

文章编号:2095-0411(2016)06-0086-09

## 铁生物还原过程电子介体电子穿梭效应 与其性质关系研究

刘 亮,杨 彦,李晓芳,张文艺,冯俊生  
(常州大学 环境与安全工程学院,江苏 常州 213164)

**摘要:**铁的生物地球化学循环过程具有特殊的环境效应,铁还原菌在铁循环过程中扮演了十分重要的角色。选取 9 种常见的天然和合成的有机电子介体(包括低分子量的醌类、腐植酸和富里酸)研究了其对 3 种铁还原菌(L17、S12 和 HS01)还原针铁矿( $\alpha$ -FeOOH)的影响。结果表明,在不添加外源性电子介体的条件下,3 种铁还原菌都能够还原针铁矿;而外源性电子介体的加入能加快针铁矿的生物还原;电子介体的电子穿梭效应与其氧化还原电位很具有一定的联系。此外,电子介体的电子穿梭效应与其电子接受容量(electron acceptor capacity, EAC)存在明显的线性关系。

**关键词:**电子介体;铁还原菌;电子接受容量;二价铁

**中图分类号:**X 14

**文献标志码:**A

**doi:**10.3969/j.issn.2095-0411.2016.06.016

## Relationship Between the Properties and the Electron Mediating Effect of Electron Shuttles for the Bioreduction of Goethite

LIU Liang, YANG Yan, LI Xiaofang, ZHANG Wenyi, FENG Junsheng

(School of Environmental and Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China)

**Abstract:** The biogeochemistry of Fe has special environmental effects. Iron-reducing bacteria (IRB) play an important role in the Fe cycling. The effects of 9 electron shuttles (including low-molecular-weight quinones, humic acid and fulvic acid) on the bioreduction of goethite ( $\alpha$ -FeOOH) by three strains of iron-reducing bacteria (*Klebsiella pneumoniae* L17, *Aeromonas hydrophila* HS01 and *Shewanella decolorationis* S12) were investigated. Although all of the iron-reducing bacteria used were able to reduce goethite in the absence of exogenous electron shuttles, the addition of exogenous electron shuttles enhanced the bioreduction of goethite. In general, the rate of Fe(II) production correlated with the concentration, redox potentials and EACs (electron acceptor capacity, EAC) of the electron shuttles. Notably, there was a significant linear relationship between the rate of Fe(II) production and the EAC of electron shuttles.

**Key words:** electron shuttle; iron-reducing bacteria; electron acceptor capacity; ferrous iron

电子介体,如低分子量醌类物质和腐殖质,能影响水生和陆地环境中许多污染物的转化,还影响许

**收稿日期:**2016-05-25。

**基金项目:**国家自然科学基金青年基金(41301330);江苏省自然科学基金(BK20130253);江苏省产学研前瞻性联合研究项目(BY2015027-05)。

**作者简介:**刘亮(1982—),男,湖北黄冈人,博士,讲师,主要从事环境科学与工程教学与科研工作。通讯联系人:杨彦(1984—), E-mail: yy129129@163.com

多氧化还原活性元素的生物地球化学循环<sup>[1-3]</sup>。许多水生和陆地环境中铁的生物地球化学过程主要由微生物驱动<sup>[4]</sup>,特别是在铁含量丰富的土壤和沉积物环境,微生物驱动的铁的氧化还原循环是其碳循环和能量流通的过程重要组成部分<sup>[5-6]</sup>。除了影响碳和铁的氧化还原循环,异化铁还原菌的活动以及它们还原产生的 Fe(II)还在低氧水体和地面系统的许多过程中起主要作用,包括矿物的溶解和沉积过程<sup>[7,8]</sup>,磷酸盐等营养物质的有效性<sup>[9]</sup>,以及有机和无机污染物的归趋和运输<sup>[10]</sup>。

铁还原菌可以利用多种类型的 Fe(III)作为胞外厌氧呼吸的最终电子受体<sup>[11-14]</sup>。Fe(III)氧化物往往是近地表水体和陆地系统 Fe(III)最主要的存在形式,但是它们在近中性 pH 值条件下相对不溶。因此,与能进入细胞内的可溶性电子受体相比,DIRB 利用不溶性 Fe(III)氧化物作为末端电子受体进行厌氧呼吸需要不同的电子传递机制。电子从微生物细胞到难溶性电子受体的传递可以通过如下方式:①通过微生物与矿物表面的直接接触,例如,通过位于革兰氏阴性的地杆菌和希瓦氏菌外膜的还原酶<sup>[15]</sup>或通过细胞外附着物如导电菌毛或“纳米线”<sup>[16-17]</sup>;②通过外源性或内源性的配体增强矿物的溶解性,随后还原溶解出来的 Fe(III)配合物<sup>[18-19]</sup>;③通过内源性或外源性电子传递媒介物来介导电子传递,通常称之为电子介体<sup>[18,20-23]</sup>。该电子介体先被微生物还原,随后从细胞扩散开。一旦遇到合适的电子受体(如 Fe(III)氧化物),电子介体失去电子,转换成氧化态,完成循环。一些电子介体已经被证明可以促进 Fe(III)氧化物的生物还原。许多微生物自身能分泌可溶性电子介体,其中,黑色素<sup>[24]</sup>,吩嗪衍生物<sup>[25]</sup>,核黄素<sup>[20]</sup>和结构尚未表征的醌类<sup>[18]</sup>已被证明可以加强对 Fe(III)氧化物的微生物还原。外源电子介体,如腐殖质和 9,10-蒽醌-2,6-二磺酸(AQDS)一种已被广泛用来作为代表腐殖质中的醌类基团的模型物质,可以增强铁还原菌对 Fe(III)氧化物的还原。

虽然对于电子介体在微生物还原金属氧化物(包括自然体系和工程体系下)的作用有大量研究,但是对不同电子介体在 Fe(III)矿物的生物还原中的相对电子介导能力还没有广泛深入的研究。大部分对电子介体在 Fe(III)的生物还原的作用的研究都使用 AQDS 作为腐殖质的醌类基团的替代物。只有少数研究比较了不同化合物在 Fe(III)的生物

还原中电子介导能力的差别,然而,对于导致这种差别的原因都缺少进一步的定量的解释。例如,Neven 等<sup>[26]</sup>比较了 AQDS、腐殖质、铀(VI)、胱氨酸和零价硫在 Fe(III)的生物还原的电子介导能力;Royer 等<sup>[27]</sup>比较了 AQDS、天然有机物(Natural Organic Matter, NOM)、甲基紫精、亚甲基蓝和苯醌;Hernandez 等<sup>[25]</sup>比较了 AQDS 和吩嗪衍生物;Von Canstein 等<sup>[20]</sup>比较了 AQDS 和核黄素。这四个研究总共至少考察了 14 种不同的电子介体。然而,因为这些研究各自的实验条件有着显著的不同,所以无法比较这些研究中的电子介体的电子介导能力,也无法分析电子介体的电子穿梭效应与哪些因素相关。

因此,本研究选取了 9 种常见的天然和合成的有机电子介体(包括低分子量的醌类、腐植酸和富里酸),研究了其对 3 种铁还原菌(L17、S12、HS01)还原针铁矿( $\alpha$ -FeOOH)的影响。研究的主要目的是比较几个常见的有机电子介体对 Fe(III)的生物还原的影响,并探讨电子介体的电子穿梭效应与其性质的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

本研究所用电子介体的性质见表 1。

#### 1.1.1 菌株来源

本研究所用的铁还原菌有 3 株:肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*) L17、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*) HS01 以及脱色希瓦氏菌(*Shewanella decolorationis*) S12,其中前两者从广东省生态环境与土壤研究所李芳柏研究员课题组获得<sup>[29]</sup>,S12 来源于广东省微生物研究所<sup>[30]</sup>。

#### 1.1.2 菌悬液

用牛肉膏蛋白胨固体培养基活化菌株,然后挑取单菌落接种到牛肉膏蛋白胨液体培养基中富集生长,最后离心、洗涤,用已灭菌的去离子水重新悬浮已洗净的菌体。

### 1.2 检测项目与方法

#### 1.2.1 Fe(II)的测定

采用邻菲罗啉-分光光度计法<sup>[5]</sup>测定 Fe(II)浓度,测试波长为 510nm<sup>[31]</sup>。

表 1 作为电子介体的醌类物质性质列表

Table 1 Characteristic data of the quinones used as electron shuttles

简称	醌类物质	结构式	分子式	$E_0/\text{mV}^{1)}$	参考文献
AQDS:	9,10-anthraquinone-2,6-disulfonic acid9,10-蒽醌-2,6-二磺酸		$\text{C}_{14}\text{H}_8\text{O}_8\text{S}_2$	-184	[28]
AQS:	9,10-anthraquinone-2-disulfonic acid9,10-蒽醌-2-磺酸		$\text{C}_{14}\text{H}_8\text{O}_5\text{S}$	-225	[28]
AQC:	9,10-anthraquinone-2-carboxylic acid9,10-蒽醌-2-羧酸		$\text{C}_{15}\text{H}_8\text{O}_4$	-254	[28]
2-HNQ:	2-hydroxy-1,4-naphthoquinone2-羟基-1,4-萘醌		$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_3$	-137	[28]
5-HNQ:	5-hydroxy-1,4-naphthoquinone5-羟基-1,4-萘醌		$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_3$	-3	[28]
Ali:	1,2-dihydroxy-9,10-Anthraquinone 茜素		$\text{C}_{14}\text{H}_8\text{O}_4$	-344	[28]
Car:	7-α-D-glucopyranosyl-9,10-dihydro-3,5,6,8-tetrahydroxy-1-methyl-9,10-dioxo-2-anthracenecarboxylic acid 胭脂红酸		$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{13}$	-500	[28]

1) 标准氧化还原电位(pH=7,标准氢电极)。

1.2.2 电子接受容量的电化学测定

电子介体的电子接受容量 (electron acceptor capacity, EAC) 是指一定条件下单位量的电子介体充分还原接受电子的物质的量。电子供给容量 (electron donor capacity, EDC) 是指一定条件下单位量的电子介体充分氧化给出电子的摩尔数。采用三电极体系,在 CHI660D 电化学分析仪(上海辰华仪器公司)上测定。

测定电子接受容量前,为使电子介体充分氧化,需将电子介体溶液通入空气 1h,然后平衡 24h<sup>[32]</sup>。测定时先通入氮气 1h 以除掉溶解氧。同样,测定电子供给容量前,为使电子介体充分还原,需在氮气保护下通过恒电位法将电子介体充分还原。

2 结果与讨论

2.1 不同电子介体对铁还原菌还原针铁矿动力学的影

图 1 是不同电子介体对 3 种铁还原菌 L17、S12 和 HS01 还原针铁矿动力学的影响。3 种铁还原菌都能以葡萄糖为电子供体还原 α-FeOOH。经过 30d,L17、S12 和 HS01 还原产生的总 Fe(II)浓度分别为 2.11、4.22mmol/L 和 2.61mmol/L。不添加外源电子介体时,S12 的异化铁还原能力明显强于 L17 和 HS01,这可能是由于 S12 自身能分泌内源性电子介体<sup>[20]</sup>。除 Car 外,其他外源电子介体的加

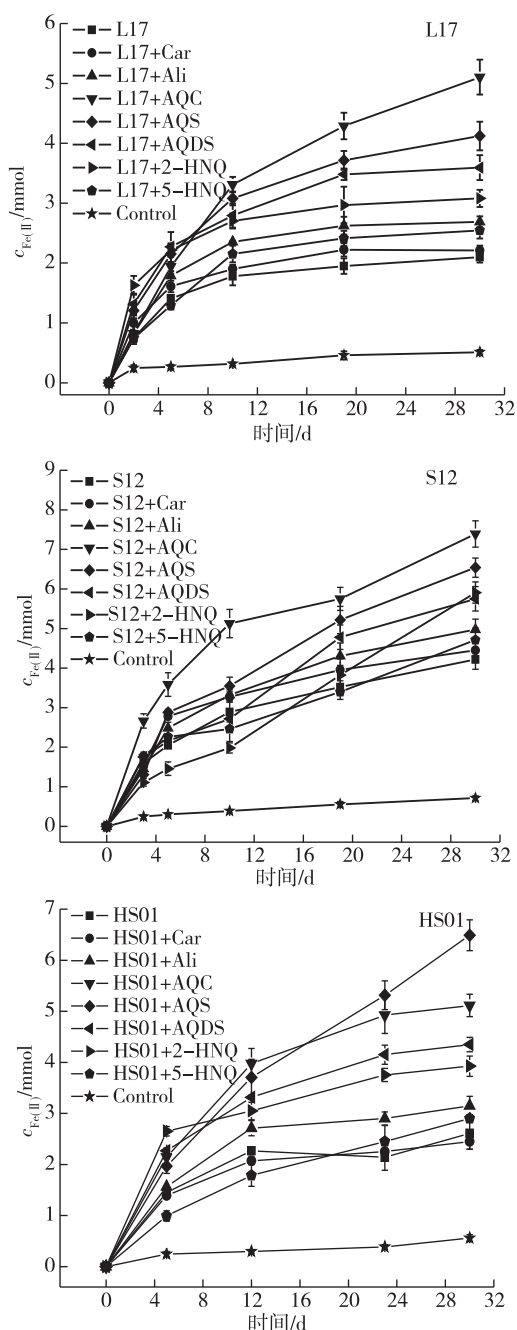


图1 不同电子介体对铁还原菌还原针铁矿动力学的影响

Fig.1 Effects of electron shuttles on goethite reduction by L17, S12 and HS01

入都能明显加速3种铁还原菌对 $\alpha$ -FeOOH的还原作用。电子介体对L17还原 $\alpha$ -FeOOH的促进作用从大到小的顺序为AQDS、AQS、AQDS、2-HNQ、Ali $\approx$ 5-HNQ、Car;电子介体对S12还原 $\alpha$ -FeOOH的促进作用从大到小的顺序为AQDS、AQS、AQDS $\approx$ 2-HNQ、Ali $\approx$ 5-HNQ $\approx$ Car;电子介体对HS01还原 $\alpha$ -FeOOH的促进作用从大到小的顺序为AQS、AQDS、2-HNQ、Ali $\approx$ 5-HNQ、Car。这表明

不同电子介体对不同铁还原菌的电子穿梭效应可能不尽相同。

## 2.2 电子介体浓度对铁还原菌还原针铁矿动力学的的影响

图2是AQDS浓度对3种铁还原菌L17、S12和HS01还原针铁矿动力学的影响。由图2可见,AQDS浓度对3种铁还原菌还原 $\alpha$ -FeOOH均有显著影响。当AQDS浓度在1~500 $\mu$ mol/L时,铁还原速率随AQDS浓度增大而提高。而当AQDS浓

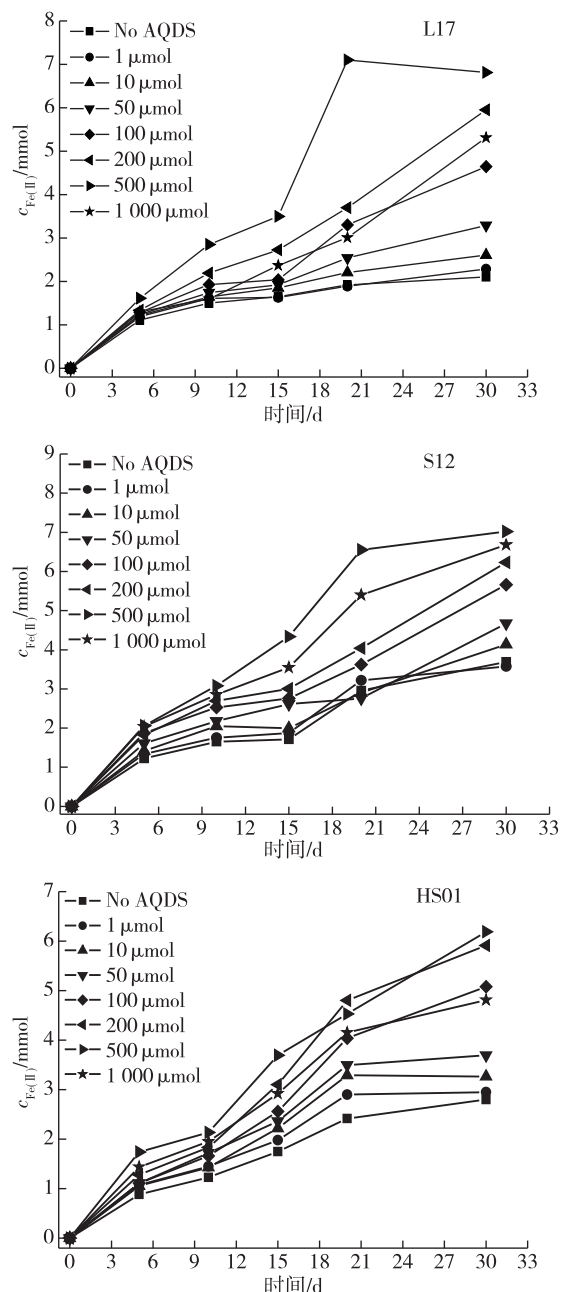


图2 不同AQDS浓度对铁还原菌还原针铁矿动力学的影响

Fig.2 Effect of various concentrations of AQDS on the kinetics of goethite reduction by L17, S12 and HS01

度增大到  $1\ 000\ \mu\text{mol/L}$ , 铁还原速率反而下降。由此可见, 电子介体是影响胞外电子传递的重要因素, 在一定浓度范围内, 电子介体浓度越高, 胞外电子传递速率越高。

图 3 是相对铁还原速率与 AQDS 浓度对数的关系。相对铁还原速率为添加电子介体时的平均铁还原速率与不添加电子介体时的平均铁还原速率的比值。由图 3 可知, 当 AQDS 浓度在  $1 \sim 500$

$\mu\text{mol/L}$  时, 3 种铁还原菌的铁还原速率均随 AQDS 浓度增大而提高。

而当 AQDS 浓度增大到  $1\ 000\ \mu\text{mol/L}$ , 铁还原速率出现不同程度的下降。

这可能是由于 AQDS 浓度过大对微生物活性产生一定的抑制作用; 也可能是由于 AQDS 浓度过大, 使得一部分 AQDS 充当了最终电子受体而非电子介体, 从而导致铁还原速率下降。Wolf 等<sup>[28]</sup>发现在 *Geobacter metallireducens* 还原水铁矿的体系下, 相对铁还原速率与电子介体浓度的对数存在线性关系。这是由于地杆菌不能分泌内源性电子介体<sup>[18]</sup>, 而只能靠与胞外电子受体直接接触的方式传递电子<sup>[33]</sup>。而已经确认 S12 是能够自身分泌较大量的内源性电子介体的<sup>[20,34]</sup>, 所以 S12 还原针铁矿不存在相对铁还原速率与电子介体浓度的对数线性关系。Deng 等<sup>[35]</sup>报道了 L17 能分泌很少量的内源性电子介体, 而 HS01 尚未见类似报道。因为 HS01 还原针铁矿也不存在相对铁还原速率与电子介体浓度的对数线性关系, 因此本实验结果说明 HS01 可能也能够分泌内源性电子介体。

### 2.3 电子介体的电子穿梭效应与其氧化还原电位的关系

图 4 是添加不同电子介体时 3 种铁还原菌还原  $\alpha\text{-FeOOH}$  的相对铁还原速率与电子介体氧化还原电位 (相对于标准氢电极,  $\text{pH}=7$  条件下) 的关系。由图 4 可见, 对于 L17 电子穿梭效应最强的电子介体的氧化还原电位落在  $-184 \sim -254\text{mV}$  (相对于标准氢电极,  $\text{pH}=7$  条件下) 这个狭窄的区间; 而对于 S12 和 HS01 电子穿梭能力最强的电子介体的氧化还原电位落在  $-137 \sim -254\text{mV}$  (相对于标准氢电极,  $\text{pH}=7$  条件下) 这个狭窄的区间。Wolf 等<sup>[28]</sup>发现在 *Geobacter metallireducens* 还原水铁矿的体系下, 电子穿梭能力最强的电子介体的氧化还原电位落在  $-137 \sim -225\text{mV}$  (相对于标准氢电极,  $\text{pH}$  为 7 条件下) 这个区间。本实验得到与之类似的结果——即存在一个较小的电位区间, 氧化还原电位在这个区间内的电子介体, 其电子穿梭能力最强。

虽然对于不同的铁还原菌, 这个氧化还原电位区间可能不同, 但是每一种铁还原菌似乎都存在着这样一个“电位区间”。这个现象可能与胞外呼吸电子传递过程中细胞外膜上的电子传递蛋白——细胞色素 c 的氧化还原电位有关。

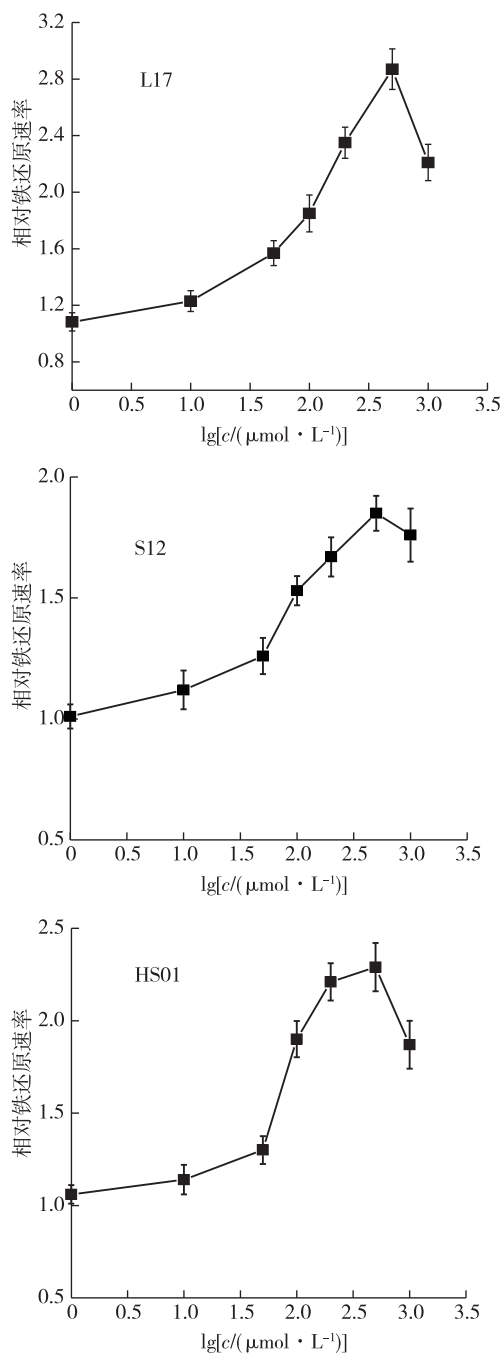


图 3 相对铁还原速率与 AQDS 浓度对数的关系

Fig.3 Normalized reaction rates of iron reduction vs. logarithm of the AQDS concentration



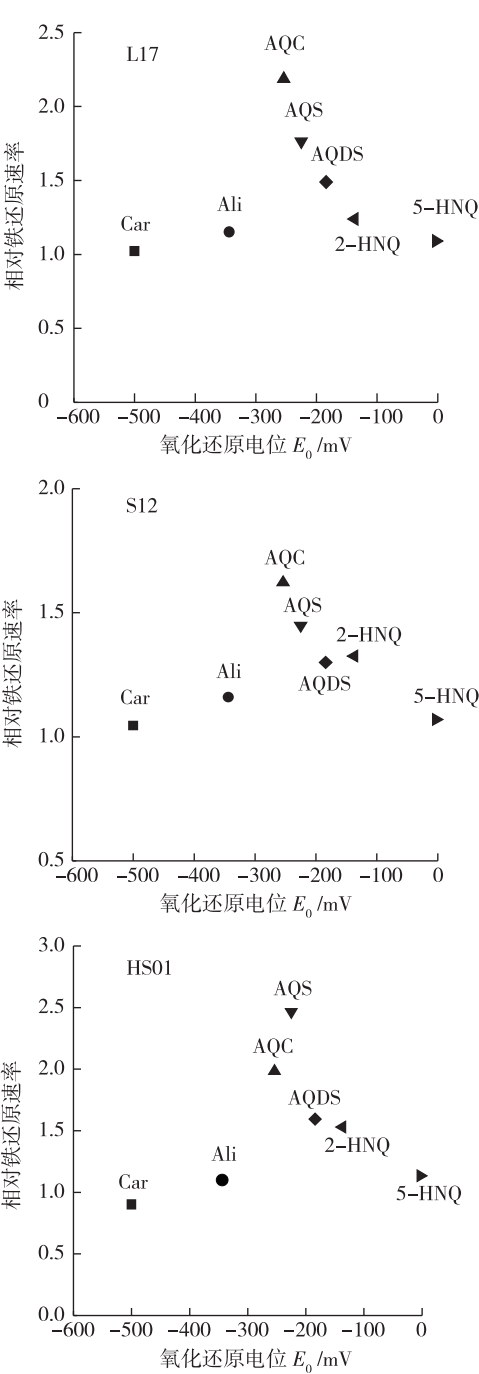


图 4 相对铁还原速率与电子介体氧化还原电位的关系  
Fig.4 Normalized reaction rates of goethite reduction vs. redox potentials of various electron shuttles

2.4 电子介体的电子穿梭效应与其电子接受容量的相关性分析

2.4.1 电子接受容量与电子供给容量

以前测定电子接受容量的方法是使用 H<sub>2</sub>S 或者 Zn<sup>0</sup> 作还原剂去还原所测定的电子介体,然后通

过测定它们的氧化产物 S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> 和 Zn<sup>2+</sup> 的量来确定 EAC<sup>[36-37]</sup>。还有一些研究用预还原的电子介体的 EDC 与没有预先还原的电子介体的 EDC 之差作为电子介体的 EAC。电子介体的预还原可以通过生物方法、化学方法和电化学方法<sup>[38-40]</sup>。EDC 则通过加入的 Fe<sup>3+</sup> 配合物(通常为柠檬酸铁或铁氰化钾)后,电子介体还原出的 Fe<sup>2+</sup> 的量来确定。这种传统的方法测定的误差较大,有时得出很难理解的结论:EDC 远大于 EAC<sup>[36]</sup>。采用的电化学直接测定法能进行较准确的测定 EAC 和 EDC<sup>[32]</sup>,结果见表 2。

表 2 电子介体的 EAC 和 EDC 值		
Table 2 The EAC and EDC values of electron shuttles		
电子介体	C <sub>EA</sub> / (μmol e <sup>-</sup> / (g · C))	C <sub>ED</sub> / (μmol e <sup>-</sup> / g · C)
Car	72	47
Ali	312	255
AQC	2 710	2 612
AQS	2 261	2 151
AQDS	1 481	1 389
2-HNQ	1 370	1 180
5-HNQ	1 348	1 102
FA	390	182
HA	680	450

由表 2 可知,电子介体的 EAC 越大,EDC 也越大,而且电子介体氧化还原可逆性越好(电子介体氧化还原可逆性可以通过其 CV 判断,数据未列出),其 C<sub>EA</sub> 与 C<sub>ED</sub> 大小越接近。如果 C<sub>EA</sub> = C<sub>ED</sub>,说明此电子介体的电子传递时完全可逆的<sup>[36]</sup>。因此本研究只采用 C<sub>EA</sub> 值作为电子介体的一种固有性质来研究其电子穿梭效应与性质的关系。

2.4.2 电子介体的电子穿梭效应与其电子接受容量的关系

图 5 是添加不同电子介体时 3 种铁还原菌还原 α-FeOOH 的相对铁还原速率与电子介体电子接受容量的关系。由图 5 可见,3 种铁还原菌的相对铁还原速率与电子介体的电子接受容量之间均存在明显的线性相关关系,即介体的电子接受容量越大,其电子穿梭效应越强,从而铁还原速率也越大。值得注意的是,3 种铁还原菌条件下,5-HNQ 都明显偏离线性回归方程。而与其同分异构体 2-HNQ 相比,5-HNQ 的 EAC 与 2-HNQ 的 EAC 值相当。可见与 2-HNQ 相比,5-HNQ 对铁还原存在一定的相对抑制作用。这种抑制作用可能是由于 5-HNQ 具有抗生素特性<sup>[41]</sup>。如果去掉 5-HNQ 这个特殊点,

相对铁还原速率与电子介体的电子接受容量之间的线性相关性更好。去掉 5-HNQ 这个特殊点后,对

L17、S12 和 HS01 的相关系数  $R^2$  分别从 0.822、0.771、0.773 增加到 0.910、0.946、0.845。

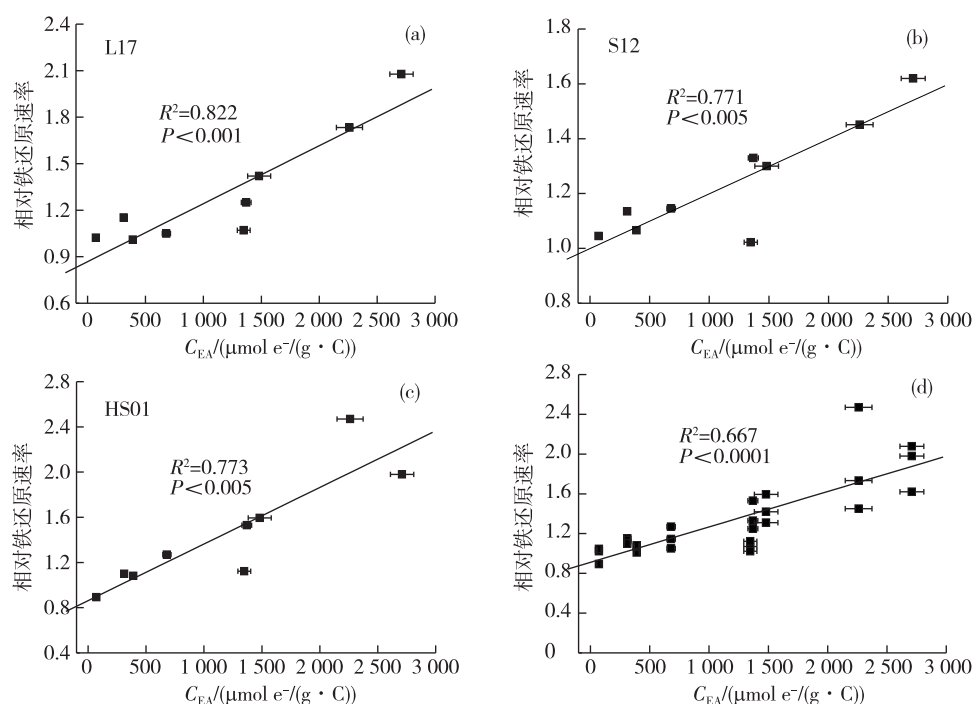


图 5 相对铁还原速率与电子介体电子接受容量  $C_{EA}$  的关系

Fig.5 Normalized reaction rates of goethite reduction vs. EAC of various electron shuttles

图 5(d) 是不考虑铁还原菌种类的情况下,相对铁还原速率与电子介体电子接受容量的关系。由图 5(d) 可见,此时二者的线性相关关系依然存在。这表明,电子介体的电子穿梭效应与其电子接受容量之间的线性正相关规律可能是适用于所有铁还原菌体系的普遍规律。

为解释以上实验结果,提出如下电子传递模型:

电子介体在溶液中做布朗运动,铁还原速率与电子介体与铁氧化物形成“偶遇对”的速率有关。对于活化能不大的反应,则此反应速率将受扩散控制<sup>[42]</sup>。具体步骤如下:①氧化态电子介体( $ES_{ox}$ )从细菌外膜得到电子,形成还原态电子介体( $ES_{red}$ );② $ES_{red}$ 扩散到铁氧化物表面;③ $ES_{red}$ 与铁氧化物表面的  $Fe(III)$  反应,将  $Fe(III)$  还原为  $Fe(II)$ ,自身变为  $ES_{ox}$ 。其中,步骤②所需时间远大于①和③,为控速步骤。

这个模型可以较好的解释本实验的结果。不同的电子介体反应速率可能不尽相同,因此反应时间可能不同。但是由于反应温度、介体浓度相同且电子介体均为醌类物质(分子极性差别不大),因此其扩散速率基本相同,所以步骤②各种介体所需时间相同。而步骤②为控速步骤,因此不同电子介体介

导铁还原菌和铁氧化物之间电子传递的整个过程,平均速率是相同的。所以不同电子介体在铁氧化物的生物还原电子介导能力由其电子传递容量决定,且与电子传递容量成正比。这就很好的解释了为什么本实验中相对铁还原速率与电子接受容量之间存在线性相关关系。

### 3 结 论

1) 厌氧环境下,L17、S12 和 HS01 都具有一定的  $Fe(III)$  还原能力。醌类电子介体的添加能促进细菌对  $Fe(III)$  的还原。 $Fe(III)$  还原动力学与外源电子介体种类和浓度相关。氧化还原电位位于 -137 到 -254mV (相对于标准氢电极,pH 为 7 条件下) 这个区间的电子介体,电子穿梭效应最强。

2) 通过恒电位法测定了 9 种电子介体的电子接受容量和电子供给容量。发现电子介体  $C_{EA}$  与  $C_{ED}$  有一定联系,即  $C_{EA}$  越大, $C_{ED}$  也越大。而且氧化还原可逆性越好的电子介体,其  $C_{EA}$  与  $C_{ED}$  越接近。理想的电子介体其  $C_{EA}$  与  $C_{ED}$  相等。

3) 电子介体的电子穿梭效应与其电子接受容量之间存在明显的线性相关。电子介体的电子穿梭效应与其氧化还原电位之间的关系是定性的,而电

子介体的电子穿梭效应与其电子接受容量之间的关系是定量的。本研究有助于加深对电子介体电子穿梭效应与其性质之间关系的理解,对于寻找用于工程体系的高性能电子介体有一定的参考价值。

### 参考文献:

- [1]唐家恒,周顺桂,袁勇,等.天然生物地球电池效应、形成机制及生态学意义[J].生态学报,2015,35(10):3180-3189.
- [2]吴云当,李芳柏,刘同旭.土壤微生物-腐殖质-矿物间的胞外电子传递机制研究进展[J].土壤学报,2016,53(2):277-291.
- [3]秦薇,梁玉婷,刘勇俊,等.石油污染土壤中降解菌的分离鉴定及降解基因筛选[J].常州大学学报(自然科学版),2012,24(4):1-7.
- [4]冯胜,李定龙,高光.淡水湖泊沉积物微生物多样性研究方法进展[J].常州大学学报(自然科学版),2010,22(2):66-72.
- [5]RODEN E E, WETZEL R G. Organic carbon oxidation and methane production by microbial  $\text{Fe}(\text{III})$  oxide reduction in vegetated and unvegetated freshwater wetland sediments[J]. Limnol Oceanogr, 1996, 41: 1733-1748.
- [6]THAMDRUP B. Bacterial manganese and iron reduction in aquatic sediments[J]. Adv Microb Ecol, 2000, 16: 41-84.
- [7]DONG H, FREDRICKSON J K, KENNEDY D W, et al. Mineral transformation associated with the microbial reduction of magnetite[J]. Chem Geol, 2000, 169: 299-318.
- [8]HANSEL C M, BENNER S G, NEISS J, et al. Secondary mineralization pathways induced by dissimilatory iron reduction of ferrihydrite under advective flow[J]. Geochim Cosmochim Acta, 2003, 67: 2977-2992.
- [9]CHACON N, SILVER W L, DUBINSKY E A, et al. Iron reduction and soil phosphorous solubilization in humid tropical forests soils: the roles of labile carbon pools and an electron shuttle compound[J]. Biogeochemistry, 2006, 78: 67-84.
- [10]LOVLEY D R, ANDERSON R T. Influence of dissimilatory metal reduction on the fate of organic and metal contaminants in the subsurface[J]. Hydrogeol J, 2000, 8: 77-88.
- [11]FREDRICKSON J K, ZACHARA J M, KENNEDY D W, et al. Biogenic iron mineralization accompanying the dissimilatory reduction of hydrous ferric oxide by a groundwater bacterium[J]. Geochim Cosmochim Acta, 1998, 62: 3239-3257.
- [12]LEE S H, LEE I, ROH Y. Biomineralization of a poorly crystalline  $\text{Fe}(\text{III})$  oxide, akaganeite, by an anaerobic  $\text{Fe}(\text{III})$ -reducing bacterium (*Shewanella* sp.) isolated from marine environment[J]. Geosci J, 2003, 7: 217-226.
- [13]ONA-NGUEMA G, ABDELMOULA M, JORAND F, et al. Iron(II, III) hydroxycarbonate green rust formation and stabilization from lepidocrocite bioreduction[J]. Environ Sci Technol, 2002, 36: 16-20.
- [14]RODEN E E. Geochemical and microbiological controls on dissimilatory iron reduction[J]. C R Geosci, 2006, 338: 456-467.
- [15]SHI L, THOMAS C S, ZACHARA J M, et al. Respiration of metal (hydr)oxides by *Shewanella* and *Geobacter*: a key role for muhihaem c-type electrochemical cell[J]. Mol Microbiol, 2007, 65: 12-20.
- [16]GORBY Y A, YANINA S, MCLEAN J S, et al. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 11358-11363.
- [17]REGUERA G, MCCARTHY K D, MEHTA T, et al. Extracellular electron transfer via microbial nanowires[J]. Nature, 2005, 435: 1098-1101.
- [18]NEVIN K P, LOVLEY D R. Mechanisms for accessing insoluble  $\text{Fe}(\text{III})$  oxide during dissimilatory  $\text{Fe}(\text{III})$  reduction by *Geothrix fermentans*[J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68: 2294-2299.
- [19]TAILLEFERT M, BECKLER J S, CAREY E, et al. *Shewanella putrefaciens* produces an  $\text{Fe}(\text{III})$ -solubilizing organic ligand during anaerobic respiration on insoluble  $\text{Fe}(\text{III})$  oxides[J]. J Inorg Biochem, 2007, 101: 1760-1767.
- [20]VON CANSTEIN H, OGAWA J, SHIMIZU S, et al. Secretion of flavins by *Shewanella* species and their role in extracellular electron transfer. Appl Environ Microbiol[J]. 2008, 74: 615-623.
- [21]NEWMAN D K, KOLTER R. A role for excreted quinones in extracellular electron transfer[J]. Nature, 2000, 405: 94-97.
- [22]LOVLEY D R, COATES J D, BLUNT-HARRIS E L, et al. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration[J]. Nature, 1996, 382: 445-448.
- [23]KAPPLER A, BENZ M, SCHINK B, et al. Electron shuttling via humic acids in microbial iron(III) reduction in a freshwater sediment[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2004, 47: 85-92.
- [24]TURICK C E, TISA L S, CACCAVO F. Melanin pro-



- duction and use as a soluble electron shuttle for Fe(Ⅲ) oxide reduction and as a terminal electron acceptor by *Shewanella algae* BrY[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68:2436-2444.
- [25]HERNANDEZ M E, KAPPLER A, NEWMAN D K. Phenazines and other redox-active antibiotics promote microbial mineral reduction[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 921-928.
- [26]Nevin K P, Lovley D R. Potential for nonenzymatic reduction of Fe(Ⅲ) via electron shuttling in subsurface sediments[J]. *Environ Sci Technol*, 2000, 34: 2472-2478.
- [27]ROYER R A, BURGOS W D, FISHER A S, et al. Enhancement of biological reduction of hematite by electron shuttling and Fe(II) complexation[J]. *Environ Sci Technol*, 2002, 36: 1939-1946.
- [28]WOLF M, KAPPLER A, JIANG J, et al. Effects of humic substances and quinones at low concentrations on ferrihydrite reduction by *Geobacter metallireducens* [J]. *Environ Sci Technol*, 2009, 43: 5679-5685.
- [29]LI X M, ZHOU S G, LI F B, et al. Fe(Ⅲ) oxide reduction and carbon tetrachloride dechlorination by a newly isolated *Klebsiella pneumoniae* strain L17 [J]. *J Appl Microbiol*, 2009, 106: 130-139.
- [30]XU M Y, GUO J, SUN G P. Biodegradation of textile azo dye by *Shewanella decolorationis* S12 under microaerophilic conditions[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 76: 719-726.
- [31]MCCORMICK M L, ADRIAENS P. Carbon tetrachloride transformation on the surface of nanoscale biogenic magnetite particles[J]. *Environ Sci Technol*, 2004, 38: 1045-1053.
- [32]AESCHBACHER M, SANDER M, SCHWARZENBACH R P. Novel Electrochemical approach to assess the redox properties of humic substances[J]. *Environ Sci Technol*, 2010, 44:87-93.
- [33]BOND D R, LOVLEY D R. Reduction of Fe(Ⅲ) oxide by methanogens in the presence and absence of extracellular quinines[J]. *Environ Microbiol*, 2002, 4: 115-124.
- [34]MARSILI E, BARON D B, SHIKHARE I D, et al. *Shewanella* secretes flavins that mediate extracellular electron transfer [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2008, 105: 3968-3973.
- [35]DENG L F, LI F B, ZHOU S G, et al. A study of electron-shuttle mechanism in *Klebsiella pneumoniae* based-microbial fuel cells [J]. *Chinese Sci Bull*, 2010, 55: 99-104.
- [36]BLODAU C, BAUER M, REGENSPURG S, et al. Electron accepting capacity of dissolved organic matter as determined by reaction with metallic zinc [J]. *Chem Geol*, 2009, 260, 186-195.
- [37]HEITMANN T, BLODAU C. Oxidation and incorporation of hydrogen sulfide by dissolved organic matter[J]. *Chem Geol*, 2006, 235: 12-20.
- [38]SCOTT D T, MCKNIGHT D M, BLUNT-HARRIS E L, et al. Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics-reducing microorganisms [J]. *Environ Sci Technol*, 1998, 32: 2984-2989.
- [39]RATASUK N, NANNY M A. Characterization and quantification of reversible redox sites in humic substances [J]. *Environ Technol Sci*, 2007, 41: 7844-7850.
- [40]BAUER M, HEITMANN T, MACALADY D L, et al. Electron transfer capacities and reaction kinetics of peat dissolved organic matter[J]. *Environ Sci Technol*, 2007, 41: 139-145.
- [41]LOWN, J W. The mechanism of action of quinone antibiotics[J]. *Mol Cell Biochem*, 1983, 55: 17-40.
- [42]傅献彩, 沈文霞, 姚天扬. 5 版. 物理化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.

(责任编辑:李艳)