

doi:10.3799/dqkx.2015.023

硫酸盐还原菌及异化铁还原菌对黄钾铁矾还原作用的对比

王红梅, 刘 烁, 刘 邓

中国地质大学生物地质与环境地质国家重点实验室, 湖北武汉 430074

摘要: 选取酸性矿坑水环境中常见的次生含铁硫酸盐矿物——黄钾铁矾 $[\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6]$ 为研究对象,用硫酸盐还原菌 *Desulfovibrio vulgaris* 和异化铁还原菌 *Shewanella putrefaciens* CN32 对其进行还原实验,探讨作为重金属治理潜在材料的黄钾铁矾的微生物稳定性.实验采用非增长型培养基,在中性、厌氧、30 °C 的条件下进行.采用湿化学方法测量水溶液及还原产生的总 Fe^{2+} ,利用 X 射线衍射(X-ray diffraction,简称 XRD)来分析反应后残余固体物质的矿物组成,用扫描电镜(scanning electronic microscopy,简称 SEM)观察固体残余物的形貌特征.结果表明,没有微生物的参与,黄钾铁矾的稳定性较好.异化铁还原菌 *S. putrefaciens* CN32 和硫酸还原菌 *D. vulgaris* 在营养极其匮乏的中性厌氧条件下均能还原黄钾铁矾晶格中的 Fe^{3+} ,显示出黄钾铁矾被微生物还原的可能性.*S. putrefaciens* CN32 还原黄钾铁矾晶格中 Fe^{3+} 的最大还原速率和最终 Fe^{3+} 还原率分别为 $0.001 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 0.37%.与 *S. putrefaciens* CN32 不同,*D. vulgaris* 对黄钾铁矾的还原能力较强,不含有电子穿梭体(Anthraquinone-2,6-disulfonate,简称 AQDS)的实验体系中 Fe^{3+} 的最大还原速率和最终 Fe^{3+} 还原率分别为 $0.017 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 16.80%,而添加了 AQDS 的实验体系的则分别达到了 $0.026 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 24.30%,这可能与黄钾铁矾中含有 SO_4^{2-} 有关.*D. vulgaris* 优先还原黄钾铁矾晶格中的 SO_4^{2-} 产生的 H_2S 是强还原剂,也可促进 Fe^{3+} 的还原,微生物以及 H_2S 的双重作用可能是导致 *D. vulgaris* 体系中 Fe^{3+} 还原率较高的原因.XRD 分析表明,黄钾铁矾经过 *S. putrefaciens* CN32 的作用,物相没有发生变化;而经过 *D. vulgaris* 作用后,黄钾铁矾的特征峰消失,固相残余物中出现了菱铁矿(FeCO_3)、蓝铁矿 $[\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}]$ 等次生矿物.由于培养基中没有添加任何的磷酸盐,因此蓝铁矿的出现可能是由于培养基中添加的少量酵母浸膏降解后产生的磷酸根与 *D. vulgaris* 还原黄钾铁矾产生的 Fe^{2+} 相互作用的结果.这些认识对深入理解地球表层铁的生物地球化学循环具有重要意义,为矿山环境重金属的污染治理提供了实验依据.

关键词: 黄钾铁矾;酸性矿坑水;硫酸盐还原菌;异化铁还原菌;铁的生物地球化学循环;环境微生物.

中图分类号: Q938.1

文章编号: 1000-2383(2015)02-0305-12

收稿日期: 2014-11-05

Comparison between Reductive Dissolution of Jarosite by Sulfate Reducing Bacteria and Dissimilatory Iron Reducing Bacteria

Wang Hongmei, Liu Shuo, Liu Deng

State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China

Abstract: In this study microbial reduction of jarosite $[\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6]$, a common secondary mineral in acid mine drainage (AMD) area, was conducted with a dissimilatory iron reducing bacterium *Shewanella putrefaciens* CN32 and a sulfate reducing bacterium *Desulfovibrio vulgaris* under neutral anaerobic conditions in non-growth media. Wet chemistry, X-ray diffraction (XRD) and scanning electronic microscopy (SEM) were used to analyze the reduced iron concentration, mineral composition and morphology of the solid phases. It was observed that jarosite was fairly stable under anaerobic conditions without microbes. Both facultative *S. putrefaciens* CN32 and strict anaerobic *D. vulgaris* were capable of reducing the crystallized

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(No.2011CB808800);国家自然科学基金项目(Nos.41130207,41072253,41302270);中央高校基本科研业务费专项项目(No.CUG120103).

作者简介: 王红梅(1970-),女,博士,教授,主要从事地质微生物学的教学和科研工作.E-mail: wanghmei04@163.com

引用格式: 王红梅,刘烁,刘邓,2015.硫酸盐还原菌及异化铁还原菌对黄钾铁矾还原作用的对比.地球科学——中国地质大学学报,40(2): 305-316.

Fe^{3+} in jarosite. Under similar conditions, *D. vulgaris* showed much higher capability to reduce crystallized Fe^{3+} with a final bioreduction extent of 16.80%. In contrast *S. putrefaciens* CN32 can only reduce 0.37% of Fe^{3+} in jarosite. Anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS) can enhance Fe^{3+} reduction in *D. vulgaris* inoculated systems with a final bioreduction extent of 24.30%. No diagnostic spectrum other than those of jarosite was observed in chemical control and *S. putrefaciens* CN32 inoculated systems. In *D. vulgaris* inoculated systems, only spectrum of siderite and jarosite were detected without the presence of AQDS. In the presence of AQDS, jarosite peaks were replaced by peaks of siderite and vivianite. The elemental analysis by energy dispersive spectrometer (EDS) coupled with SEM also confirmed the presence of siderite in *D. vulgaris* inoculated systems. We propose that the higher Fe^{3+} reduction extent with *D. vulgaris* resulted from the presence of SO_4^{2-} in jarosite, which can be reduced to H_2S by *D. vulgaris*. H_2S , a strong reductant, subsequently enhanced Fe^{3+} reduction extent. The observation of vivianite might result from the degradation of yeast extraction which produced phosphate. The results clearly demonstrate the high potential of microbial reduction of jarosite under neutral, anaerobic and oligotrophic conditions. Attention should be paid to the microbial activities and the secondary mineralization when considering jarosite as a candidate material to remove heavy metals or store the radioactive hazards.

Key words: jarosite; acid mine drainage; sulfate reducing bacteria; dissimilatory iron reducing bacteria; biogeochemistry cycle of iron; environmental microbiology.

0 引言

酸性矿坑水 (acid mine drainage, 简称 AMD) 是大气—水—矿物—微生物综合作用的产物。它是随着硫化物矿床的开采而产生的低 pH 值 (2.0~4.5)、富含重金属和 SO_4^{2-} (最高浓度分别可达 200 000 mg/L 及 760 000 mg/L) 的矿山废水 (Nordstrom *et al.*, 2000; Bloom *et al.*, 2007)。而黄钾铁矾 [$\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$, K^+ 可以被 Na^+ 、 NH_4^+ 、 H_3O^+ 、 Ag^+ 或 $1/2 \text{Pb}^{2+}$ 替代] 正是 AMD 地区硫化物氧化后形成的常见次生含铁硫酸盐矿物之一。研究人员已证实微生物如嗜酸性氧化亚铁硫杆菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans* 可以参与硫化物的氧化以及黄钾铁矾的形成 (Ivarson, 1973; Sasaki, 1997; Edwards *et al.*, 2000; 陆现彩等, 2005; 朱长见等, 2005; Daoud and Karamanev, 2006; Wang *et al.*, 2006, 2007; Hita *et al.*, 2008; Liao *et al.*, 2009), 从而影响 Fe 的地球化学元素循环。由于黄钾铁矾具有特殊的晶体结构和很高的比表面积, 对重金属 (As、Pb、Cu、Zn、Ni、Cr 等) 具有很好的共沉淀和极强的吸附作用 (Bigham *et al.*, 1996; Carlson *et al.*, 2002; Sidenko and Sheriff, 2004; 王长秋等, 2005, 2006; 苏贵珍等, 2009; 王红梅等, 2009), 因此被认为是重要的重金属固相吸附剂 (Lee *et al.*, 2002), 对去除 AMD 地区水体中的重金属具有重要意义。

与硫化物的微生物氧化过程相比, 人们对铁硫酸盐矿物的微生物还原过程知之甚少, 成为 AMD 地区铁、硫循环研究中的一个薄弱环节。对这个环节

的研究, 不仅关系到人们对 AMD 地区整个铁、硫循环的理解, 而且关系到有害重金属的重新活化和再分配问题, 关系到矿区水体环境的二次污染。理论上, 黄钾铁矾因含有氧化态的铁和硫 (Fe^{3+} 和 S^{6+}), 它们可以分别被异化铁还原菌 (dissimilatory iron reducing bacteria, 简称 DIRB) 和硫酸盐还原菌 (sulfate reducing bacteria, 简称 SRB) 还原。一方面, Fe^{3+} 被还原后形成可溶性的 Fe^{2+} (Burton *et al.*, 2007)。同时, 矿物表面吸附的重金属以及矿物晶格中固定的重金属会被释放出来, 重金属的活动性增强, 极易进入水体, 造成地下水或地表水的二次污染 (Zachara *et al.*, 2001)。另一方面, SO_4^{2-} 被硫酸盐还原菌还原形成 H_2S (Koschorreck, 2008)。而 H_2S 无论是对 Fe^{3+} 的还原, 还是对释放出来的重金属的重新沉淀都有很好的促进作用 (Chang *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2006; Natarajan, 2008; Gramp *et al.*, 2009; Becerra *et al.*, 2009)。研究人员已证实 DIRB 能够还原黄钾铁矾类矿物晶格中的 Fe^{3+} , 并导致矿物的分解, 使矿物晶格中的重金属如 Ag、Pb 释放出来, 重新形成纳米级的颗粒沉淀物 (Jones *et al.*, 2006; Weisener *et al.*, 2008; Smeaton *et al.*, 2009)。目前人们对该过程还知之甚少, 开展厌氧条件下黄钾铁矾的微生物还原以及次生矿化作用研究对了解 Fe、S 的地球化学元素循环以及伴生重金属的迁移、转化等具有重要意义。

因此本文将选用典型的 DIRB 和 SRB, 并开展它们与黄钾铁矾的相互作用研究, 以期探讨不同菌株之间的差异, 对黄钾铁矾的微生物稳定性进行评价, 为重金属的污染治理提供实验依据。

1 实验材料和方法

1.1 黄钾铁矾矿物的制备

黄钾铁矾由氧化亚铁硫杆菌 *A. ferrooxidans* PU1 菌株(由北京大学鲁安怀教授提供)合成,合成所用培养基为 9K 培养基(Silverman and Lundgren, 1959).配制好的 9K 培养基在超净工作台中抽滤后分装到 250 mL 锥形瓶中,每瓶有 100 mL 培养基,向每个锥形瓶中接种体积分数为 2% 的 *A. ferrooxidans* 菌液后,用封口膜密封,置于 30 °C, 180 r/min 的摇床中振荡培养 7 天.培养结束后,用 0.45 μm 的滤膜收集培养基中产生的棕黄色沉淀物,用蒸馏水清洗 3~4 次后离心,将清洗后合成的矿物冷冻干燥后置于干燥器中保存.取少量矿物进行 XRD 测试以确定合成矿物的成分以及纯度.还原实验开始前对合成的黄钾铁矾进行充分研磨,过 200 目的筛子,保存备用.

1.2 菌株的活化

S. putrefaciens CN32(中国地质大学(武汉)地质微生物学实验室保藏菌株)是兼性厌氧的异化铁还原菌,采用 TSB 培养基(Oxoid Ltd, Hampshire, UK, 配置时使用的浓度为 30 g/L)在有氧的条件下活化菌株.将配制好的 TSB 培养基的 pH 调节至 7.2 左右,接种异化铁还原菌 *S. putrefaciens* CN32 后,置于 30 °C、180 r/min 的摇床中振荡培养.待细菌培养至对数中后期,转接菌液至新鲜 TSB 培养基,重复 3 次.

实验所用的硫酸盐还原菌为 *D. vulgaris*,属于 δ 变形杆菌,严格厌氧.用简易乳酸盐培养基对 *D. vulgaris* 进行活化(Widdel and Bak, 1992),培养过程中严格除氧.在配制培养基的过程中,还原溶液和 FeSO₄ 溶液需单独配制并过滤除菌.培养基中其他成分完全溶解后用 1 mol/L HCl 调节 pH 到 7.2 左右分装到 100 mL 血清瓶中,装有培养基的血清瓶与还原溶液、FeSO₄ 溶液分别用 N₂/CO₂ 混合气(体积比为 80/20)除氧 30 min,之后立即加塞、压铝盖密封.血清瓶中的培养基经过高温高压灭菌后按比例分别加入还原溶液和 FeSO₄ 溶液以去除培养基中残留的氧气,待培养基中氧气除尽后接种 *D. vulgaris*,在 37 °C 下避光恒温培养.

1.3 黄钾铁矾还原实验

1.3.1 *S. putrefaciens* CN32 还原黄钾铁矾的实验设计 采用非增长型培养基开展 *S. putrefaciens* CN32 还原黄钾铁矾的实验.非增长型培养基为

NaHCO₃ 缓冲液(20 mmol/L NaHCO₃ 缓冲液, 1 g/L 酵母浸膏),其中黄钾铁矾作为电子受体(5 g/L)和乳酸钠溶液(50 mmol/L)作为电子供体.设计了如下 2 组对照实验:(1)不接种任何菌液的化学对照组,用以探究化学作用下的黄钾铁矾的还原作用,编号为 Blank,后文用 B 组代表;(2)接种 *S. putrefaciens* CN32 的生物实验组,用以探究异化铁还原菌对黄钾铁矾结构铁的还原作用,该组编号为 Cell,后文用 C 组代表.每个实验组都做了 2 个平行对照.文中实验数据是 2 个平行样品的均值.

还原实验所用 2 种培养基配制完成后,用 1 mol/L HCl 将 pH 调至 7.2 左右,分别分装到 8 个 100 mL 的血清瓶中,然后向培养基中吹入 N₂/CO₂ 混合气(体积比为 80/20)除氧 30 min,之后立刻加塞、压铝盖密封,高温高压灭菌.乳酸钠溶液通入 N₂/CO₂(体积比为 80/20)混合气做除氧处理后,再经过 0.2 μm 的滤膜除菌,之后与装有培养基的血清瓶一同转入 COY 厌氧手套箱中(内充有体积分数为 98% N₂ 和 2% H₂ 的混合气).随后向每组培养基中加入适量的乳酸钠溶液,使得培养基中乳酸钠的最终浓度达到 50 mmol/L.

当 *S. putrefaciens* CN32 在 TSB 培养基中生长到对数中后期,取少量菌液进行吡啶橙染色,用显微镜对菌液进行计数,以获得菌液中细胞的浓度.将 *S. putrefaciens* CN32 培养物转移到厌氧手套箱中,取适量的菌液离心收集 *S. putrefaciens* CN32 细胞(4 000 r/min, 10 min),倒去上层清液,用无菌厌氧的蒸馏水将收集的细胞清洗 3~4 次,用事先除氧并灭菌的 NaHCO₃ 缓冲液和 TSB 培养基各 1 mL,分别轻轻吹打收集到的细胞,制成细胞悬浮液,再分别转移到相应实验组培养基中,使得实验接种的细胞最终浓度为 1×10⁸ 个/mL.最后将血清瓶转入 37 °C 恒温培养箱中避光培养.

1.3.2 *D. vulgaris* 还原黄钾铁矾实验的设计 采用非增长型培养基(20 mmol/L NaHCO₃ 缓冲液, 1 g/L 酵母浸膏, 1 mg/L 刃天青),其中含有黄钾铁矾(2 g/L, 电子受体)和乳酸钠溶液(50 mmol/L, 电子供体)开展 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾的还原作用.共设计了三组实验:(1)不接种任何菌液的化学对照组,编号为 Blank,后文用 B 组代表;(2)接种 *D. vulgaris* 的生物实验组,编号为 Cell,后文用 C 组代表;(3)加入电子穿梭体葱醌-2,6-双碘酸盐(AQDS)并接种 *D. vulgaris* 的生物实验组,用以判断 AQDS 对 *D. vulgaris* 还原黄钾铁矾能力的促进作

用,该组编号为 Cell+AQDS,后文用 C+A 组代表。每个实验组都做了 2 个平行对照。文中实验数据是 2 个平行样品的均值。

还原实验所用培养基配制完成后,用 1 mol/L HCl 将 pH 调至 7.2 左右,分装到 100 mL 血清瓶中,然后向培养基中吹入 N_2/CO_2 混合气(体积比为 80/20)除氧 30 min,之后立马加塞、压铝盖密封。高温高压灭菌后转入 COY 厌氧手套箱中(充有体积分数为 98% N_2 和 2% H_2 的混合气)。如有必要,加入适量质量浓度为 1.5% 的 Na_2S 溶液来去除培养基中残留的氧气。乳酸钠溶液与 AQDS 溶液同样需要通入 N_2/CO_2 混合气做除氧处理,之后用 0.2 μm 的滤膜除菌。随后向每组的培养基中加入适量的乳酸钠溶液,使得培养基中乳酸钠的最终浓度达到 50 mmol/L。在实验组 C+A 中还需加入一定量的浓度为 10 mmol/L AQDS 溶液以促进电子传递, AQDS 的最终浓度为 0.1 mmol/L。

细胞计数、接种等操作以及培养条件等与 *S. putrefaciens* CN32 还原实验相同。最终细胞的浓度为 3×10^8 个/mL。

1.4 Fe^{2+} 的检测

为了检测黄钾铁矾晶格中 Fe^{3+} 的还原过程,总 Fe^{2+} 和可溶 Fe^{2+} 浓度均采用 Ferrozine 法检测(Stookey, 1970)。依据下列公式分别计算还原过程中的最大 Fe^{3+} 还原速率以及最终的 Fe^{3+} 还原率。

$$\text{铁还原率} = \frac{(Fe^{2+})_{\text{总}} - (Fe^{2+})_0}{(Fe^{3+})_{\text{总}}} \times 100\%, \quad (1)$$

$$\text{铁还原速率} = \frac{[(Fe^{2+})_{\text{总}} - (Fe^{2+})_0]_{\text{某段时间内}}}{\Delta T}, \quad (2)$$

其中 $(Fe^{2+})_{\text{总}}$ 代表某个时间点的总 Fe^{2+} 浓度(单位: mmol/L), $(Fe^{2+})_0$ 代表体系中初始的 Fe^{2+} 浓度(单位: mmol/L), $(Fe^{3+})_{\text{总}}$ 代表加入实验体系中的 Fe^{3+} 浓度(单位: mmol/L), ΔT 是某段特定的时间(单位: h)。

1.5 X 射线衍射(XRD)分析

XRD 的样品制备采用涂片法,取 2 mL 溶液用无菌厌氧水清洗 3~4 次,离心制成悬浊液,涂在载玻片上,置于厌氧手套箱中自然风干。分析使用 X'Pert PRO DY2198 型 X 线粉末衍射仪。入射光源为 $CuK\alpha$ 辐射,条件为仪器功率为 1 400 W(管压 40 kV,管流 35 mA),扫描范围为 $2^\circ \sim 65^\circ(2\theta)$,步长 0.02° ,扫描速度为 $0.01^\circ/s$,采用超能探测器。

1.6 扫描电镜(SEM)分析

应用 SEM(Quanta 450 FEG)貌观察。SEM 加

速电压范围为 10~15 kV,激发电子束电流为 30~40 μA 。同时利用配置的能谱仪(energy dispersive spectroscopy,简称 EDS, SDD Inca X-Max 50)分析矿物元素成分。

2 实验结果

2.1 *S. putrefaciens* CN32 对黄钾铁矾的还原

2.1.1 还原过程中 Fe^{2+} 浓度的变化 化学对照组(B组)的总 Fe^{2+} 的浓度极低,且基本保持不变(图 1);而接种了 *S. putrefaciens* CN32 的实验组 C 中则检测到了 Fe^{2+} , Fe^{2+} 的浓度在 24 h 之内并没有明显增长,24 h 以后 Fe^{2+} 的浓度快速增加,至 96 h 达到了稳定,最终的浓度仅为 0.130 ± 0.002 mmol/L(图 1)。根据公式(1)和(2)计算 Fe^{3+} 的最大还原速率以及 Fe^{3+} 的最终还原率分别为 $0.001 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 0.37%。

2.1.2 *S. putrefaciens* CN32 还原黄钾铁矾后物相的变化 对实验体系中的沉淀物进行 XRD 分析,结果显示,化学对照组和生物实验组反应结束后残余物的衍射图谱与原始的黄钾铁矾相吻合,未发现次生矿物的形成(图 2)。

2.2 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾结构 Fe^{3+} 的还原

2.2.1 还原过程中 Fe^{2+} 浓度的变化 总 Fe^{2+} 和水溶 Fe^{2+} 的浓度在化学对照组(B组)中基本保持不变,且浓度极低(图 3)。而接种了 *D. vulgaris* 的实验组,总 Fe^{2+} 与水溶 Fe^{2+} 的浓度的变化趋势相一致,12 h 后 Fe^{2+} 的浓度快速增加,直到 96 h 上升速度减缓, Fe^{2+} 浓度缓慢增加并在 168 h 内达到稳定。

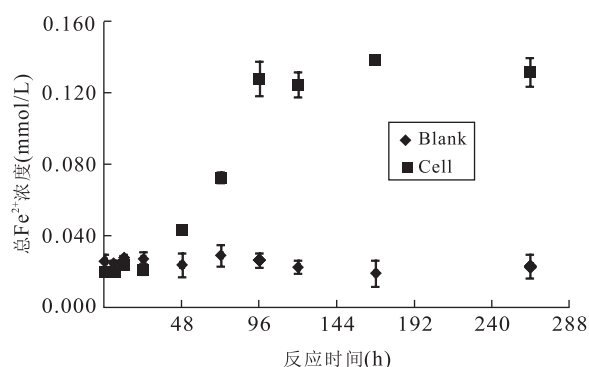


图 1 *S. putrefaciens* CN32 还原黄钾铁矾晶格 Fe^{3+} 后总 Fe^{2+} 随时间的变化

Fig. 1 Variation of total Fe^{2+} concentrations resulting from jarosite reduction in *S. putrefaciens* CN32 inoculated systems and abiotic systems

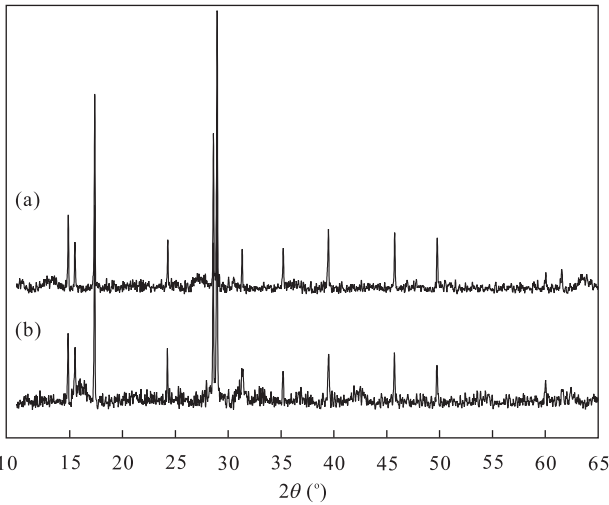


图 2 化学对照组(a)和 *S. putrefaciens* CN32 与黄钾铁矾反应后(b)残余颗粒物的 XRD 图谱

Fig.2 XRD spectrums of the residues in abiotic systems (a) and in *S. putrefaciens* CN32 inoculated systems (b)

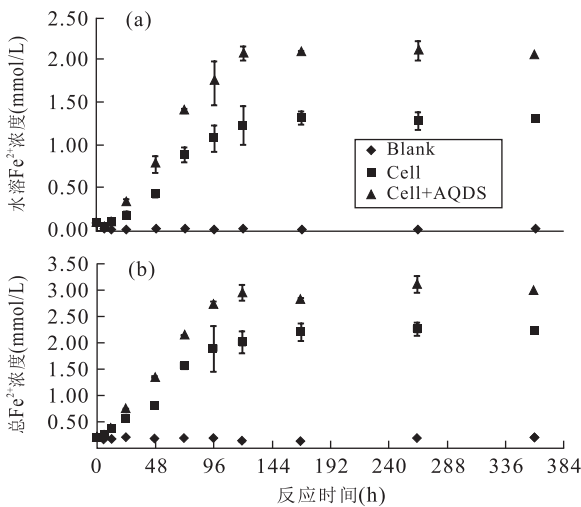


图 3 *D. vulgaris* 还原黄钾铁矾过程中水溶 Fe^{2+} (a) 与总 Fe^{2+} 浓度(b)随时间的变化曲线

Fig.3 Variation of aqueous Fe^{2+} (a) and total Fe^{2+} concentrations (b) in *D. vulgaris* inoculated systems and abiotic systems

电子穿梭体 AQDS 会显著促进 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾的还原作用。培养 24 h 之后, C+A 组较 C 组中 Fe^{2+} 的浓度明显升高, C+A 组最终的总 Fe^{2+} 与水溶 Fe^{2+} 的浓度分别达到了 2.96 ± 0.06 mmol/L 和 2.11 ± 0.02 mmol/L, 而 C 组则仅分别为 2.24 ± 0.02 mmol/L 和 1.32 ± 0.02 mmol/L (图 3)。C 组 Fe^{3+} 的最大还原速率和最终的还原率分别为 0.017 mmol \cdot L $^{-1}$ \cdot h $^{-1}$ 和 16.80%, 而 C+A 组的则分别为 0.026 mmol \cdot L $^{-1}$ \cdot h $^{-1}$ 和 24.30% (图 3,

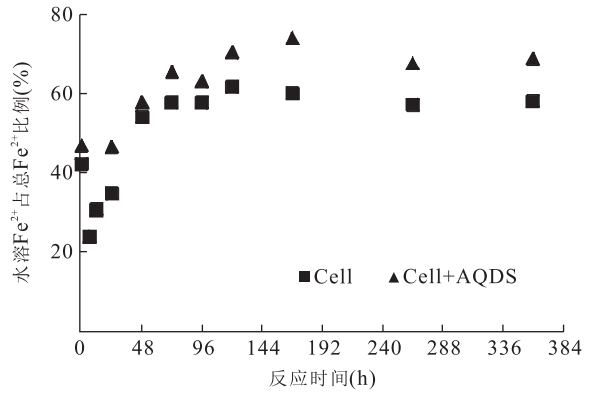


图 4 *D. vulgaris* 还原黄钾铁矾过程中可溶 Fe^{2+} 占总 Fe^{2+} 的百分含量

Fig.4 Percentage variation of aqueous Fe^{2+} in total Fe^{2+} in *D. vulgaris* inoculated systems

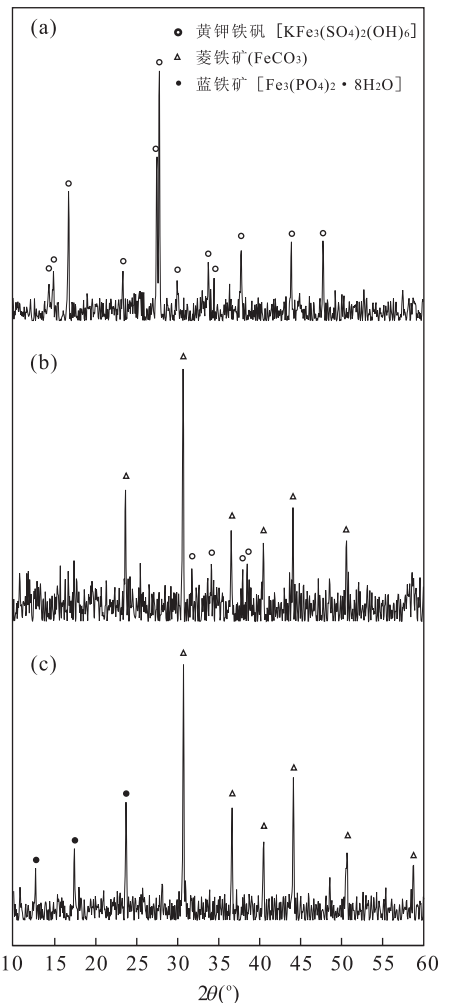


图 5 *D. vulgaris* 与黄钾铁矾反应后残余颗粒物的 XRD 结果

Fig.5 XRD spectrums of the residues in *D. vulgaris* inoculated systems

a. 化学对照组; b. 接种菌液的实验组; c. 接种菌液并添加 AQDS 的实验组

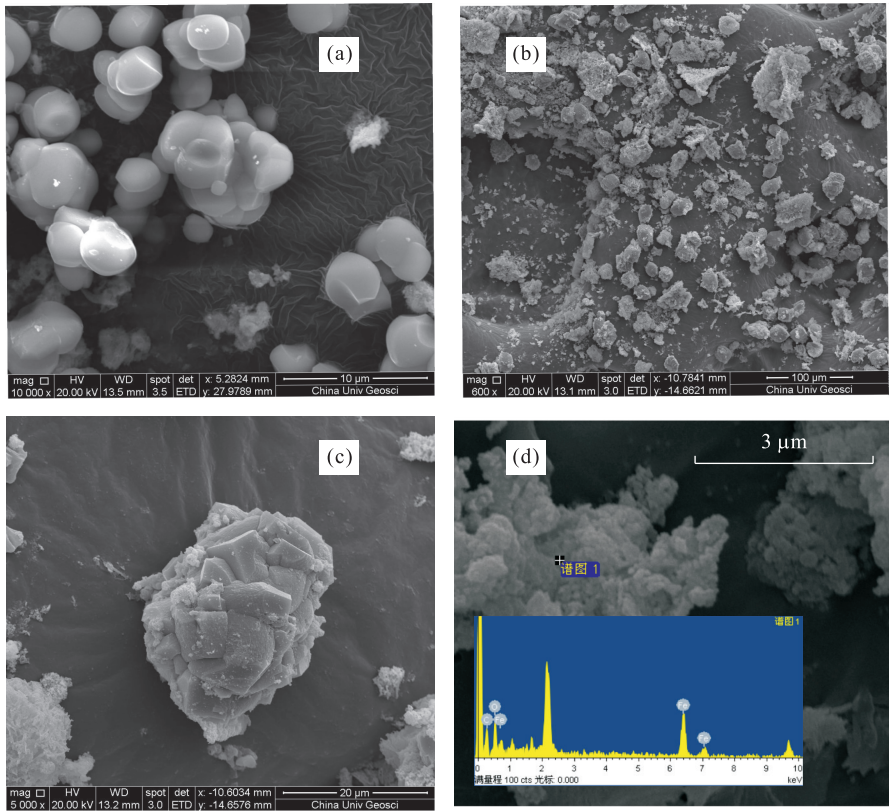


图 6 不同实验组 *D. vulgaris* 与黄钾铁矾反应后残余颗粒物的扫描电镜图像

Fig.6 SEM images of residues in *D. vulgaris* inoculated systems

a.化学对照组;b.接种菌液的生物实验组;c,d.额外添加 AQDS 的生物实验组生成的菱铁矿的形态及能谱扫描结果

表 1)。由此可见, AQDS 能够促进 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾晶格结构中 Fe^{3+} 的还原。

值得注意的是, 在接种了细胞的实验组中(C 组和 C+A 组), 水溶 Fe^{2+} 与总 Fe^{2+} 浓度差别并不大, 且水溶 Fe^{2+} 所占比例随着时间的延长逐渐增加(图 4)。C 组初始的水溶 Fe^{2+} 比例为 42.3%, 在 6 h 有所降低, 水溶 Fe^{2+} 比例仅为 24.0%, 随后即开始逐渐增加到第 168 h 时的 58.2%。C+A 组水溶 Fe^{2+} 比例的变化趋势与 C 组相似, 初始比例为 47.7%, 同样在 6 h 降低至 24.0%, 到 168 h 增加至 70.0%, 之后基本稳定。由此可知黄钾铁矾结构 Fe^{3+} 被还原后产生的 Fe^{2+} 绝大部分是以可溶态形式存在的。

2.2.2 还原前后残余物的物相变化 3 组实验体系中的固体残余物的 XRD 分析显示, B 组反应结束后, 残余物的特征峰中未检测到黄钾铁矾以外的其他矿物的衍射峰(图 5a); C 组除了仍然有十分微弱的黄钾铁矾特征峰外, 还出现了菱铁矿的特征峰(图 5b); C+A 组黄钾铁矾的特征峰完全消失, 除了菱铁矿的特征峰外, 还检测到蓝铁矿的特征峰(图 5c)。

2.2.3 反应残余物的形态及元素组成 化学对照

组中, 黄钾铁矾呈圆润颗粒状(图 6a)。而接种了菌液的 C、C+A 两组, 黄钾铁矾在经过硫酸盐还原菌作用后形貌特征发生了极大变化, C 组反应后的沉淀物中除了有黄钾铁矾外, 还能够观察到土状、块状以及颗粒状矿物(图 6b), C+A 组沉淀物中出现了菱面体的菱铁矿(图 6c), 经能谱扫描发现其主要元素为 Fe、C、O(图 6d), 这与在 XRD 图谱中鉴定的菱铁矿相吻合。

3 讨论

3.1 *S. putrefaciens* CN32 对黄钾铁矾的还原能力

典型的异化铁还原菌 *S. putrefaciens* CN32 对黄钾铁矾具有一定的还原能力, 水溶 Fe^{2+} 最终的浓度仅为 0.130 ± 0.002 mmol/L, Fe^{3+} 的最大还原速率以及 Fe^{3+} 的最终还原率分别为 0.001 mmol \cdot L $^{-1}$ \cdot h $^{-1}$ 和 0.37%。非增长型实验体系是一种贫营养的环境, *S. putrefaciens* CN32 仅能依靠实验开始时加入的少量乳酸钠耦联 Fe^{3+} 的还原来获得能量维持生命活动。随着时间的推移, 细

胞活性逐渐降低, *S. putrefaciens* CN32 对黄钾铁矾的还原逐渐停止. 实验结束后沉淀物的 XRD 结果表明未检测到黄钾铁矾以外的其他矿物, 即 *S. putrefaciens* CN32 还原黄钾铁矾产生的 Fe^{2+} 并未能以次生矿物的形式沉淀下来或者形成的次生矿物含量极低而无法检测到.

前人利用 CN32 菌株在中性条件下 ($\text{pH}=7.0$) 对含有不同重金属 (Ag、Pb、Tl) 的黄钾铁矾进行了还原实验, 实验过程中 Fe^{2+} 的最大浓度分别为 1.75 mmol/L, 0.2 mmol/L, 和 4.6 mmol/L (Weisener *et al.*, 2008; Smeaton *et al.*, 2009; 2012), 经计算, 各实验中微生物对黄钾铁矾的还原率分别为 1.90%, 0.14% 和 27.30%. 除了 Smeaton *et al.* (2012) 的还原率较高外, 其他结果与笔者的结果比较接近. 同一菌株对黄钾铁矾还原能力的差异与实验条件密切相关, 如培养基中营养物质的供应, 实验中细胞的初始浓度, 培养温度以及黄钾铁矾中所含重金属的释放以及实验时间的长短等. 笔者采用的是非增长培养基, 培养基中添加了 1 g/L 的酵母浸膏, 细胞的初始浓度为 1×10^8 个/mL, 且利用了 NaHCO_3 缓冲液来稳定实验过程中的 pH. Fe^{2+} 在 188 h 达到最高, 之后稍有下降. 由于体系中 Fe^{2+} 本身的浓度较低, 而 Fe^{2+} 又是次生矿化过程中的主要驱动力 (Hansel *et al.*, 2005), 因此本实验利用 XRD 并未检测到有其他次生矿物的出现. 但在 188 h 笔者检测到溶液中 Fe^{2+} 有所降低, 这可能与次生矿物的形成有关. 可能是由于 XRD 的检测限较高 (5%), 在 XRD 图谱上笔者并未检测到次生产物的特征峰.

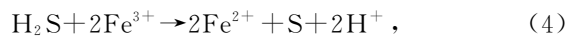
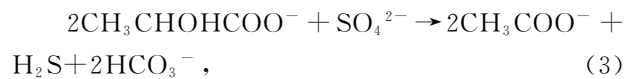
与 CN32 相比, 另一株异化铁还原菌 *Shewanella oneidensis* MR-1 对黄钾铁矾的还原研究中 Fe^{2+} 的最高浓度为 0.183 mmol/L, 还原程度为 0.3% (Ouyang *et al.*, 2014). 但 Fe^{2+} 浓度在实验过程中下降明显, 并检测到了丰富的次生矿物, 中间产物有铜绿, 针铁矿, 而最终的次生产物为磁铁矿和菱铁矿 (Ouyang *et al.*, 2014). 次生矿物的形成不仅与体系中 Fe^{2+} 的浓度有关, 还与体系中其他阴阳离子的浓度相关. 由于该实验体系中也加入了 NaHCO_3 作为缓冲剂, 因此除了铁的氧化物外, 还有菱铁矿的形成.

3.2 *D. vulgaris* 还原黄钾铁矾的机理讨论

本研究中 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾最大的还原速率和最终的还原率分别为 $0.026 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 24.30%. 尽管硫酸盐还原菌以还原 SO_4^{2-} 生成 H_2S 而得名, 但是 SO_4^{2-} 并不是硫酸盐还原菌代谢过程中

唯一可利用的末端电子受体, 许多氧化态的金属元素如 Fe^{3+} 、 Mn^{4+} 、 Cr^{6+} 、 U^{6+} 均可以作为末端电子受体, 被硫酸盐还原菌所还原 (Lovley *et al.*, 1993; Lovley and Phillips, 1994; Michel *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2012). 与以往铁的氧化物以及含铁的粘土矿物不同, 黄钾铁矾的晶格结构中既有 Fe^{3+} 又有 SO_4^{2-} , 两者都可以作为 *D. vulgaris* 代谢的末端电子受体, 因此, 硫酸盐还原菌还原黄钾铁矾的反应过程备受关注.

关于 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾的还原作用的反应机理, 根据前人的研究可以用 2 种反应机制来解释 (Coleman *et al.*, 1993; Lovley *et al.*, 1993). 第 1 种反应机制是间接还原作用, 该作用的反应方程式如下:



即硫酸盐还原菌首先还原 SO_4^{2-} 生成 H_2S 气体, H_2S 具有极强的还原性, 可以将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} . 由于黄钾铁矾晶格中含有 SO_4^{2-} , 理论上这种作用可以存在. 然而值得注意的是, C+A 组 XRD 结果显示该组没有黄钾铁矾的特征峰出现, 但就 Fe^{3+} 的还原率来看只有 24.30%, 这说明该组反应后沉淀物中应该还有黄钾铁矾的残余, 但由于其含量低于 XRD 的检测限, 因此在 XRD 图谱上没有显示.

第 2 种反应机制是酶促作用, SRB 细胞膜上包含不同的细胞色素, 这些细胞色素可以直接传递来自 Fe^{3+} 的电子 (Coleman *et al.*, 1993; Lovley *et al.*, 1993; Tebo and Obraztsova, 1998; Senko *et al.*, 2009). 该作用的反应方程式如下:



这种方式在 SRB 与只含有 Fe^{3+} 的氧化物及粘土矿物相互作用中普遍存在 (Liu *et al.*, 2012). 本次实验中, *D. vulgaris* 究竟利用哪种机理来还原黄钾铁矾笔者还不能确切甄别. 但有研究表明, 在有 AQDS 的情况下, SO_4^{2-} 对 *D. vulgaris* 还原蒙脱石的影响不大, 但没有 AQDS, 添加 SO_4^{2-} 会大大提高 *D. vulgaris* 对蒙脱石晶格 Fe^{3+} 起始的还原速率以及最终的还原程度 (Liu *et al.*, 2010, 2012). 在本实验中 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾显示出较强的还原能力, 这可能与 *D. vulgaris* 具有间接还原 Fe^{3+} 的机理有关. 实际上, SO_4^{2-} 对微生物还原 Fe^{3+} 的促进作用在前人研究中也有报道. 如 SO_4^{2-} 的存在会加强

硫酸盐还原菌 *Desulfovibrio desulfuricans* G-20 对铁氧化物如水铁矿、针铁矿、赤铁矿、磁铁矿和柠檬酸铁的还原作用,使各自的还原率由原来的 4.6%、5.3%、3.7%、8.8% 和 23.0% 提高到 100%、73.9%、64.3%、97.3% 和 100% (Li *et al.*, 2006)。

此外,黄钾铁矾 Fe^{3+} 还原产生的 Fe^{2+} 大部分呈可溶态,吸附或者形成次生矿物的 Fe^{2+} 所占比例较低。这与粘土矿物还原的结果不同,微生物还原粘土矿物的过程中,水溶 Fe^{2+} 极低 (Liu *et al.*, 2010, 2011a, 2011b),这是由于粘土矿物的性质决定的。粘土矿物表面带有丰富的负电荷,使得还原产生的 Fe^{2+} 极易吸附在粘土矿物的表面。黄钾铁矾本身比表面积较大,也具有很强的吸附能力,水溶 Fe^{2+} 浓度在 6 h 出现的下降很可能就是被黄钾铁矾吸附所导致。然而随着反应的进行,黄钾铁矾吸附位点逐渐被饱和,再加上次生矿物菱铁矿的吸附能力并不强,因此,大量的 Fe^{2+} 以可溶态存在溶液中。

3.3 *S. putrefaciens* CN32 与 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾还原作用的比较

在相同的实验条件下,*D. vulgaris* 对黄钾铁矾中 Fe^{3+} 的最大还原速率和最终铁的还原率分别为 $0.017 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 16.80% (表 1),远高于在相同的实验条件下 *S. putrefaciens* CN32 对黄钾铁矾的还原速率以及最终 Fe^{3+} 还原率,这应该与黄钾铁矾含有 SO_4^{2-} 有关。如前所述, SO_4^{2-} 对硫酸盐还原菌还原铁的氧化物具有促进作用已经被证实 (Li *et al.*, 2006)。*D. vulgaris* 可以优先将黄钾铁矾晶格中的 SO_4^{2-} 还原成 H_2S , H_2S 进而促进晶格中 Fe^{3+} 的还原。

AQDS 能够促进微生物与矿物之间的电子传递,因此促进了 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾的还原,添加了 AQDS 的实验组的 Fe^{3+} 还原速率和最终 Fe^{3+} 还原率均高于未添加 AQDS 的实验组 (表 1),然而与相同水化条件下 *D. vulgaris* 在存在 AQDS 时对粘土 NAu-2 还原率 (33.6%) 相比却低很多 (Liu *et al.*, 2012)。与 *D. desulfuricans* 菌株 G-20 在硫酸

盐存在的条件下还原铁氧化物高达 60~75% 的还原率相比更是相差甚远 (Li *et al.*, 2006)。当然微生物对含铁矿物的还原能力与不同的硫酸盐还原菌株密切相关 (Lovely *et al.*, 1993),同时也与所用的含铁矿物本身直接相关。就本实验的结果来看,异化铁还原菌 *S. putrefaciens* CN32 对黄钾铁矾的还原能力弱于硫酸盐还原菌 *D. vulgaris*。与前人所报道的其他硫酸盐还原菌株相比,*D. vulgaris* 的还原能力较弱。

3.4 次级矿化过程

有机物的氧化耦联合铁矿物的还原这个过程会导致无定型矿物以及多种含铁次生矿物的形成,比如绿锈 [$\text{Fe}_4^{2+} \text{Fe}_2^{3+} (\text{OH})_{12}]^{2+} [\text{A} \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$,其中 A 代表阴离子),针铁矿 [$\text{FeO} (\text{OH})$],磁铁矿 (Fe_3O_4),菱铁矿 (FeCO_3),蓝铁矿 [$\text{Fe}_3 (\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$] 等 (Nealson and Saffarini, 1994; Fredrickson *et al.*, 1998; Dong *et al.*, 2000; Kukkadapu *et al.*, 2001; Parma *et al.*, 2001; Zachara *et al.*, 2002; Hansel *et al.*, 2003)。在本实验中检测到了菱铁矿与蓝铁矿。有研究表明 (Ouyang *et al.*, 2014),在 *S. oneidensis* MR-1 异化还原黄钾铁矾的过程中能够检测到绿锈与针铁矿等中间产物,而磁铁矿与菱铁矿则是主要的终产物 (Ouyang *et al.*, 2014)。

由于笔者的实验体系中以 NaHCO_3 作为缓冲液,加上近中性的 pH,有利于菱铁矿的形成。在添加了细胞的 2 种实验体系中全部检测到了菱铁矿。然而在额外添加了电子穿梭体 AQDS 的体系中还检测到了蓝铁矿 [$\text{Fe}_3 (\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$]。实验所用培养基成分中没有磷酸盐,推测磷酸根应该与微生物有关。据报道典型异化铁还原菌 *S. putrefaciens* CN32 还原 Pb-黄钾铁矾的过程中在细菌细胞质内会有高电子密度的纳米颗粒形成,利用能谱分析笔者发现除了构成细胞的基本元素比如 C、S 等外,这些纳米颗粒还富含 Pb (原子分数为 90.38%~92.74%) 和 P (1.76%~2.26%)。对细胞壁的 EDS 分析也发现了 Pb、C、Fe 以及低浓度的 P 和 O。但是实

表 1 *S. putrefaciens* CN32 和 *D. vulgaris* 还原黄钾铁矾最大还原速率以及最终还原率的比较

Table 1 Comparison of the maximum bioreduction rate and final bioreduction extent of jarosite by *S. putrefaciens* CN32 and *D. vulgaris*

参数	<i>S. putrefaciens</i> CN32		<i>D. vulgaris</i>	
	未添加 AQDS	未添加 AQDS	未添加 AQDS	添加 AQDS
最大还原速率 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	0.001	0.017	0.017	0.026
Fe^{3+} 还原率 (%)	0.37	16.80	16.80	24.30

验所用的培养基中也是缺乏磷的,所以有学者认为磷的来源为细胞的组分比如 DNA、RNA 以及磷脂 (Smeaton *et al.*, 2009). 此外,也有部分研究报道细胞能够沉淀无定型的多聚磷酸铅或者是磷酸铅晶体 (Aickin *et al.*, 1979; Levinson *et al.*, 1996; Mire *et al.*, 2004; Perdril *et al.*, 2008). 然而细胞组分比如 DNA、RNA 以及磷脂中的磷元素并不是以磷酸根的形式存在的,因此细胞能否为磷酸盐矿物的形成提供 PO_4^{3-} 还有待进一步商榷. 有研究表明蛋白胨和酵母浸膏降解会产生磷酸根,为磷酸盐矿物的沉淀提供磷源 (Sánchez-Román *et al.*, 2007). 考虑到本实验体系中也存在少量的酵母浸膏,我们推断蓝铁矿中的磷酸根可能与酵母浸膏降解产生的磷酸根有关.

4 结论

本文探讨了在近中性、厌氧条件下异化铁还原菌和硫酸盐还原菌对黄钾铁矾的异化还原作用以及随之发生的次级矿化作用. 同等条件下 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾的还原能力大于 *S. putrefaciens* CN32, 这应该与 *D. vulgaris* 具有双重的还原机制有关. *D. vulgaris* 既可以还原黄钾铁矾中 SO_4^{2-} 又可以还原其晶格中的 Fe^{3+} , 而 SO_4^{2-} 还原产生的 H_2S 具有很强的还原作用,可以增强体系中 Fe^{3+} 的还原. AQDS 的加入能大大提高 *D. vulgaris* 对黄钾铁矾的还原能力,使还原率由 16.80% 提高到 24.20%. 但是与其他已报道的硫酸盐还原菌菌株相比, *D. vulgaris* 的铁还原效率仍然较低. 由于 *S. putrefaciens* CN32 对黄钾铁矾的还原率很低,只有 0.37%, 因此在该实验体系中并未检测到次生矿物的形成. 而在 *D. vulgaris* 两种实验体系中均检测到了菱铁矿,这与实验体系中使用的 NaHCO_3 缓冲液有关. 在加入了 AQDS 的体系中还检测了蓝铁矿,推测与培养基中酵母浸膏的降解而产生的磷酸根有关. 异化铁还原和硫酸盐还原菌在自然界中广泛存在,它们的存在会使得含 Fe^{3+} 矿物被还原和新的次生矿物的形成. 由于黄钾铁矾被认为是潜在的重金属去除的矿物材料,详细了解微生物对黄钾铁矾的还原作用以及相关的矿物转化对深刻理解 Fe 的地球化学循环以及酸性矿坑水地区重金属的污染治理具有重要的参考意义.

致谢: 实验中 XRD 和 SEM 分析在中国地质大学(武汉)地质过程与矿产资源国家重点实验室完成,特此致谢!

References

- Aickin, R. M., Dean, A. C. R., Cheetham, A. K., et al., 1979. Electron Microscope Studies on the Uptake of Lead by a *Citrobacter* Species. *Microbios Letter*, 9(33): 7-15
- Becerra, C. A., Lopez-Luna, E. L., Ergas, S. J., et al., 2009. Microcosm-Based Study of the Attenuation of an Acid Mine Drainage-Impacted Site through Biological Sulfate and Iron Reduction. *Geomicrobiology Journal*, 26(1): 9-20. doi: 10.1080/01490450802599250
- Bigham, J. M., Schwertmann, U., Traiana, S. J., et al., 1996. Schwertmannite and the Chemical Modeling of Iron in Acid Sulfate Waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60(12): 2111-2121. doi: 10.1016/0016-7037(96)00091-9
- Bloom, J. E., Yuretich, R. F., Gál, N. E., 2007. Environmental Consequences of Acid Mine-Drainage from Davis Pyrite Mine, Rowe, Massachusetts. *Northeast Geological and Environmental Sciences*, 29(2): 107-120.
- Burton, E. D., Bush, R. T., Sullivan, L. A., et al., 2007. Reductive Transformation of Iron and Sulfur in Schwertmannite-Rich Accumulations Associated with Acidified Coastal Lowlands. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(18): 4456-4473. doi.org/10.1016/j.gca.2007.07.007
- Carlson, L., Bigham, J. M., Schwertmann, U., et al., 2002. Scavenging of As from Acid Mine Drainage by Schwertmannite and Ferrihydrite: A Comparison with Synthetic Analogues. *Environmental Science and Technology*, 36(8): 1712-1719. doi: 10.1021/es0110271
- Chang, I. S., Shin, P. K., Kim, B. H., 2000. Biological Treatment of Acid Mine Drainage under Sulphate-Reducing Conditions with Solid Waste Materials as Substrate. *Water Research*, 34(4): 1269-1277. doi: 10.1016/S0043-1354(99)00268-7
- Coleman, M. L., Hedrick, D. B., Lovley, D. R., et al., 1993. Reduction of Fe (III) in Sediments by Sulphate-Reducing Bacteria. *Nature*, 361(2): 436-438. doi: 10.1038/361436a0
- Daoud, J., Karamanev, D., 2006. Formation of Jarosite during Fe^{2+} Oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Minerals Engineering*, 19(9): 960-967. doi: 10.1016/j.mineng.2005.10.024
- Dong, H. L., Fredrickson, J. K., Kennedy, D. W., et al., 2000. Mineral Transformation Associated with the Microbial Reduction of Magnetite. *Chemical Geology*, 169(3-4): 299-318. doi: 10.1016/S0009-2541(00)00210-2
- Edwards, K. J., Bond, P. L., Gihring, T. M., et al., 2000. An Archaeal Iron-Oxidizing Extreme Acidophile Important in Acid Mine Drainage. *Science*, 287(5459): 1796-

- 1799, doi:10.1126/science.287.5459.1796
- Fortin, D., Praharaj, T., 2005. Role of Microbial Activity in Fe and S Cycling in Sub-Oxic to Anoxic Sulfide-Rich Mine Tailings: A Mini-Review. *Journal of Nuclear and Radiochemical Sciences*, 6 (1): 39 – 42. doi: 10.14494/jnrs2000.6.39
- Fredrickson, J.K., Zachara, J.M., Kennedy, D.W., et al., 1998. Biogenic Iron Mineralization Accompanying the Dissimilatory Reduction of Hydrous Ferric Oxide by a Groundwater Bacterium. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62(19–20): 3239 – 3257. doi: 10.1016/S0016-7037(98)00243-9
- Gramp, J.P., Wang, H.M., Bigham, J.M., et al., 2009. Biogenic Synthesis and Reduction of Fe(III)-Hydroxysulfates. *Geomicrobiology Journal*, 26 (4): 275 – 280. doi: 10.1080/01490450902892597
- Hansel, C.M., Benner, S.G., Fendorf, S., 2005. Competing Fe (II)-Induced Mineralization Pathways of Ferrihydrite. *Environmental Science and Technology*, 39 (18): 7147 – 7153. doi: 10.1021/es0506666z
- Hansel, C.M., Benner, S.G., Neiss, J., et al., 2003. Secondary Mineralization Pathways Induced by Dissimilatory Iron Reduction of Ferrihydrite under Advective Flow. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67 (16): 2977 – 2992. doi: 10.1016/S0016-7037(03)00276-x
- Hita, R., Wang, H.M., Bigham, J.M., et al., 2008. Bioleaching of a Pyritic Sludge from the Aznalcóllar (Spain) Mine Spillage at Ambient and Elevated Temperatures. *Hydrometallurgy*, 93 (1–2): 76 – 79. doi: 10.1016/j.hydromet.2008.03.004
- Ivarson, K.C., 1973. Microbiological Formation of Basic Ferric Sulfates. *Canadian Journal of Soil Science*, 53(3): 315 – 323. doi: 10.4141/cjss73-046
- Jones, E.J.P., Nadeau, T.L., Voytek, M.A., et al., 2006. Role of Microbial Iron Reduction in the Dissolution of Iron Hydroxysulfate Minerals. *Journal of Geophysical Research*, 111(G1): G01012. doi: 10.1029/2005JG000089
- Koschorreck, M., 2008. Microbial Sulphate Reduction at a Low pH. *FEMS Microbiology Ecology*, 64 (3): 329 – 342. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00482.x
- Kukkadapu, R. K., Zachara, J. M., Smith, S. C., et al., 2001. Dissimilatory Bacterial Reduction of Al-Substituted Goethite in Subsurface Sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65 (17): 2913 – 2924. doi: 10.1016/S0016-7037(01)00656-1
- Lee, G., Bigham, J. M., Faure, G., 2002. Removal of Trace Metals by Coprecipitation with Fe, Al and Mn from Natural Waters Contaminated with Acid Mine Drainage in the Ducktown Mining District, Tennessee. *Applied Geochemistry*, 17 (5): 569 – 581. doi: 10.1016/S0883-2927(01)00125-1
- Levinson, H.S., Mahler, I., Blackwelder, P., et al., 1996. Lead Resistance and Sensitivity in *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters*, 145(3): 421 – 425. doi: 10.1016/S0378-1097(96)00443-0
- Li, Y. L., Vali, H., Yang, J., et al., 2006. Reduction of Iron Oxides Enhanced by a Sulfate-Reducing Bacterium and Biogenic H₂S. *Geomicrobiology Journal*, 23 (2): 103 – 117. doi: 10.1080/01490450500533965
- Liao, Y.H., Zhou, L.X., Liang, J.R., et al., 2009. Biosynthesis of Schwertmannite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* Cell Suspensions under Different pH Condition. *Materials Science and Engineering C*, 29 (1): 211 – 215. doi: 10.1016/j.msec.2008.06.011
- Liu, D., Dong, H.L., Bishop, M.E., et al., 2011a. Reduction of Structural Fe (III) in Nontronite by Methanogen *Methanosarcina barkeri*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75(4): 1057 – 1071. doi: 10.1016/j.gca.2010.11.009
- Liu, D., Wang, H.M., Dong, H.L., et al., 2011b. Mineral Transformations Associated with Goethite Reduction by *Methanosarcina barkeri*. *Chemical Geology*, 288 (1–2): 53 – 60. doi: 10.1016/j.chemgeo.2011.06.013
- Liu, D., Dong, H., Bishop, M.E., et al., 2012. Microbial Reduction of Structural Iron in Interstratified Illite-Smectite Minerals by a Sulfate-Reducing Bacterium. *Geobiology*, 10 (2): 150 – 156. doi: 10.1111/j.1472-4669.2011.00307.x
- Liu, D., Wang, H.M., Qiu, X., et al., 2010. Comparison of Reduction Extent of Fe(III) in Nontronite by *Shewanella putrefaciens* and *Desulfovibrio vulgaris*. *Journal of Earth Science*, 21 (Special Issue): 297 – 299. doi: 10.1007/s12583-010-0241-7
- Lovley, D.R., Phillips, E.J.P., 1994. Reduction of Chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and Its *c₃* Cytochrome. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 (2): 726 – 728.
- Lovley, D.R., Roden, E.E., Phillips, E.J.P., et al., 1993. Enzymatic Iron and Uranium Reduction by Sulfate-Reducing Bacteria. *Marine Geology*, 113 (1–2): 41 – 53. doi: 10.1016/0025-3227(93)90148-O
- Lu, X.C., Lu, J.J., Zhu, C.J., et al., 2005. Preliminary Study on Surface Properties of Iron Sulfate Formed by Microbially Induced Mineralization. *Geological Journal of China Universities*, 11 (2): 194 – 198 (in Chinese with English abstract).
- Michel, C., Brugna, M., Aubert, C., et al., 2001. Enzymatic Re-

- duction of Chromate; Comparative Studies Using Sulfate-Reducing Bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 55(1): 95—100. doi: 10.1007/s002530000467
- Mire, C. E., Tourjee, J. A., O'Brien, W. F., et al., 2004. Lead Precipitation by *Vibrio harveyi*: Evidence for Novel Quorum-Sensing Interactions. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(2): 855—864. doi: 10.1128/AEM.70.2.855—864.2004
- Natarajan, K. A., 2008. Microbial Aspects of Acid Mine Drainage and Its Bioremediation. *Transactions of Non-ferrous Metals Society of China*, 18(6): 1352—1360. doi: 10.1016/S1003—6326(09)60008—X
- Nealson, K. H., Safarini, D., 1994. Iron and Manganese in Anaerobic Respiration: Environmental Significance, Physiology, and Regulation. *Annual Review of Microbiology*, 48: 311—343. doi: 10.1146/annurev.mi.48.100194.001523
- Nordstrom, D. K., Alpers, C. N., Ptacek, C. J., et al., 2000. Negative pH and Extremely Acidic Mine Waters from Iron Mountain, California. *Environmental Science and Technology*, 34(2): 254—258. doi: 10.1021/es990646v
- Ouyang, B. J., Lu, X. C., Liu, H., et al., 2014. Reduction of Jarosite by *Shewanella oneidensis* MR-1 and Secondary Mineralization. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 124: 54—71. doi: 10.1016/j.gca.2013.09.020
- Parma, N., Gorby, Y. A., Beveridge, T. J., et al., 2001. Formation of Green Rust and Immobilization of Nickel in Response to Bacterial Reduction of Hydrous Ferric Oxide. *Geomicrobiology Journal*, 18(4): 375—385. doi: 10.1080/014904501753210549
- Perdrial, N., Liewig, N., Delphin, J. E., et al., 2008. TEM Evidence for Intracellular Accumulation of Lead by Bacteria in Subsurface Environments. *Chemical Geology*, 253(3—4): 196—204. doi: 10.1016/j.chemgeo.2008.05.008
- Sánchez-Román, M., Rivadeneyra, M. A., Vasconcelos, C., et al., 2007. Biomineralization of Carbonate and Phosphate by Moderately Halophilic Bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 61(2): 273—284. doi: 10.1111/j.1574—6941.2007.00336.x
- Sasaki, K., 1997. Raman Study of the Microbially Mediated Dissolution of Pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. *The Canadian Mineralogist*, 35: 999—1008.
- Senko, J. M., Zhang, G. X., McDonough, J. T., et al., 2009. Metal Reduction at Low pH by *Desulfosporosinus* Species; Implications for the Biological Treatment of Acidic Mine Drainage. *Geomicrobiology Journal*, 26(2): 71—82. doi: 10.1080/01490450802660193
- Sidenko, N. V., Sherriff, B. L., 2004. Attenuation of Metals by Iron-Phases from Surface and Ground Water of Ni-Cu Mine Waste. In: Pecchio, M., ed., 8th International Congress on Applied Mineralogy, Águas de Lindóia, 503—506.
- Silverman, M. P., Lundgren, D. G., 1959. Studies on the Chemotrophic Iron Bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*: I. An Improved Medium and a Harvesting Procedure for Securing High Cell Yields. *Journal of Bacteriology*, 77(5): 642—647.
- Smeaton, C. M., Fryer, B. J., Weisener, C. G., 2009. Intracellular Precipitation of Pb by *Shewanella putrefaciens* CN32 during the Reductive Dissolution of Pb-Jarosite. *Environmental Science and Technology*, 43(21): 8086—8091. doi: 10.1021/es901629c
- Smeaton, C. M., Walshe, G. E., Fryer, B. J., et al., 2012. Reductive Dissolution of Tl(I)-Jarosite by *Shewanella putrefaciens*: Providing New Insights into Tl Biogeochemistry. *Environmental Science and Technology*, 46(20): 11086—11094. doi: 10.1021/es302292d
- Stookey, L. L., 1970. Ferrozine—A New Spectrophotometric Reagent for Iron. *Analytical Chemistry*, 42(7): 779—781. doi: 10.1021/ac60289a016
- Su, G. Z., Lu, J. J., Lu, X. C., et al., 2009. An Experimental Study of the Adsorption of Cu^{2+} and *Acidithiobacillus ferrooxidans* on Schwertmannite. *Acta Petrologica et Mineralogica*, 28(6): 575—580 (in Chinese with English abstract).
- Tebo, B. M., Obraztsova, A. Y., 1998. Sulfate-Reducing Bacterium Grows with Cr(VI), U(VI), Mn(IV), and Fe(III) as Electron Acceptors. *FEMS Microbiology Ecology*, 162(1): 193—198. doi: 10.1111/j.1574—6968.1998.tb12998.x
- Wang, C. Q., Ma, S. F., Lu, A. H., et al., 2005. The Formation Condition of Jarosite and Its Environmental Significance. *Acta Petrologica et Mineralogica*, 24(6): 607—611 (in Chinese with English abstract).
- Wang, C. Q., Ma, S. F., Lu, A. H., et al., 2006. A Preliminary Study on the Cr(IV) Removing from Wastewater by Precipitation of Jarosite Group Minerals. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 25(4): 335—338 (in Chinese with English abstract).
- Wang, H. M., Yang, X. F., Gong, L. F., et al., 2009. The Effect of As(V) on the Oxidizing Capacity of the Mixed Culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Acta Petrologica et Mineralogica*, 28(6): 507—512 (in Chinese with English abstract).
- Wang, H. M., Bigham, J. M., Jones, F. S., et al., 2007. Synthesis and Properties of Ammoniojarosites Prepared with Iron-Oxidizing Acidophilic Microorganisms at 22—

65 °C. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(1): 155 — 164. doi: 10.1016/j.gca.2006.09.001

Wang, H.M., Bigham, J.M., Tuovinen, O.H., 2006. Formation of Schwertmannite and Its Transformation to Jarosite in the Presence of Acidophilic Iron-Oxidizing Microorganisms. *Materials Science and Engineering C*, 26(4): 588 — 592. doi: 10.1016/j.msec.2005.04.009

Weisener, C.G., Babechuk, M.G., Fryer, B.J., et al., 2008. Microbial Dissolution of Silver Jarosite: Examining Its Trace Metal Behaviour in Reduced Environments. *Geomicrobiology Journal*, 25(7-8): 415 — 424. doi: 10.1080/01490450802403073

Widdel, F., Bak, F., 1992. Gram-Negative Mesophilic Sulfate-Reducing Bacteria. In: Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., et al., eds., *The Prokaryotes*, Springer, New York, 3352 — 3378. doi: 10.1007/978-1-4757-2191-1 21

Zachara, J. M., Kukkadapu, R. K., Fredrickson, J. K., et al., 2002. Biomineralization of Poorly Crystalline Fe(III) Oxides by Dissimilatory Metal Reducing Bacteria (DMRB). *Geomicrobiology Journal*, 19(2): 179 — 207. doi: 10.1080/01490450252864271

Zachara, J. M., Fredrickson, J. K., Smith, S. C., et al., 2001. Solubilization of Fe(III) Oxide-Bound Trace Metals by a Dissimilatory Fe(III) Reducing Bacterium. *Geochimica*

et Cosmochimica Acta, 65(1): 75 — 93. doi: 10.1016/S0016-7037(00)00500-7

Zhu, C.J., Lu, J.J., Lu, X.C., et al., 2005. SEM Study on Jarosite Mediated by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Geological Journal of China Universities*, 11(2): 234 — 238 (in Chinese with English abstract).

附中文参考文献

陆现彩, 陆建军, 朱长见, 等, 2005. 微生物矿化成因的铁硫酸盐矿物表面特征初探. *高校地质学报*, 11(2): 194 — 198.

苏贵珍, 陆建军, 陆现彩, 等, 2009. 施氏矿物吸附 Cu^{2+} 及氧化亚铁硫杆菌的实验研究. *岩石矿物学杂志*, 28(6): 575 — 580.

王长秋, 马生凤, 鲁安怀, 2006. 黄钾铁矾类矿物沉淀去除 Cr(VI) 的初步研究. *矿物岩石地球化学通报*, 25(4): 335 — 338.

王长秋, 马生凤, 鲁安怀, 等, 2005. 黄钾铁矾的形成条件研究及其环境意义. *岩石矿物学杂志*, 24(6): 607 — 611.

王红梅, 杨小芬, 龚林锋, 等, 2009. As(V) 对嗜酸性氧化亚铁硫杆菌混合培养物氧化性能的影响. *岩石矿物学杂志*, 28(6): 507 — 512.

朱长见, 陆建军, 陆现彩, 等, 2005. 氧化亚铁硫杆菌作用下形成的黄钾铁矾的 SEM 研究. *高校地质学报*, 11(2): 234 — 238.