*) 细胞，发现对 Co^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 的吸附量明显比游离细胞高。Lu Yongming 等^[37]用海藻酸盐包埋酿酒酵母分离 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 等取得较好结果。徐容等人^[38]用海藻酸钠包埋的产黄青霉处理含铅废水也取得较高的金属去除率。Tsezos 和 McIready^[39]等研究了固定化少根根霉 (*R. arrhizus*) 分离废水中铀的过程，实验室规模的间歇和连续实验结果表明，固定化微生物可以回收稀溶液 (≤ 300 mg/L) 中所有的铀，洗脱液中铀浓度超过 5000mg/L，当循环使用 12 次后，生物剂的吸附量仍达 50mg/g，工业应用很有希望。Holan 等^[40]用甲醛交联固定岩衣藻细胞 (*Ascophyllum nodosum*) 处理含 Cd^{2+} 废水，获得较佳效果，用盐酸洗脱后，吸附剂的外观状态和吸附能力几乎不变，可再使用。Harris 和 Ramelow^[41]用交联共聚物丙烯酸乙酯和乙二醇二异丁烯酸酯固定 *Scenedesmus quddricauda* 细胞处理废水，发现 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 能够被有效地吸附， Cu^{2+} 可以用 pH 梯度法解吸。Zhou 等^[42]用网状聚酯泡沫固定少根根霉细胞，进行填充柱试验，发现低浓度 Cu^{2+} 溶液中的 Cu^{2+} 能被有效的分离，用 0.1mol/L HCl 解吸，对填充柱的再吸附能力无影响。

已有固定化菌体投入回收金属应用的报道，例如用芽孢杆菌菌体经强碱溶液处理、洗涤及聚乙烯亚胺 (PEI)、戊二醛交联处理制成 BIOCLAIM Process，用于

含 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Co^{2+} 等重金属离子的工业废水的处理；用聚砜树脂固定水苔藻类、细菌、酵母等制备的 BIO-FIX Process 用于吸附回收铜、铅、锌等金属^[2]。又如 Bio-Recovery System 公司将藻类细胞固定于 SiO_2 的基质中，在分批及柱状的反应器内，成功地回收了包括 Au^+ 、 Au^{3+} 在内的多种金属离子^[4]。用海藻酸钠固定小球藻也被应用于处理含 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Au^{3+} 的废水。用海藻酸钠和聚丙烯酰胺凝胶固定化的普通小球藻和微藻，在流化床反应器中能从多种金属离子的混合液中选择性地回收贵金属^[4]。

虽然人们都看好生物吸附技术的工业应用前景。但是，目前利用生物吸附技术大规模处理废水的系统却很少，各方面的因素限制了它的大规模使用。例如对金属结合机理不完全了解，缺乏金属和生物吸附剂之间作用的动力学数据，不能进行过程的预设计和放大以及经济衡算，等等。因此有必要对生物吸附进行深入的研究，以便早日实现大规模的工业应用。

三 生物吸附过程的动力学研究

成功的数学模型对于吸附过程的最优化十分重要。因此，吸附过程的动力学也是生物吸附研究的一个重要方面。目前在游离细胞的动力学研究中，广泛被用来进行实验数据拟合的方程有 Langmuir 等温吸附方程 (a) 和 Freundlich 方程 (b) [2,43,44]：

$$C_e/Q = 1/bQ_{max} + C_e/Q_{max} \quad (a)$$

$$\ln Q = \ln k + \ln C_e/n \quad (b)$$

Volesky^[12]用 Langmuir 方程来预测 Cd^{2+} 的吸附量。结果表明，对于死的细胞，实验值和模型计算值几乎相同，而对于活的细胞则相差较大。说明 Langmuir 模型只适用于依靠表面吸附的死的细胞，而对于包含主动吸附的活细胞则不适用。不过上述方程只适用于恒定的 pH 值和单一的金属离子^[2]。存在多种金属时，模型必须进行修正以考虑所有金属。Schicwer 等^[45]在研究 *Sargassum fluitans* 和 *Ascophyllum nodosum* 吸附 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} 时，用多组分 Langmuir 方程。

$$Q_1 = Q_{max} B_1 C_{eq1} / (1 + B_1 C_{eq1} + B_2 C_{eq2})$$

$$Q_2 = Q_{max} B_2 C_{eq2} / (1 + B_1 C_{eq1} + B_2 C_{eq2})$$

式中下标 1、2 分别代表 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} ， B_i 是对应于第 i 组分的吸附/解吸附比， Q_{max} 是相应吸附饱和点的最大吸附量。在多金属系统中，方程可写为：

$$Q_i = Q_{max} B_i C_{eqi} / (1 + \sum_{i=1}^n B_i C_{eqi})$$

由于在固定化菌体颗粒中存在着传质的阻碍，固定化菌体的吸附过程并不象游离菌体那样快。因此，当建立固定化菌体吸附金属的数学模型时，必须加上反映传质阻碍的参数。很多学者利用收缩核心模型 (Shrink Core Model, SCM) 来计

算重金属离子在固定化生物吸附剂中的扩散情况^[46]。根据 Jansson-Charrier 等人^[47]的报道, 固定化菌体吸附金属离子的过程包括四个步骤: 第一是金属离子从溶液向固定化菌体颗粒表层的大量扩散; 第二是溶质从固定化菌体颗粒外层向吸附剂表面的扩散; 第三是金属离子在固定化菌体颗粒的微小的或和大的孔隙之间的扩散; 最后是菌体结合位点的吸附作用。

四 生物吸附贵金属的机理

微生物固定金属的作用方式根据是否需要能量可分为主动作用方式和被动作用方式。前者是有代谢活性的细胞完成金属的转移或细胞与金属之间的反应。此过程常伴随有能量的消耗, 其特点是吸附速度慢, 作用持续时间长, 一般为不可逆过程, 并可被能量代谢抑制剂所抑制。后者主要是指通过物理、化学作用来吸附固定金属的方式, 吸附剂可为静息细胞、死细胞、细胞代谢产物或细胞制备物。其作用特点是吸附速度快、时间短、可逆、不依赖于细胞的能量代谢。许多学者认为生物吸附金属的作用是属于后一种方式, 即被动作用方式。由于细胞及溶液组成的复杂性, 微生物吸附贵金属的机理尚不完全清楚。下面是可能存在的几种作用。

1 细胞表面和细胞内的吸附: 胞内固定金属的过程首先是通过物理、化学作用把金属吸附到细胞表面, 再由依赖能量的转移系统运送到胞内。已观察到金属可以被富集在细菌、真菌、海藻细胞内, 如铜绿假单胞菌在细胞内富集 UO_2^{2-} ^[7], 活的面包酵母在胞内富集 Cd^{2+} ^[12], 链霉菌对 UO_2^{2-} 的富集部分在胞内出现^[48]。Ulberg 等人^[49]研究了芽孢杆菌对离子态及胶体态金的吸附, 发现金的积累与细胞表面的蛋白质、碳水化合物的功能基团有关; 研究还表明, 金的积累与细胞的代谢活性有直接的关系, 在有代谢抑制剂如二硝基苯、五氟苯酚、叠氮化钠等存在时, 芽孢杆菌细胞对低浓度的金失去了吸附能力。因此, 他们认为细菌吸附贵金属的过程包含一个可逆阶段和一个不可逆的阶段。在可逆阶段, 抑制剂可使细胞所吸附的金再释放回到溶液中, 而在不可逆阶段抑制剂却无此作用。一种螺旋藻 (*Spirulina*) 的活细胞在 pH 3~8 范围内, 积累金的量随 pH 的升高而增加, 但其死细胞吸附金的最大量却出现在 pH3 左右。该藻类的活细胞吸附金的过程也同样会被代谢抑制剂叠氮化钠抑制, 说明藻体吸附金的过程包括一个金属与细胞的被动结合过程和一个依赖于细胞内能量的定位过程。此外许多种藻类对金的吸附也依赖于能量, 吸附作用可被影响 ATP 合成的抑制剂所抑制^[50,51]。

2 氧化还原作用: 一般来说, 氧化还原反应需要有代谢活性的细胞参与, 但也有微生物死细胞能吸附金属离子并将其还原为元素态的报道。

Hosea^[19]和 Greene^[52]发现, 结合于小球藻细胞上的金可用硫脲洗脱。但光谱分析证明, 只有 Au^+ 从细胞上洗脱下来, 而且随着时间的延长, 细胞上元素金的数

量不断增加, 说明吸附在小球藻细胞上的 Au^{3+} 先被快速地还原为 Au^+ , 而后被慢慢还原为 Au^0 。Gamez 和 Dokken^[53] 等人用 X-射线吸收近边缘构象技术 (X-ray absorption near-edge structure, XAMES) 和超 X-射线吸收微细构象技术 (Extended x-ray absorption fine structure, EXAFS) 研究紫花苜蓿还原金, 也得到类似的结果, 并认为羟基在金的还原过程中起一定的作用。Lloyd 等人^[54] 报道, 脱硫脱硫弧菌 (*Desulfuribrio desulfuricans*) 的静止细胞在以丙酮酸、甲酸或 H_2 作为电子供体而无其它辅助因子存在的条件下, 能使 Pd^{2+} 还原为 Pd^0 。刘月英等人用等离子体原子发射光谱 (ICP)、X-射线光电子能谱 (XPS) 和透射电镜等技术研究贵金属的微生物吸附, 发现巨大芽孢杆菌 D01 洗涤细胞^[26]、啤酒酵母废菌体^[28] 和金霉素链霉菌废菌丝体^[29] 可使 Au^{3+} 还原为 Au^0 , 并形成不同形状和大小金晶体; 地衣芽孢杆菌 R08 死菌体不但能吸附 Pd^{2+} 而且能使 Pd^{2+} 还原成 Pd^0 ^[31]。

3 络合作用: 微生物细胞能合成可络合金属的物质并分泌于胞外, 这些物质如多糖、蛋白质、核酸、氨基酸等。在氨基酸络合吸附金离子的研究中, 对含金的氨基酸片断进行红外光谱分析发现, 金-氨基酸复合物与氨基的氮供体原子有关。另外, 多肽、蛋白及核酸也有一些结合金的潜在位点, 具有络合金的能力。微生物细胞壁上有许多结合金属的功能基团, 如咪唑基、巯基、羟基、羧基、氨基、胍基等。贵金属可作为中心离子接受多种阴离子和简单分子的孤对电子, 生成配位键络合物, 它还可以与一些大分子生成螯合物。而上述活性基团的氮、氧、磷、硫等均可作为供体原子。Greene 等人^[52] 发现普通小球藻可以高效地从水溶液中吸附 Au^{3+} 和 Au^+ , 吸附金的能力与溶液中竞争性配体的存在有关。这也证明了金是通过与细胞表面的一些配体络合或螯合而吸附在细胞上。

4 离子交换作用: 贵金属离子除了能与细胞表面的活性基团形成共价键或以静电作用相结合外, 还可以离子交换的方式进行结合。Simmons 等人^[55] 研究啤酒酵母对 Ag^+ 的吸附, 发现有大量的 H^+ 释放, 而且 H^+ 释放量随着 Ag^+ 吸附量的减少而减小。傅锦坤等人^[30] 在乳酸杆菌 A09 吸附 Ag^+ 的研究中, 发现该菌吸附 Ag^+ 时伴随有 H^+ 的释放, 使溶液的 pH 值从 4.5 降至 3.0。Wcdkin 等人^[56] 利用 XAMES 和 EXAFS 研究普通小球藻与 Au^+ 和 Au^{3+} 的结合, 发现 Au^+ -硫脲与细胞表面的配体发生交换反应。但许多贵金属的吸附量与细胞释放 H^+ 之间却没有一定的交换比例, 不过这种比例始终不是 1:1, 而是大于 1:1, 说明离子交换不是生物吸附的唯一机制。

在微生物吸附贵金属的过程中, 可能同时存在几种作用方式, 对于特定的一种微生物, 起主要作用的可能只有一、二种, 这取决于菌体的类型并受一些环境和实验因素的影响。一般来说, 通过物理化学的方式吸附金属是最初也是最普遍的作用方式。

五 微生物吸附重金属的应用前景

利用微生物回收(提取)金属,有原材料丰富、成本低、吸附速度快、选择性好、吸附容量大等特点,将此项技术与固定化技术相结合,可充分发挥固定化的低成本、可重复使用、易于控制等特点,在工业上更具有广阔的应用前景。此外,已有利用蜡状芽孢杆菌(*B. cereus*)对金的特殊敏感性和亲和力,制成探测金矿的探针^[57]。胡荣宗等人^[58]将巨大芽孢杆菌 D01 菌体修饰碳糊电极,用于检测踪迹量的 Au^{3+} 。傅锦坤等人^[59]用巨大芽孢杆菌 D01 菌体还原 Au^{3+} 制备金薄膜电极,用于重金属离子的检测。该电极具有稳定、灵敏等特点。刘月英等人^[26]利用 D01 菌体具有还原 Au^{3+} 的特性,用该菌体将金催化剂的前驱体 $\text{Au}^{3+}/\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 还原成 $\text{Au}^0/\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, 制备成具有催化 $\text{CO}+\text{O}_2\rightarrow\text{CO}_2$ 的高分散度负载型的金催化剂。他们还利用地衣芽孢杆菌 R08 能还原 Pd^{2+} 成 Pd^0 的特性,用该菌体将吸附在 $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ 上的 Pd^{2+} 还原成 Pd , 制备具有催化 $\text{CO}+\text{O}_2\rightarrow\text{CO}_2$ 能力的高分散度负载型的钯催化剂^[60]。

微生物吸附贵金属特性的应用范围已从贵金属的回收领域发展到地质、冶金、化工、环保等众多领域,我们相信其应用范围将会进一步扩展。

六 本文的研究目的、意义和内容

铂具有很多优良的性能,在石油、化工、国防和科研等部门有广泛的用途。例如在石油和化学工业中作为催化剂,用于制作微电子电路中的一维导体和燃料电池,以及用作实验室中热电偶、电阻温度计的测温材料^[61]。但铂的资源稀少且难得,因此铂的回收具有重要的经济意义。从含铂的废液中回收铂,当废液中的铂含量较高时可以用置换法、还原法或化学沉淀法直接回收;但当废液的铂含量较低时,一般先用萃取法、吸附法或离子交换法富集,再从富集物中分离精炼得到铂^[61],步骤繁琐且易造成环境污染。微生物吸附法则具有物理、化学法所没有的一些优点。有关微生物吸附回收铂的研究,国内尚未有报道,国外也极少。

本课题组曾分离筛选到一株吸附还原 Au^{3+} 能力较强的巨大芽孢杆菌 D01 和有较强吸附还原 Pd^{2+} 能力的地衣芽孢杆菌 R08,并分别研究了它们吸附、还原 Au^{3+} 和 Pd^{2+} 的一些特性。在上述研究基础上,本文意在利用微生物吸附法从含铂废液中回收铂,用现代生物、物理和化学的方法比较深入地研究细菌吸附铂的机制;制备出一种对铂离子有较强吸附、还原能力和有实用价值的生物吸附剂,确定其吸附过程的工艺参数,为实际应用提供科学根据。

本研究工作主要包括:

- (1) 从矿区及首饰厂环境中分离的和实验室保存的细菌菌株中,筛选出一株吸附 Pt^{4+} 能力较强的细菌菌株;
- (2) 研究 XP05 菌体吸附铂的特性;
- (3) 研究 XP05 菌体的固定化方法和固定化菌体吸附铂的特性;
- (4) 应用固定化菌体从含铂废液吸附回收铂;

(5) 探索细菌吸附铂的机制。

材料和方法

一 材料

(一) 主要试剂

1 常用化学试剂:

NH_4Cl 、 $SnCl_2$ 、 HCl 、 $MgSO_4$ 、 H_3BO_3 、 $CuCl_2$ 、 $CaCl_2$ 、 $NaCl$ 、 $NaOH$ 、 KCl 等均为国产分析纯;

K_2PtCl_6 : 化学纯, 上海试剂一厂;

N,N' -亚甲基双丙稀酰胺, 丙烯酰胺, 海藻酸钠, 明胶: 均为化学纯, 上海化学试剂采购供应站;

PVA-124: 日本进口, 广州医药站化学试剂公司分装。

2 生化试剂:

牛肉膏: 上海牛奶公司综合厂;

蛋白胨: 日本进口;

琼脂: 福建惠安化工厂;

琼脂粉: 日本进口, 上海化学试剂采购供应站分装。

(二) 主要仪器设备

722 型光栅分光光度计: 厦门分析仪器厂;

TG16A-W 微量高速台式离心机: 长沙天创仪器有限公司;

恒温振荡器: 上海医疗器械五厂;

88-1 定时恒温电磁搅拌器: 上海司乐仪器厂;

160-A 自动部份收集器: 上海沪西仪器厂;

AA800 原子吸收分光光度计: 美国 Perkin-Elmer 公司;

X-射线光电子能谱仪: 美国 Vacuum Generate 公司;

740SXFT-IR 红外光谱仪: 美国 NICOLET 公司;

Orion828 型 pH 计: Orion 公司;

BS2000S 电子天平: 德国 Sartorius 公司;

BS110S 电子天平: 德国 Sartorius 公司;

SCP55H 超速离心机: 日本日立公司;

BBL Crystal MIND 细菌自动鉴定仪: 日本日立公司;

JEM-100CXLI 型透射电子显微镜: 日本日立公司;

SEM-520 型扫描电子显微镜: 日本日立公司。

二 方法

1 培养基与培养条件

1.1 斜面培养与平板培养: 培养基为牛肉膏 0.3~0.5g, 蛋白胨 1.5g, NaCl 0.5g, 琼脂 2g, 蒸馏水 100mL, pH7.2~7.4, 30℃培养 24h。

1.2 富集培养: 培养基除不加琼脂外, 其他成份与斜面培养基相同, 250mL 三角瓶装培养基 50mL, 接样品液 5mL, 30℃下振荡培养 24h。

1.3 液体种子培养: 培养基除不加琼脂外, 其他成份与斜面培养基相同, 250mL 三角瓶装培养基 50mL, 30℃下振荡培养 18h。

1.4 扩大培养: 培养基与液体种子培养基相同, 500mL 三角瓶装培养基 100mL, 接种子液 5mL, 30℃下振荡培养 24h。

2 菌株的分离、筛选和鉴定

2.1 供筛选的菌株: 分离自厦门祥鹭首饰厂厂区土壤、废水和山东平邑归来庄金矿区矿土、矿坑水以及本课题组保存的细菌菌株。

2.2 菌株的分离: 分别取矿坑水或矿土浸出液 5mL 接入富集培养基中培养 24hr, 取 0.2mL 培养物涂平板, 挑选生长快、菌落形状明显不同的单菌落进行进一步纯化, 纯化后的菌株接种于斜面培养基中培养并保存。

2.3 菌株鉴定: 按文献[62]、[63]的方法及用 BBL Crystal MIND 细菌自动鉴定仪进行鉴定。

3 菌体的制备

细菌培养物经离心 (3500r/min, 15min) 收集菌体, 用去离子水洗涤 2~3 次, 菌体于 80℃下烘干, 冷却研磨 (过 150 目筛), 干菌体保存于干燥器中备用。

4 细菌生长曲线的测定

参照文献[64]的方法进行。

5 细菌对 Pt^{4+} 离子的耐受性试验

将细菌接种到液体种子培养基中于 30℃ 振荡培养 18~20h, 用移液管吸取 2mL 菌液到含有不同浓度的 Pt^{4+} 离子液体培养基中, 30℃振荡培养。定时取样, 用 722 分光光度计测 OD_{560} 。

6 XP05 菌体的固定化

6.1 PVA-海藻酸钠包埋法: 称取一定量的 PVA 和海藻酸钠加入蒸馏水中, 加入 XP05 菌体至菌浓度为 1% (W/V), 搅拌均匀, 加热使 PVA 和海藻酸钠溶解, 冷却至室温, 用带有 9 号针头的注射器挤入含 4%CaCl₂ 的饱和硼酸溶液中, 并不断搅拌, 静置固化 4h 后用蒸馏水洗净, 备用。

6.2 海藻酸钠包埋法: 称取 2g 海藻酸钠加入 100mL 蒸馏水中, 并加入 1g 的 XP05 菌体, 加热并搅拌使海藻酸钠溶解, 用带有 9 号针头的注射器挤入含 4%CaCl₂

的饱和硼酸溶液中，并不断搅拌，静置固化 4h 后用蒸馏水洗净，备用。

6.3 琼脂包埋法：称取 3g 琼脂加入 100mL 蒸馏水中，加入 1gXP05 菌体，搅拌均匀，加热使琼脂溶解，冷却后用刀片切成边长 2mm 左右的胶块，经 5% 戊二醛交联 30min 后用蒸馏水洗净，备用。

6.4 卡拉胶包埋法：4g 卡拉胶、1gXP05 菌体加入 100mL 生理盐水中，加热，卡拉胶溶解后放置于 4℃ 冰箱中 30min，用刀片切成边长 2mm 左右的胶块，然后在 0.3mol/L 的 KCl 溶液中浸泡 4h，蒸馏水洗净后备用。

6.5 聚丙烯酰胺凝胶包埋法：100mL 生理盐水中加入聚丙烯酰胺 2.425g、N-N' 亚甲双丙烯酰胺 0.125g、5% 的过硫酸铵 2mL 和 1g 的 XP05 菌体，加热混合后再加入 N-N'-N'-N'-四甲基乙二胺 (TEMED) 5mL。冰浴 20min 后用刀片切成边长 2mm 左右的胶块，备用。

6.6 明胶-海藻酸钠包埋法：称取一定量的明胶和海藻酸钠加入蒸馏水中，并加入 1% 的 XP05 菌体，加热并不断搅拌使明胶和海藻酸钠溶解，冷却至室温，用带有 9 号针头的注射器挤入含 4%CaCl₂ 的饱和硼酸溶液中，并不断搅拌，静置固化 4h 后用蒸馏水洗净，备用。

7 吸附试验

7.1 游离菌体的吸附实验：准确称取一定量的菌体加入 10.0mL 一定浓度的 Pt^{4+} (K_2PtCl_6) 溶液，按不同的试验要求振荡 (130r/min) 吸附一定时间，然后离心 (8000r/min, 5min)，上清液用微孔滤膜 (孔径 0.22 μm) 过滤。分析残留的 Pt^{4+} 含量，按下式计算菌体对 Pt^{4+} 的吸附率和吸附量：

$$\text{吸附率 (\%)} = (C_i - C_f) / C_i \times 100\%$$

$$\text{吸附量 (mg/g)} = (C_i - C_f) / C_b$$

式中 C_i 和 C_f 分别为铂离子的起始浓度和终浓度 (mg/L)， C_b 为菌体浓度 (g/L)。

7.2 固定化菌体机械强度的测定：参照文献[65]的方法：取 100 粒固定化菌体颗粒，加 50 粒玻璃珠，在转速为 170r/min 的摇床中震荡 4h，计算其完整率，以百分比表示。

7.3 固定化菌体耐酸性实验：将固定化菌体置于 pH2.0 的水中浸泡 2h，再按 7.2 的方法测定其机械强度。

7.4 固定化菌体的分批吸附实验：准确称取一定量的固定化菌体 (以干重计) 加入 10.0mL 一定浓度的 Pt^{4+} 溶液，按不同的试验要求振荡 (130r/min) 吸附一定时间，上清液用微孔滤膜 (孔径 0.22 μm) 过滤。滤液中 Pt^{4+} 残留量的分析及菌体对 Pt^{4+} 的吸附率和吸附量的计算同上。但菌体浓度以 g 固定化菌体 (干重) / L 溶液表示。

8 从废铂催化剂中回收铂的试验

8.1 废铂催化剂的处理：取以 γ -Al₂O₃ 为载体的废铂催化剂 (Pt/ γ -Al₂O₃) 置

于王水中，加热使之溶解，过滤弃不溶物。用原子吸收光谱测处理液的铂含量，备用。

8.2 废铂催化剂处理液吸附试验：用废铂催化剂处理液代替 K₂PtCl₆ 溶液，其他步骤方法与 7.1 相同。

9 铂的分析

9.1 氯化亚锡法：参照文献[66] 略加修改。在 20mL 的试管中依次加入 4.5mL 蒸馏水、1.5mL 浓盐酸、2.0mL20% 的 NH₄Cl、1.0mL20% Sn₂Cl₂（溶于 6mol/L HCl）溶液，再加入稀释至一定浓度的 Pt⁴⁺溶液 1mL；振荡后于 405nm 波长测吸光值。

9.2 原子吸收法：在研究共存离子对菌体吸附 Pt⁴⁺的影响和从废铂催化剂处理液吸附回收的实验中，用 AA800 原子吸收分光光度计测定 Pt⁴⁺浓度。操作条件如下：

光源：空心阴极灯；波长：265.9nm；火焰气体：空气—氩气；狭缝：0.7mm；最佳测量的浓度范围：0—100mg/L；灯电流：25mA。

10 固定化菌体的分批洗脱试验

将固定化菌体与铂离子溶液于 30℃下振荡吸附 60min，弃上清液，用 pH1.5 的水洗涤两次后加入洗脱剂，于 30℃下振荡洗脱一定时间，测洗脱液中铂离子的含量，按下式计算洗脱率：

$$\text{洗脱率} = \frac{\text{洗脱的铂量}}{\text{吸附铂的总量}} \times 100\%$$

11 填充床反应器中固定化菌体的连续吸附和洗脱试验

11.1 填充床反应器中固定化菌体的连续吸附试验：在 1.5×20cm 的玻璃柱底部填一层玻璃棉，然后称取固定化菌体 1.85g（以干重计）装入柱中。装柱时轻轻敲打柱壁，使固定化菌体自然下降保持连续，柱内无明显的气泡和断层，堆积高度为 15±0.5cm。将一定浓度的 Pt⁴⁺溶液以一定的流速从吸附柱上方流经吸附柱进行吸附，利用自动部份收集器收集流出液，定时测定 Pt⁴⁺的浓度。按工程上规定，流出液中的离子浓度达到进料液浓度的 2~5%时，认为吸附柱达到穿透；流出液的离子浓度达到进料液浓度的 95~98%，可认为吸附柱饱和。故当流出液中的 Pt⁴⁺浓度达到进料液浓度的 95~98%时，停止进液。按下式计算穿透时的吸附量 Q_b 和饱和时的吸附量 Q_∞^[67]：

$$Q_b(\text{mg/g}) = C_o t_b \mu / 1000W$$

$$Q_\infty(\text{mg/g}) = (C_o t_f \mu - C_i V_i) / 1000W$$

式中 C_o：进料浓度(mg/L)，t_b：穿透时间 (min)，t_f：吸附总时间 (min)，

C_i：流出液总浓度(mg/L)，V_i：流出液总体积 (mL)，

W：填充量 (g，以干重计)，μ：流速 (mL/min)

11.2 填充床反应器中固定化菌体的连续洗脱试验：从吸附柱上方加入洗脱剂，

以 1.5mL/min 的流速进行洗脱。用自动部份收集器收集洗脱液，定时测定 Pt^{4+} 的浓度，直至洗脱液中 Pt^{4+} 浓度小于 10mg/L。

12 扫描电镜观察

将固定化菌体颗粒置于溅射仪中镀金 100Å，然后在扫描电镜下观察。

13 透射电镜观察

用具有聚乙烯醇缩甲醛膜的铜网蘸取与铂离子溶液（200mg/L）接触吸附一定时间的菌体，置于滤纸上室温干燥。用透射电子显微镜在加速电压 100kv 下观察。

14 XPS 分析

将一定量的菌体与 Pt^{4+} 溶液接触 48h 后用滤膜过滤，收集菌体于 80℃ 下烘干、研磨，供 XPS 分析用。

15. IR 分析

将一定量的菌体与 Pt^{4+} 溶液接触 1h 后用滤膜过滤，收集菌体于 80℃ 下烘干、研磨后与少量 KBr 粉末充分混合，压片，用红外光谱分析。

结果与分析

1 菌株的分离和筛选

用常规方法从不同来源的样品分离细菌，从中选取 24 株，其中 XP01~XP14 分离自厦门祥鹭首饰厂厂区土壤，M01~M10 分离自山东平邑归来庄金矿矿土。从本实验室保存的分离于矿区土壤的细菌中挑选出 9 株。将所选的 33 株细菌扩大培养，制备干菌体，然后进行 Pt^{4+} 的吸附试验。结果表明，所测试的细菌菌株对 Pt^{4+} 的吸附率绝大部分在 50% 以上，有 8 株吸附率达 80% 以上，其中 XP05 菌体对 Pt^{4+} 的吸附率和吸附量最高，分别为 86.6% 和 43.3mg/g（表 1）。从菌株的来源表明，在金属矿区或被贵、重金属污染的环境中比较容易分离得到吸附金属能力较强的菌株。

表 1 吸附 Pt^{4+} 菌株的筛选结果

Table 1 Adsorption of Pt^{4+} by bacteria

| 菌株 | 菌株来源 | 吸附率(%) | 吸附量(mg/g) | 菌株 | 菌株来源 | 吸附率(%) | 吸附量(mg/g) |
|------|-------|--------|-----------|-----|------|--------|-----------|
| XP01 | 首饰厂土壤 | 59.9 | 30.0 | R03 | 矿区土壤 | 60.2 | 30.1 |
| XP02 | 首饰厂土壤 | 59.9 | 30.0 | R04 | 矿区土壤 | 69.1 | 34.6 |
| XP03 | 首饰厂土壤 | 44.6 | 22.3 | R05 | 矿区土壤 | 66.0 | 33.0 |
| XP04 | 首饰厂土壤 | 63.4 | 31.7 | R06 | 矿区土壤 | 64.7 | 32.4 |
| XP05 | 首饰厂土壤 | 86.6 | 43.3 | R07 | 矿区土壤 | 71.6 | 35.8 |
| XP06 | 首饰厂土壤 | 81.7 | 40.9 | R08 | 矿区土壤 | 68.1 | 34.1 |
| XP07 | 首饰厂土壤 | 71.6 | 35.8 | D01 | 矿区土壤 | 45.8 | 21.4 |
| XP08 | 首饰厂土壤 | 77.5 | 38.8 | M01 | 矿区土壤 | 84.0 | 42.0 |
| XP09 | 首饰厂土壤 | 71.8 | 35.9 | M02 | 矿区土壤 | 72.8 | 36.4 |
| XP10 | 首饰厂土壤 | 53.2 | 26.6 | M03 | 矿区土壤 | 80.5 | 40.3 |
| XP11 | 首饰厂土壤 | 84.7 | 42.9 | M04 | 矿区土壤 | 73.8 | 36.9 |
| XP12 | 首饰厂土壤 | 77.2 | 38.6 | M05 | 矿区土壤 | 75.0 | 37.5 |
| XP13 | 首饰厂土壤 | 81.2 | 40.6 | M06 | 矿区土壤 | 80.9 | 40.5 |
| XP14 | 首饰厂土壤 | 82.5 | 41.3 | M07 | 矿区土壤 | 49.1 | 24.6 |
| R01 | 矿区土壤 | 55.5 | 27.8 | M08 | 矿区土壤 | 40.6 | 20.3 |
| R02 | 矿区土壤 | 62.1 | 31.1 | M09 | 矿区土壤 | 74.5 | 37.3 |
| | | | | M10 | 矿区土壤 | 74.0 | 37.0 |

吸附条件： $C_i = 100 \text{ mg/L}$ ； $C_b = 2.0 \text{ g/L}$ ； $\text{pH} = 2.0$ ； 30°C ；60min

2 菌株的鉴定

对上述吸附 Pt^{4+} 能力较强的 8 株菌, 按照常规方法进行分类学鉴定。根据细菌呈杆状、具有芽孢、革兰氏染色阳性和产生过氧化氢酶等特征, M01、M03、M06、XP06 和 XP11 被鉴定为芽孢杆菌属; 根据革兰氏染色, 菌株 XP05、XP13 和 XP14 被定为革兰氏阴性细菌。经 BBL Crystal MIND 细菌自动鉴定仪进一步鉴定, XP05 为弗劳地柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*), 鉴定结果见表 2。

表 2 XP05 的鉴定结果

Table 2 The result of identification of strain XP05

| 实验项目 | 观察结果 | 实验项目 | 观察结果 |
|------------------|-------|---------|---------|
| 显微镜观察 | 菌体呈杆状 | 运动性 | 阳性 |
| 革兰氏染色 | 菌体红色 | 芽孢染色 | 阴性 |
| 甲基红 | 阳性 | 苯丙氨酸脱氨酶 | 阴性 |
| H ₂ S | 阳性 | 过氧化氢酶 | 阳性 |
| 柠檬酸盐 | 阳性 | 无氮培养 | 阴性 |
| V. P. | 阴性 | 氧化酶 | 阴性 |
| D-葡萄糖 | 产酸、产气 | D-木糖 | 产酸、产气 |
| L-阿拉伯糖 | 产酸、产气 | D-甘露醇 | 产酸、不产气 |
| 山梨醇 | 产酸、产气 | 肌醇 | 不产酸、不产气 |

3 细菌生长特性

3.1 XP05 菌株的生长曲线

将 XP05 菌株接种于斜面培养基上培养 18~20h, 用接种环刮取菌体接入加有玻璃珠的无菌水中, 振荡制成菌悬液。用移液管吸取 2mL 菌悬液接入液体培养基中, 30℃ 下振荡培养 0、2、3、4、6、8、10、12、14、16、20、24、28h, 取样测菌体 OD₅₆₀。结果 (图 1) 表明, 培养 9h 后 XP05 菌株生长开始减慢, 到 12h 时达到稳定期。

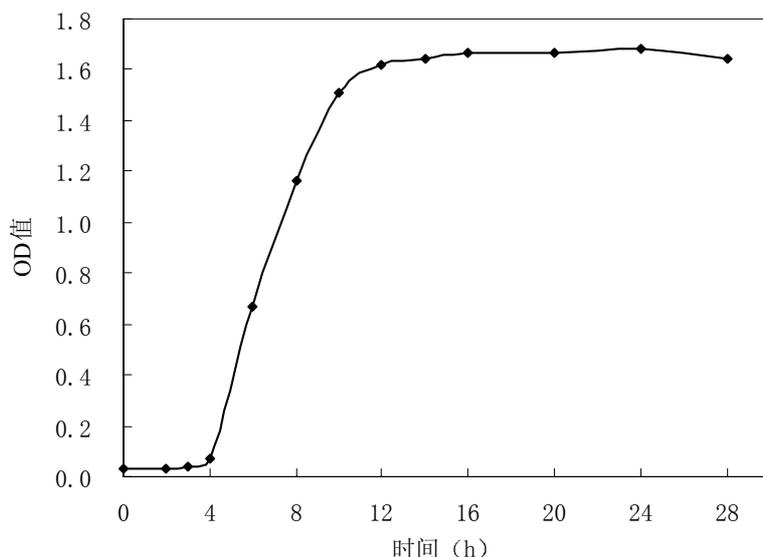


图 1 菌株 XP05 的生长曲线

Fig.1 The growth curve of strain XP05

3.2 Pt^{4+} 离子对菌株 XP05 生长的影响

XP05 菌株接种于液体培养基中，30℃振荡培养 18h，用移液管吸取 2mL 培养物分别接入含有 Pt^{4+} 5mg/L、10mg/L、20mg/L 的液体培养基中，30℃振荡培养 4、8、12、16、24h，取样测 OD_{560} 。结果（图 2）表明，在最初的 8h 内，XP05 菌株的生长明显受 Pt^{4+} 离子的抑制，其抑制程度随培养基中 Pt^{4+} 离子浓度的增加而提高，但 8h 之后，XP05 对 Pt^{4+} 表现出了较好的耐受性。

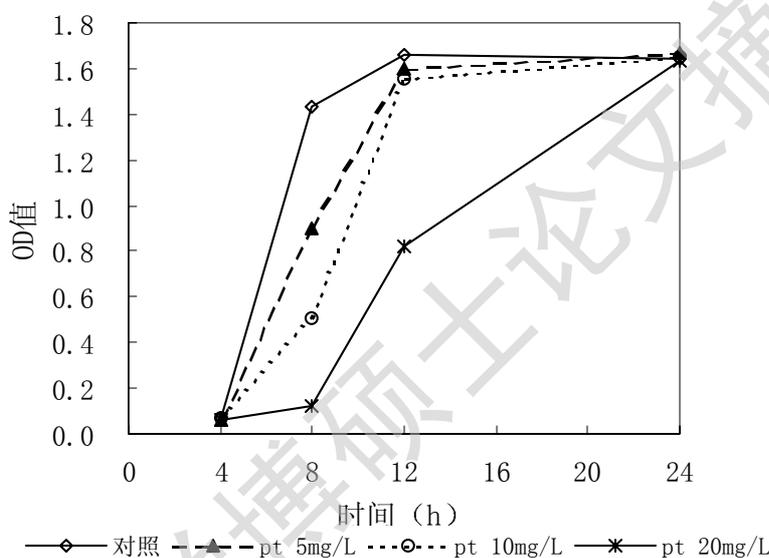


图 2 XP05 菌株对 Pt^{4+} 的耐受性

Figure 2 The endurance of XP05 strain to Pt^{4+}

4 菌龄对 XP05 菌体吸附 Pt^{4+} 的影响

据报道^[68]，培养时间不同即菌龄不同对菌体吸附金属的能力有影响。为了确定 XP05 菌株吸附 Pt^{4+} 的最适培养时间，试验将 XP05 菌株分别培养 16h、20h、24h、30h 的培养物离心、洗涤，制备成干菌体，称重。并测定其对 Pt^{4+} 的吸附力。结果（表 3）表明，培养时间在 16~30h 范围内对菌体吸附 Pt^{4+} 没有明显的影响，而菌体量则随培养时间的延长略有增加，24h 达到最大。故菌体培养时间定为 24h。

表 3 菌龄对菌体吸附 Pt^{4+} 的影响

Table 3 Effect of culture age on Pt biosorption by XP05 biomass

| 培养时间 (h) | 菌体量 (mg) * | 吸附量 (mg/g) | 吸附率 (%) |
|----------|------------|------------|---------|
| 16 | 1129 | 42.8 | 85.5 |
| 20 | 1176 | 42.9 | 85.8 |
| 24 | 1190 | 43.2 | 86.5 |

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库