

铁、锰氧化还原细菌研究概况

鲍志戎 于湘晖 李 惟

(吉林大学分子生物学系, 长春 130023)

杨 宏 张 杰

(中国市政工程东北设计院, 长春 130021)

组成地壳的各种元素的化合态和分布地域都在不断变化之中, 通常, 把这种变化称为元素循环。元素循环与生命过程密切相关。生命活动不仅促进了碳、氢、氧、氮等常量元素的循环, 也促进了许多金属元素的循环。本文介绍细菌如何推动两种金属元素——铁、锰的循环。

细菌促进铁、锰循环的主要手段是氧化和还原, 即推动铁在二价和三价之间, 锰在二价和三价或四价之间的变化^[1, 2]。从一般的化学知识可知, 这也是推动铁、锰在可溶和不可溶两种状态之间的变化。由于铁、锰既是地壳中的常见元素, 又是生命的必需元素, 细菌和铁、锰的相互作用就成为地球化学、微生物学和生物化学的重要研究领域。细菌促进铁、锰循环有两种方式, 一种是直接方式, 即产生酶或其它专一性因子来催化相关反应; 另一种是间接方式, 即分泌有反应活性的小分子代谢物与铁、锰反应, 或通过改变环境的 pH 等来促进相关反应。本文在笼统地谈及细菌对铁、锰循环的推动作用时, 将使用“介导”这个词, 而谈及直接方式时, 将使用“催化”这个词。

人们对能够介导铁、锰氧化还原的细菌兴趣日增, 主要有两方面的原因。其一, 这类细菌对环境保护, 特别是对污水处理和城市饮水净化起着重要作用; 其二, 这类细菌对于形成含有微量元素的铁、锰沉积物, 对于从水中采集、回收贵重的或有毒的金属, 也有着重要意义。

本文介绍铁、锰在自然界中的氧化、还原, 相关的微生物分类、生理和酶学、蛋白质研究, 以及有关的应用概况。

1 铁、锰的氧化和还原

铁、锰在自然界中既能发生生物学(细菌介导的)氧化、还原, 又能发生非生物学(化学的)氧化、还原。如前所述, 生物学氧化还原又可分为直接的和间接的两种方式。

Fe²⁺、Mn²⁺的化学氧化主要是由空气中的氧造成的。该反应与环境或微环境的 pH 有关(图 1)^[5]。需要指出, 在能够发生化学氧化的环境中, 如果酶等生物学因素足够稳定, 则也可以发生生物学氧化, 但实际上不够显著。

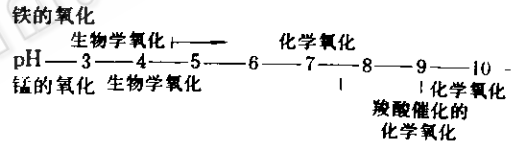


图 1 铁、锰氧化与 pH 的关系

Fe(III)、Mn(III, IV) 能被诸如硫化物(S²⁻)、部分有机酸、硫元素(S)、酚等化合物还原。其生物学还原只有在厌氧条件下才能发生^[1]。

2 铁、锰氧化还原菌的分类学和生理学

能够介导铁、锰氧化和还原的细菌几乎分布在生物圈各个角落。尽管其分布十分广泛, 但许多菌的分离纯化却很困难。有些菌, 比如, *Crenothrix*, *Clonothrix*, *Leptothrix ochracea* 和 *Gallionella*, 往往同时存在而且营养要求极为相似, 以致无法选择培养; 有些菌需要共生菌; 有些菌, 如 *Siderocapsaceae*, 富集较为容易, 但进一步分离很困难, 因为它在人工培养条件下不断变形以致显微镜下难以识别跟踪。因

本工作得到了国家建设部“八五”攻关基金的资助
1994-11-22 收稿

此,有些菌至今也未得到纯培养,对这些菌的研究也就几乎停滞不前。另外一些菌的分离纯化比较容易,例如, *Sphaerotilus natans* 和大多数 *Leptothrix* spp., 可直接把天然来源材料加到平板上即可分离^[2]。对这些菌的研究也就比较深入。

这里需要指出,“具有铁、锰氧化和还原活性的细菌”并不是分类学上的概念。它实际上包括了许多科、属的细菌。由于许多菌得不到纯培养,其分类地位也还不能确定^[7]。

关于铁、锰氧化还原对细菌的生理意义,目前主要有这样几种观点^[1,2,6]。

(1) 有些化能自养菌利用 Fe^{2+} 氧化获得能量和同化 CO_2 所需的还原力,如 *T. ferrooxidans*;

(2) 有些异养菌利用 Mn^{2+} 的氧化获得部分能量,如 *Vibrio* sp. 和 *Oceanospirillum* sp.;

(3) 非 SOP、非过氧化物酶的铁、锰用于清除 $\text{O}_2 \cdot$ 、 H_2O_2 , 如 *M. personatum* 和 *L. plantarum*;

(4) 氧化 Mn^{2+} 以获得备用的电子受体,如 *Bacillus* sp. 和 *S. putrefaciens*;

(5) Fe(III) 、 Mn(III, IV) 作为电子受体以支持无氧呼吸,如 *T. ferrooxidans* 和 *S. putrefaciens*。

3 酶学研究

现已证实,许多细菌中存在能催化铁、锰氧化或还原的酶(或酶系)。主要研究包括:抑制剂实验,细胞悬液或细胞破碎液的动力学实验,光谱学实验,电泳和活性染色等。

对不同的细菌,铁、锰氧化还原的生理意义不同,它们催化铁、锰氧化还原的机制也不相同,所涉及的酶或蛋白因子也就不尽相同。如果氧化还原与能量代谢有关,往往会涉及呼吸电子传递链^[8,9]。这时,活性对呼吸抑制剂敏感。有些菌需要在二氧化锰存在的情况下才能进行 Mn^{2+} 的氧化,也许是因为二氧化锰提供了一个活性表面^[2]。在 *Lactobacillus plantarum* 中,用以清除 $\text{O}_2 \cdot$ 和 H_2O_2 的 Mn^{2+} 是与一种多磷酸化的蛋白结合的,该蛋白可以稳定

Mn(III) 从而提高了清除 $\text{O}_2 \cdot$ 和 H_2O_2 的能力^[10]。

Thiobacillus ferrooxidans 是一种嗜酸性化能自养菌,能催化铁的氧化和还原。它能在低 pH 下催化 Fe^{2+} 氧化以获得能量,还可以利用 Fe^{3+} 作为电子受体。在试图分离其 $\text{Fe}^{2+} : \text{Fe}^{3+}$ 氧化还原酶的过程中,先后分离到许多氧还蛋白,包括一种非血红素铁蛋白,一种含铁、含 RNA 的细胞色素 C 还原酶和一种 Fe^{2+} 氧化酶^[6]。要确定该酶尚需进一步的实验。

Bacillus sp. 的 SG-1 菌株芽孢的外鞘中有一个分子量为 250ku 的复合蛋白能催化 Mn^{2+} 的氧化。它对 HgCl_2 、 NaNO_3 和温度敏感,但进行 SDS-PAGE 后仍保持活性。胰酶处理后活性甚至略有上升^[12]。芽孢复苏时,若 O_2 不足,则会还原已沉积的 MnO_2 或 Mn_3O_4 以作为电子受体。该活性对 HgCl_2 和温度敏感。光谱研究表明,其细胞色素 B 和 C 可被 MnO_2 直接氧化^[13]。

S. putrefaciens 可以利用包括 Fe(III) 、 Mn(IV) 在内的多种电子受体,它有两个不同的 Fe(III) 还原系统:低活性的组成系统和高活性的诱导系统^[14]。组成系统与呼吸性 H^+ 转移有关;诱导系统则与利用 Fe(III) 作为电子受体有关。电子从外膜上的 Fe(III) 还原酶,通过外膜上的细胞色素,传递给细胞膜上的细胞色素^[14]。已经知道, Mn(IV) 还原系统与之不同,但细节尚未报道。

L. discophora 能氧化 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 。SS-1 菌株将活性物质分泌到胞外。有人通过 SDS-PAGE 从 SS-1 培养物中分离出了三种蛋白:分子量为 110ku 的 Mn^{2+} 氧化酶,分子量为 55ku 的 Mn^{2+} 氧化酶和分子量为 150ku 的 Fe^{2+} 氧化酶。两种 Mn^{2+} 氧化酶的关系尚不清楚。这些蛋白对 HgCl_2 、 NaNO_3 、温度敏感,对 SDS 和胰酶不敏感^[6]。有人尝试将 110ku 的 Mn^{2+} 氧化酶和 150ku 的 Fe^{2+} 氧化酶的基因克隆到大肠杆菌 (*E. coli*) 中,但未获得活性表达。该作者认为, Mn^{2+} 氧化酶的基因可能位于一个操纵子当中^[6]。

4 应用

通过生物学氧化可将铁、锰从水中沉淀下来,从而迅速有效地去除水中的铁、锰以达到净化目的。通常,先通过自然或人工途径将有铁、锰氧化活性的细菌固定在砂子表面,填满成过滤柱、罐、池,将水过滤除去铁、锰。

目前,在西欧一些国家已应用这些技术(如法国、丹麦),并形成了一定的规范。但对细菌在其中到底发挥多大作用仍有争论。不过,越来越多的人认为细菌在其中的作用是不可或缺的。

我们在鞍山市赵台水厂进行了生产性试验,对锰砂滤池除锰进行了研究。利用天然锰砂,采用自然接种,在滤池中培养出大量氧化铁、锰的细菌,获得了良好的结果。这一阶段性研究,改变了过去传统的除锰二级过滤的设计思想,同时在过滤的滤速上突破了设计规范规定的除锰滤池滤速为 $5\text{m}/\text{h}$ 的限制,在生产性试验中滤速最高可达 $15\text{m}/\text{h}$ ^[3]。结合机理研究的阶段性成果^[4],我们在实际的工程上已多次采用锰砂一级过滤除锰的设计,如较早的辽河油田欢四水源工程、沈阳石佛寺给水工程、抚顺开发区给水工程,和近期正在施工的伊春市给水工程,梅河口市给水工程。从已投入生产的工程项目来看,只要运转初期满足细菌的生长要求,经一定时间的培养,滤料“成熟”后,除锰效果就能令人满意地达到设计要求。由于新技术的采用,节约了大笔的投资,创造出良化的经济效益和社会效益。

5 展望

目前,对介导铁、锰氧化和还原反应的细菌,以及这些细菌介导相关反应的方式仍然所知甚少。许多介导铁、锰氧化还原的细菌仍未得到纯培养。这是阻碍该领域研究的主要困难之一。因此需要发展新的分离纯化方法。

关于铁、锰氧化还原反应对细菌生长代谢的意义,基本上分为两大类——与能量代谢有关和与解毒有关,仍需进一步研究。

迄今为止,除了证实酶或蛋白质参与铁、锰

氧化还原外,生物化学研究进展不大,仍局限在抑制剂试验和细胞悬液、细胞破碎液的动力学测量上。对纯酶的研究,特别是分子水平的研究尚未展开。这主要是由于两个原因:其一,微生物体内的相关机制过于复杂,涉及的因子过多;其二,按照目前的提纯方法,酶的得率太低,不足以用于进一步的研究。所以,现在把注意力集中在酶和蛋白因子的纯化上,希望能有所突破。另外,基因工程技术也开始得到应用。

铁、锰氧化细菌已用于高铁、高锰水的净化。这种生物滤料比较便宜,效果也好。小型的生物滤柱对于改善广大农村地区的饮水质量有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Neelson K H, Myers C R. *Appl Environ Microbiol*, 1992, **58**: 439~443.
- [2] Ghiorse W C. *Ann Rev Microbiol*, 1984, **38**: 515~550.
- [3] 刘德明,徐爱军,李惟,等. *中国给水排水*, 1990, **6**(4): 42~49.
- [4] 朴真三,李惟,刘德明,等. *吉林大学自然科学学报*, 1991, **3**: 107~110.
- [5] 翁酥颖,戚荷静,史家梁,等编著. *环境微生物学*. 北京: 科学出版社, 1985, 69~81.
- [6] Corstjens P L A M. PhD thesis, Univ. Leiden, the Netherland, 1993.
- [7] Buchanan R E, Gibbons N E. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 8th ed. Paltimore, The Williams and Wilkins. 1974.
- [8] Arcuri E J, Ehrlich H L. *Appl Environ Microbiol*, 1979, **37**: 916~923.
- [9] Myers C R, Neelson K H. *Science*, 1988, **240**: 1319~1321.
- [10] Archibald F S, Fridovich I. *J bacteriol*, 1981, **145**: 442~451.
- [11] Tebo B M, Mandernack K, Rosson R A. *Abstr Annu Meet Am Soc Microbiol*, 1988.
- [12] De Vrind-de Jong E W, De Vrind J P M, Boogerd F C, et al. In: Crick R E (ed.), *Origin, Evolution and Modern Aspects of Biomineralization in Plants and Animals*. 1990, 489~496.
- [13] Arnold R G, Olson T M, Hoffmann M K. *Biotechnol Bioeng*, 1988, **32**: 1081~1096.
- [14] Myers C R, Myers J M. *J Bacteriol*, 1992, **174**: 3429~3438.