

异养微生物还原氧化铁的研究

王银善 曹志方 肖华胜 罗鸿禧

(中科院武汉病毒研究所, * 中科院武汉岩土力学所 武汉 430071)

摘要 所试的异养微生物能在静止状态含蔗糖和氧化铁的培养液中生长。它们在氧化蔗糖到 CO_2 时, 伴随着 Fe^{3+} 还原到 Fe^{2+} , Fe^{2+} 移动到基质表面与 O_2 接触后, 又会氧化为 Fe^{3+} 。培养液 Fe^{3+} 被还原的适宜pH和温度分别为7.0、25℃。若培养液中加入0.1%硝酸盐时, 还原 Fe^{3+} 的过程会停滞或减慢。

关键词 异养微生物, 氧化铁, 还原

土壤中生存着大量的多种多样的微生物, 仅以细菌而言, 每克一般土壤就含几亿个, 而肥沃土壤则多达几十亿个。它们的生长、繁殖都会引起土壤中相关物质的变化。其中还原溶解性弱的三价铁(Fe^{3+})到溶解性强的二价铁(Fe^{2+})的过程即是一例。有学者已注意到在厌氧或兼性厌氧微生物作用下, 浸水土壤中会发生将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 的现象。Takai和Kamura^[1]从水稻土分离的细菌接种到加 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 培养基中比未加者生长快, 其菌体的生长量与 Fe^{2+} 形成量之间是呈正比关系。Jones等^[2]报道, 细菌欲转移电子到 Fe^{3+} , 其本身必须与 Fe^{3+} 接触。后来的研究也表明^[3], 在此过程中, Fe^{3+} 或 NO_3^- 等是作为电子受体, 而电子供体则是乙酸、乙醇等有机化合物。

本文分析了一些异养微生物还原 Fe^{3+} 的性和硝酸盐存在与 Fe^{2+} 形成的关系, 同时还就微生物还原 Fe^{3+} 到 Fe^{2+} 对岩土力学工程的影响进行了讨论。

1 材料与方法

1.1 微生物来源

试验所用的微生物有的(见表1中2[#]~4[#]、6[#]和7[#]菌)^[4]是从土壤、污水、地下管道和工业废弃物等样品中分离的; 有的(见表1中1[#]和5[#]菌)^[5]是本实验室保存的。

1.2 培养基和培养条件

配制勃龙菲尔特培养液(g/L): 蔗糖 5.0,

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, CaCO_3 5.0, 酵母膏 0.15, K_2HPO_4 0.5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.0, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 0.5(也可用其它 Fe^{3+} 代替), 蒸馏水 1000ml, pH7.0, 分装于 $1.8 \times 18\text{cm}$ 试管中(液面高约10cm), $0.55 \times 10^5\text{Pa}$ 灭菌30min。试验时, 分别将供试菌接入上述试管中, 不接种者为对照, 25℃静止培养, 不同时间取样分析。

1.3 二价铁(Fe^{2+})检测^[6]

取培养不同时间的上述培养液, 加入适量的1% 2, α -联吡啶溶液(用10%醋酸配制), 如有二价铁形成, 则呈红色反应。

1.4 亚硝酸盐的检测^[7]

采用对-氨基苯磺酸法进行。配制 α -萘胺溶液(B)和对-氨基苯磺酸溶液(A), 用时将A、B二溶液等量混合即可。检测 NO_2^- 时, 取一定量的培养液, 加入1/5混合试剂, 如有 NO_2^- 形成, 则有红色反应。

2 结果

2.1 还原氧化铁能力的检测

被试的微生物接种在以蔗糖为碳源的勃龙菲尔特培养液时, 它们都可还原溶解性弱、移动性差的三价铁(Fe^{3+})到溶解性强、移动性好的二价铁(Fe^{2+})。从表1看出, 接种的微生物菌种不同, 还原 Fe^{3+} 到 Fe^{2+} 的能力也不一样。

还原能力强, 一般在 60h 左右即可从培养液测出 Fe^{2+} ; 还原能力差者, 则需要 144h 左右。这些微生物在培养过程中, 有的可大量产气, 有的则不明显。试验所用的 1[#]、2[#]和 4[#]菌培养 144h 左右(接种量大时 80h 左右), 在试管的液面上就会出现褐黄色的氧化铁层。此现象, 一般在前期形成 Fe^{2+} 多的菌株最易发生。随着培养时间的延长, 氧化铁层的厚度还会逐渐增加。这大概是由于底层 Fe^{3+} 被微生物还原为 Fe^{2+} 后, 移动至表层遇氧又转化为 Fe^{3+} 的结果。

表1 微生物还原 Fe^{3+} 到 Fe^{2+} 的能力

菌 株	Fe^{2+} 的形成 ($\times 10^{-6}$)		
	60h	144h	192h
1 <i>Alcaligenes</i> sp. SB1s	10	20	25
2 <i>Pseudomonas</i> sp. WS-5	10	20	30
3 <i>Bacterium</i> No.1	—*	10	20
4 <i>Bacterium</i> No.2	15	20	25
5 <i>Aspergillus niger</i> J5	—	10	15
6 <i>penicillium</i> sp. scl	10	15	20
7 <i>Saccharomyces</i> sp. H1	15	20	20
对照(未接种)	—	—	—

*—: 表示未检出 Fe^{2+} 。

2.2 硝酸盐存在与还原氧化铁能力的关系

为检测硝酸盐存在与 Fe^{3+} 还原到 Fe^{2+} 的关系, 在勃龙菲尔特培养液中补加 0.1% KNO_3 , 以未补加者为对照。尔后分别接种表 1 中的 2[#]假单胞菌 WS-5、6[#]青霉菌 SO1 和 7[#]酵母菌 H1 进行培养、检测。在测定培养液中 Fe^{2+} 形成量时, 同时也测定还原硝酸盐的能力(即测定 NO_2^- 形成的量)。试验表明, 在未补加 KNO_3 的培养液中, 所接种的细菌、真菌和酵母菌都在 48h 后测出 Fe^{2+} 。但是, 在补加 KNO_3 的培养液中, 同一时间内, 却仅测出 NO_2^- , 而未测出 Fe^{2+} 。如将此试验继续进行, NO_2^- 浓度会由高变低, 直到全部消失。其中假单胞菌 WS-5 还原硝酸盐的能力较强, 96h 便测不出 NO_2^- (转化为氨之故), 但这时培养液中 Fe^{2+} 开始形成并逐日增多。所试的青霉菌 SO1 和酵母菌 H1 也有类似的变化趋势, 只在程度上有点差异。显然, 硝酸盐和 Fe^{3+} 是竞争性的电子受

体。前者除作电子受体外, 还可作微生物生长的氮源: 当供试微生物仅以 KNO_3 [未加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$] 作氮源时, 仍可生长繁殖。从这些数据看出, Fe^{3+} 还原到 Fe^{2+} 的过程不仅可被某些微生物还原硝酸盐的性能所制约, 而且还可能被硝酸还原酶催化完成^[2]。

2.3 环境因子对微生物还原 Fe^{3+} 的影响

一定浓度的 HgCl_2 对很多生物都有抑制作用。该试剂对所试微生物还原 Fe^{3+} 能力的抑制作用也很明显。在上述培养液中加入 HgCl_2 (1mg/10ml) (以未加者为对照), 尔后接种还原 Fe^{3+} 能力强的 1[#]产碱杆菌 SB1s 和 2[#]假单胞菌 WS-5, 培养后观察: 加 HgCl_2 者细菌未生长, 也未测出 Fe^{2+} ; 对照则正好相反。这表明形成 Fe^{2+} 的过程是一个生物学过程。此外, 碳源的有无及类型、温度的高低都会影响微生物的生长。试验证明, 当有碳源且为易利用的碳源如蔗糖、温度在 25℃ 左右时, 微生物生长繁殖快、菌体量大、还原 Fe^{3+} 能力强; 而当无碳源或有难利用的碳源如木质素、温度在 >35℃、<10℃ 时, 情况则正好相反。至于氧气对形成 Fe^{2+} 的影响则是负增长效应。即通气状况越好, 形成 Fe^{2+} 越少; 反之则形成 Fe^{2+} 逐渐增多。以振荡 (150r/min) 和静止两种形式平行培养 5d 后, 前者培养液呈土黄色, 未检出 Fe^{2+} ; 而后者则呈灰白色, 可检出 Fe^{2+} , 且在液面上出现褐黄色氧化铁层。

3 讨论

a. 铁的氧化状态与环境中酸碱度关系密切。通常铁在酸性条件下呈还原状态 (Fe^{2+}), 在碱性条件下呈氧化状态 (Fe^{3+})。然而, 在本试验所述的条件下, 还原 Fe^{3+} 到 Fe^{2+} 的过程则是与生物学(即酶催化反应)相联系的。其理由是, (1) 在培养液加入硝酸盐后, 所试的还原 Fe^{3+} 微生物都可诱导产生硝酸还原酶, 该酶的作用, 致使其还原 Fe^{3+} 的能力受到了抑制; (2) 所试的大部分微生物在培养过程 pH 为中性偏酸或偏碱, 但还原 Fe^{3+} 的能力较强; 而少部分培养液 pH 可降到 4 以下, 却形成 Fe^{2+} 较少;

(3)所用的培养液经 $0.55 \times 10^5 \text{ Pa}$ 灭菌后, 保温一段时间, 未检出 Fe^{2+} 。

b. 通常含硝酸还原酶的微生物能在还原条件(降低氧压力)生存。它们氧化有机物(电子供体)的过程是与 Fe^{3+} (电子受体)还原偶联在一起进行的。从上述结果推测, 本试验所用的兼性厌氧细菌和酵母菌的能量代谢过程可能与文献报道^[3]类似。

c. 由于土壤中生存在着很多厌氧或兼性厌氧微生物, 因此在以泥土为材料构筑大坝或其它工程设施时, 要尽量使其不含或少含碳、氮和 Fe^{3+} 等物质。要避免构筑物频繁出没在水位时低时高的水体中, 不然, 其寿命会大受影响。

参考文献

- [1] Takai Y, Kamura T. *Folia Microbiology*, 1966, 11: 304~313.
- [2] Jones J G, Gardener S, Simon B M. *J of General Microbiology*, 1983, 129: 131~139.
- [3] Lovley D R, Phillips E J P. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 54: 1472.
- [4] 肖华胜, 王银善. 中国环境科学, 1995, 15: 464~469.
- [5] 王银善, 庞学军, 方慧祺等. 环境科学学报, 1991, 11: 236~241.
- [6] Ottow J C G, Klopotch A. *Applied Microbiology*, 1969, 18: 41~43.
- [7] 美国公共卫生协会等编著. 给水污水和工业废水标准检测法. 北京: 科学出版社, 1959, 259.

REDUCTION OF FERRIC IRON BY HETEROTROPHIC MICROBE

Wang Yinshan Cao Zhifang Xiao Huasheng Luo Hongxi*

(Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica)

* Wuhan Institute of Rock & Soil mechanics, Academia Sinica Wuhan 430071)

Abstract The tested heterotrophic microbe can grow in the static liqued medium containing sucrose and ferric iron (Fe^{3+}). These organisms oxidated sucrose to CO_2 , with the reduction of Fe^{3+} to Fe^{2+} . When Fe^{2+} mobilis to the surface of the medium and contacts with O_2 , it can be reduced again. In the course of redox, optimum pH is 7.0, temprature is 25°C . If 0.1% KNO_3 was added in the medium, the rate of Fe^{2+} formation will bogdown or lower.

Key words Heterotrophic microbe, Ferric iron, Reduction