

Shewanella oneidensis MR-1异化铁还原诱导次生矿物固定镉

童昆, 徐成, 吴峥, 司友斌

引用本文:

童昆, 徐成, 吴峥, 等. *Shewanella oneidensis* MR-1异化铁还原诱导次生矿物固定镉[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(10): 2114–2123.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0496>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

铁还原条件下铁负载生物质炭固定三价砷的能力及其稳定性

朱晓东, 杨敏, 吴松, 施维林, 周东美

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2735–2742 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0548>

两种典型炭材料对微生物还原含砷水铁矿的影响及其机制研究

吴松, 袁贝嘉, 闫慧珺, 方国东, 张俊, 王玉军, 周东美

农业环境科学学报. 2018, 37(7): 1370–1376 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0433>

氧化老化过程对生物炭吸附镉的影响及机制

何玉垒, 宋宁宁, 林大松, 孙约兵, 王芳丽

农业环境科学学报. 2021, 40(9): 1877–1887 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0310>

施用玉米秸秆生物炭对镉生物有效性及其胁迫下生菜生长的影响

李明, 王磊, 范婷婷, 石佳奇, 高尚, 季韬, 万金忠, 龙涛, 袁旭音

农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1236–1243 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1285>

耐镉促生根瘤菌的鉴定及其对镉的吸附特性

池耀威, 王晓雅, 初少华, 周培, 张丹

农业环境科学学报. 2021, 40(4): 791–800 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0975>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

童昆, 徐成, 吴峥, 等. *Shewanella oneidensis* MR-1 异化铁还原诱导次生矿物固定镉[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(10): 2114–2123.

TONG K, XU C, WU Z, et al. Immobilization of cadmium on secondary minerals induced by *Shewanella oneidensis* MR-1 through dissimilar iron reduction[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(10): 2114–2123.



开放科学 OSID

Shewanella oneidensis MR-1 异化铁还原诱导次生矿物固定镉

童昆, 徐成, 吴峥, 司友斌*

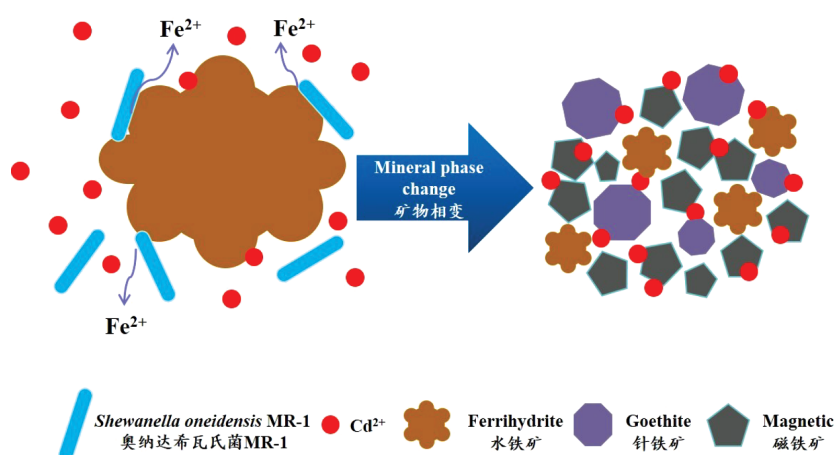
(农田生态保育与污染防控安徽省重点实验室, 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036)

摘要: 实验室纯培养条件下, 研究菌株 *Shewanella oneidensis* MR-1 还原铁矿物诱导次生矿物对 Cd^{2+} 的固定, 探讨 pH、富里酸、生物炭对微生物还原水铁矿及其 Cd^{2+} 固定的影响, 并通过 X 射线衍射(XRD)、X 射线光电子能谱(XPS)对次生矿物进行表征。结果表明: *S. oneidensis* MR-1 异化铁还原诱导次生铁矿固定 Cd^{2+} 的效果显著高于铁矿物自身的吸附, 288 h 未接种 *S. oneidensis* MR-1 和接种 *S. oneidensis* MR-1 的水铁矿溶液中 Cd^{2+} 的浓度分别为 $2.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $0.86 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 酸性条件($\text{pH} \geq 5.0$)及添加富里酸可促进铁矿物还原溶解和次生矿物转化,

进而增强 Cd^{2+} 的固定; 添加生物炭提供了微生物定殖场所, 虽减缓铁矿物还原的 Fe^{2+} 溶出, 但显著提高 Cd^{2+} 的固定效果。铁氧化物矿物作为电子受体被微生物还原产生次生铁矿, 其晶型结构改变与高表面积提供了更多的吸附点位, 增强了 Cd^{2+} 的固定。研究表明, 次生铁矿物形成过程影响重金属的迁移转化及归宿, *S. oneidensis* MR-1 还原铁矿物诱导产生次生铁矿物可以有效固定 Cd^{2+} 。

关键词: *Shewanella oneidensis* MR-1; 异化铁还原; 次生矿物; 镉; 固化稳定化

中图分类号: X172 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2021)10-2114-10 doi:10.11654/jaes.2021-0496



Immobilization of cadmium on secondary minerals induced by *Shewanella oneidensis* MR-1 through dissimilar iron reduction

TONG Kun, XU Cheng, WU Zheng, SI Youbin*

(Anhui Province Key Laboratory of Farmland Ecological Conservation and Pollution Prevention, School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

收稿日期: 2021-04-25 录用日期: 2021-06-21

作者简介: 童昆(1997—), 男, 贵州毕节人, 硕士研究生, 从事环境生物技术研究。E-mail: 928037439@qq.com

*通信作者: 司友斌 E-mail: youbinsi@ahau.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1805203); 国家自然科学基金项目(42077123); 安徽高校协同创新项目(GXXT-2021-061)

Project supported: The National Key Research and Development Program of China(2019YFC1805203); The National Natural Science Foundation of China(42077123); The University Synergy Innovation Program of Anhui Province(GXXT-2021-061)

Abstract: We studied the immobilization effect of cadmium on secondary minerals, which was induced by the iron reduction with *Shewanella oneidensis* MR-1 under pure-culture laboratory conditions. Further, we investigated the effects of pH, fulvic acid, and biochar on the bioreduction of ferrihydrite and the immobilization of Cd^{2+} . Meanwhile, secondary minerals were characterized using X-ray diffraction (XRD) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) analysis. Our results showed that the immobilization of cadmium on secondary minerals induced by *S. oneidensis* MR-1 was stronger than the adsorption of iron minerals itself, the concentrations of Cd^{2+} in the solution without *S. oneidensis* MR-1 and inoculate *S. oneidensis* MR-1 at 288 h were $2.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.86 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. Acidic conditions ($\text{pH} \geq 5.0$) and the addition of fulvic acid promoted the reduction dissolution of iron minerals and the transformation of secondary minerals, thus enhancing the immobilization of cadmium. The addition of biochar provided a site for microbial colonization, which slowed the dissolution of Fe^{2+} that was reduced by iron minerals; however, it significantly improved the immobilization effect of Cd^{2+} . Iron-oxide minerals act as electron acceptors and are reduced by microorganisms to produce secondary iron minerals, which provide more adsorption sites to immobilize Cd^{2+} by changing their crystalline form and providing a higher surface area. These results show that, the secondary iron mineralization directly influences the fate of heavy metals. Cd^{2+} is effectively immobilized on secondary iron minerals induced by the iron reduction with *Shewanella oneidensis* MR-1.

Keywords: *Shewanella oneidensis* MR-1; dissimilatory iron reduction; secondary mineral; cadmium; immobilization

重金属镉(Cd)是环境中常见的污染元素,其可通过植物富集后最终在人体内积累,从而造成人体骨质疏松、脊椎变形等疾病,日本的“痛痛病”事件,就是由于土壤Cd污染造成稻米中重金属大量累积,从而危害人体健康^[1-2]。传统的土壤重金属污染修复方法,通常成本昂贵,操作也较为复杂,对大面积低浓度重金属污染的适用性较低,而且大多化学药剂的使用会对土壤造成二次污染。随着微生物学、地球化学、环境科学等学科的交叉研究及不断发展,微生物诱导的矿化技术被逐步应用^[3-6],与传统修复方法相比其具有更高的环境友好性与更好的修复效果。

微生物还原铁矿物是诱导次生矿物的主要驱动力,重金属在沉积物和地下水系统中的迁移受到铁氧化物的影响^[7]。铁还原菌广泛存在于自然环境中,微生物异化铁还原过程指铁还原菌利用各类有机物为电子供体,以胞外 Fe^{3+} 为电子受体进行微生物代谢活动,将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} 的过程。这一过程会加速铁的晶型结构转变形成次生铁矿,如磁铁矿能被 *Shewanella putrefaciens* 介导产生绿锈^[8];水铁矿会被 *Shewanella putrefaciens* CN32 生物矿化转化为针铁矿、磁铁矿及少量绿锈^[9]; *Shewanella oneidensis* MR-1 在含磷酸盐条件下能将铁氧化物转化为蓝铁矿^[10],生物转化产生的次生铁矿与非生物转化来源的铁矿相比,具有更高的比表面积,重金属固定化及其他污染物原位控制效果也更好^[11-13]。因此通过添加含 Fe^{3+} 电子受体的铁矿物刺激铁还原菌的生长活性,促使铁矿晶体结构改变的同时稳定结合重金属,建立一种生物、物理化学技术相互穿插的耦合技术,对有效降低土壤重金属污染,提高污染场地生态恢复能力有重要意义。

尽管对异化铁还原过程已有较多研究,但铁还原微生物对铁矿物结构转化及其产生的次生铁矿对重金属的固定效果、矿化产物的特征及各类影响因素尚未完全揭示。基于此,本研究采用典型铁还原菌 *S. oneidensis* MR-1 为供试菌株,研究异化铁还原诱导次生矿物对 Cd^{2+} 的固定化效果,考察不同影响因素(pH、富里酸、生物炭)对反应体系中铁矿结构转化及对重金属滞-固特性的影响,从而更好地实现 Cd^{2+} 的增强固定,为重金属污染修复提供新的理论和现实依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

药品:氯化镉(CdCl_2)纯度99%,购自阿拉丁试剂(上海)有限公司;富里酸(Fulvic acid, FA)纯度95%,购自上海麦克林生化科技有限公司。

水铁矿: $\text{Fe}(\text{OH})_3$, 40 g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 溶于500 mL去离子水中,加入330 mL $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的KOH,最后20 mL逐滴加入,调节pH为7~8,然后快速搅拌,迅速离心,洗涤除去其电解质,在常温下晾干备用。

赤铁矿: Fe_2O_3 ,采集于河北某铁矿区,纯度60%~70%。

生物炭:木炭,购自上海海诺炭业有限公司,粒径 $<0.7 \text{ mm}$,孔径 $15 \sim 30 \mu\text{m}$ 。

试验菌种:奥纳达希瓦氏菌MR-1(*Shewanella oneidensis* MR-1),由中国海洋微生物菌种保存管理中心提供。

菌悬液制备:将 *S. oneidensis* MR-1 接种至LB培养基(牛肉膏 $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、蛋白胨 $10.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NaCl $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), 30°C 、 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 培养24 h,离心收集菌体,菌体

用生理盐水重悬得到菌悬液,菌体浓度为 10^8 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$,备用。

生物炭负载菌剂:将 *S. oneidensis* MR-1 接种至 LB 培养基(牛肉膏 5.0 g $\cdot$ L $^{-1}$ 、蛋白胨 10.0 g $\cdot$ L $^{-1}$ 、NaCl 5.0 g $\cdot$ L $^{-1}$),在 30 $^{\circ}$ C、150 r $\cdot$ min $^{-1}$ 条件下将菌体浓度培养至 10^8 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$,按 1:3 的比例(m/V , g/mL)投入灭菌后的生物炭,培养 8 h 后离心,得到生物炭负载菌剂。

1.2 试验方法

试验均在 250 mL 顶空瓶中进行,200 mL LB 培养基 121 $^{\circ}$ C 灭菌 20 min,试验接菌量为 2 mL,体系中初始菌体浓度为 10^6 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$,充 N $_2$ 后用丁基硅胶盖封口,以保证厌氧环境不受外界干扰,30 $^{\circ}$ C、150 r $\cdot$ min $^{-1}$ 恒温振荡培养。取样时摇匀样品,用无菌注射器取出部分样品,测定 Fe $^{2+}$ 与 Cd $^{2+}$ 浓度。

以培养液在 600 nm 处的吸收值(OD $_{600}$)表示 *S. oneidensis* MR-1 在不同 Cd $^{2+}$ 浓度下的生长特征,并转化为细胞数,调节 Cd $^{2+}$ 浓度为 0、1、3、5、10、20 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 。设置初始 Cd $^{2+}$ 浓度为 5 mg $\cdot$ L $^{-1}$,铁矿添加量 2 g,采用水铁矿与赤铁矿进行微生物转化 Cd $^{2+}$ 稳定化试验,试验材料均在 121 $^{\circ}$ C 灭菌 20 min,同时设置纯铁矿吸附为对照。

影响因素设置:采用 0.1 mol $\cdot$ L $^{-1}$ HCl 溶液调节初始 pH,由于碱性条件下 Cd $^{2+}$ 会发生化学沉淀,因此未设置碱性初始 pH。设置初始 pH 为 4.0、5.0、6.0、7.0;富里酸(FA)添加浓度为 10、20 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 。

电化学循环伏安法对水铁矿在微生物还原作用下的电子得失能力进行表征,对试验固相进行 X 射线衍射(XRD)和 X 射线光电子能谱(XPS)分析。

1.3 分析测定方法

Fe $^{2+}$ 测定:邻菲罗啉分光光度法测定,样品经 4 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心 10 min 后过 0.22 μ m 滤膜得到滤液,吸取 1 mL 滤液与 9 mL 去离子水置于比色管中,依次加入 pH 5.0 缓冲溶液 5 mL、0.2 mol $\cdot$ L $^{-1}$ 邻菲罗啉显色剂 1 mL,摇匀放置 5 min,吸收波长 510 nm 处测定(723PC 紫外分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司)。

Cd $^{2+}$ 测定:样品经 4 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心 10 min 后过 0.22 μ m 滤膜得到滤液,0.5 mol $\cdot$ L $^{-1}$ HNO $_3$ 稀释定容后用电感耦合等离子体光谱仪测定(电感耦合等离子体光谱仪 iCAP6300,美国 Thermo Fisher),测定波长 228.8 nm。

铁矿物电子传递能力测试:样品滤液快速移至杯中,在 N $_2$ 保护下采用传统电化学三电极体系进行 CV 扫描(CHI-660E 型电化学工作站,上海辰华仪器有限

公司)。工作电极为碳毡电极,对电极为铂丝电极,参比电极为饱和甘汞电极。扫描范围为 -0.8~0.8 V,扫描速率为 20 mV $\cdot$ s $^{-1}$ 。

XPS 测试:样品溶液经 8 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心 10 min 得到沉淀,将沉淀用去离子水清洗 3 次后进行真空冷冻干燥得到固体粉末,粉末压实后上机测定(XPS Thermo Fisher ESCALAB250),X 射线激发源为单色 Al K α ($h\nu=1486.6$ eV),功率 150 W,X 射线数斑 500 μ m。

XRD 测试:XRD TTR-III(日本理学),工作波长为 CuK α 线($\lambda=0.15417$ nm),工作电压 40 kV,工作电流 200 mA,扫描速度 8 $^{\circ}$ $\cdot$ min $^{-1}$ 。

1.4 数据处理

试验均重复 3 次,处理结果均以平均值 $\pm$ 标准差表示,相关数据分析采用 Excel 和 Origin 9.0 软件处理。

2 结果与分析

2.1 *S. oneidensis* MR-1 生长特性及其对 Cd $^{2+}$ 的耐受性

S. oneidensis MR-1 在不同初始 Cd $^{2+}$ 浓度下的生长曲线如图 1 所示。未添加 Cd $^{2+}$ 的情况下,菌种 12 h 后进入快速生长期,12~48 h 为其对数生长期,48 h 菌体浓度达到 1.0×10^8 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$,持续培养 144 h 后稳定在 1.68×10^8 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$ 。添加不同初始浓度 Cd $^{2+}$ 进入体系后,细菌生长受到一定程度的抑制,单位毫升的细菌个数呈现不同程度的降低,受抑制程度与添加的 Cd $^{2+}$ 浓度成正比。初始 Cd $^{2+}$ 浓度为 20 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 的体系中,持续培养 144 h 后菌体浓度亦能达到 1.0×10^8 CFU $\cdot$ mL $^{-1}$ 以上。

S. oneidensis MR-1 在 20 mg $\cdot$ L $^{-1}$ Cd $^{2+}$ 浓度范围内耐受性良好,随着 Cd $^{2+}$ 浓度增加,其进入对数生长期的时间会略有延迟。

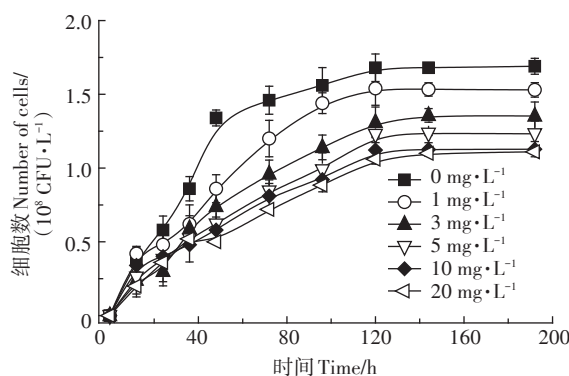


图1 不同 Cd $^{2+}$ 浓度下 *S. oneidensis* MR-1 的生长曲线

Figure 1 Growth curves of *S. oneidensis* MR-1 at different concentrations of Cd $^{2+}$

2.2 *S. oneidensis* MR-1 还原铁矿物诱导次生矿物对 Cd^{2+} 的固定

微生物还原水铁矿过程中 Fe^{2+} 与 Cd^{2+} 浓度的变化如图2所示。未接种 *S. oneidensis* MR-1 的矿物体系中,矿物自身对 Cd^{2+} 的吸附相对较少,溶液中 Cd^{2+} 浓度较高,为 $2.84 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 24 h 后基本稳定在 $2.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 接种 *S. oneidensis* MR-1 后,溶液中 Cd^{2+} 浓度在 12 h 后逐渐下降, 144 h 后逐渐稳定在 $0.86 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。对体系中的 Fe^{2+} 测定发现,在未接种 *S. oneidensis* MR-1 的矿物体系中,由于水铁矿不溶于水,试验过程中 Fe^{2+} 浓度均低于检出限; 接种 *S. oneidensis* MR-1 后, Fe^{2+} 浓度随时间变化不断增加,在 0~36 h 缓慢上升达到 $3.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 36~48 h 增长最快,在 288 h 达到 $37.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 这与微生物生长特性相似,表明 *S. oneidensis* MR-1 可以使水铁矿发生溶解并被还原。

微生物还原赤铁矿过程中 Fe^{2+} 与 Cd^{2+} 浓度变化如图3所示。未接种 *S. oneidensis* MR-1 的矿物体系中,赤铁矿自身对 Cd^{2+} 的吸附较少,溶液中 Cd^{2+} 浓度较

高, 12 h 时为 $3.27 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 48 h 后稳定在 $2.23 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 加入 *S. oneidensis* MR-1 后,溶液中 Cd^{2+} 浓度在 24 h 后逐渐下降, 96 h 时为 $0.18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 288 h 后溶液中 Cd^{2+} 浓度仅为 $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。未接种 *S. oneidensis* MR-1 的矿物体系中 Fe^{2+} 浓度均低于检出限, 加入 *S. oneidensis* MR-1 后, Fe^{2+} 浓度随时间变化不断增加,在 0~24 h 缓慢上升达到 $2.35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 24~36 h 增长最快,在 288 h 达到 $23.86 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 这与在水铁矿试验中的研究结果相似,表明 *S. oneidensis* MR-1 也可以使赤铁矿发生溶解并被还原。

在水铁矿与赤铁矿的微生物还原试验中, Fe^{2+} 与 Cd^{2+} 浓度呈显著负相关,表明 *S. oneidensis* MR-1 可能通过促进铁矿物还原过程中的晶型结构转化,从而增强其对 Cd^{2+} 的吸附固定。

2.3 初始 pH 对 *S. oneidensis* MR-1 还原铁矿物介导 Cd^{2+} 固定的影响

初始 pH 对 *S. oneidensis* MR-1 还原铁矿物介导 Cd^{2+} 固定影响的试验中 Fe^{2+} 与 Cd^{2+} 浓度的变化如图4

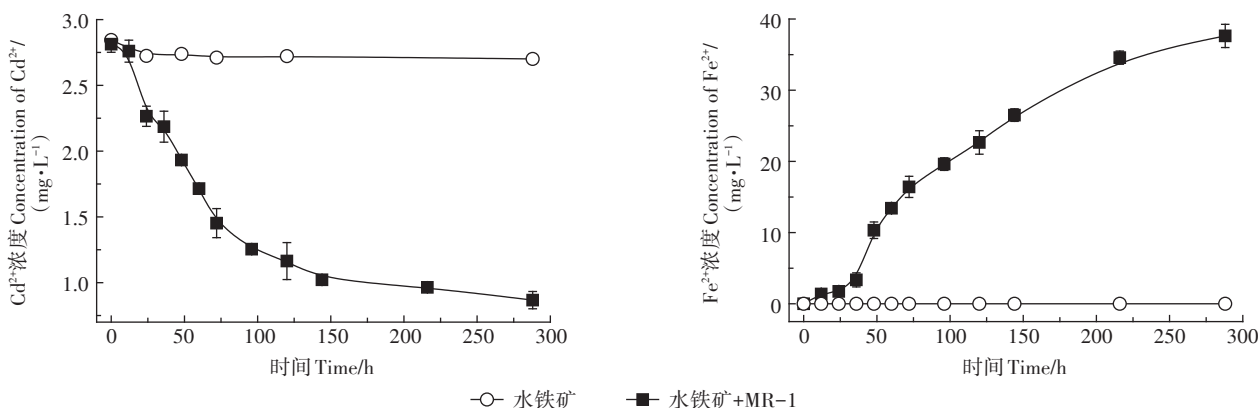


图2 *S. oneidensis* MR-1 还原水铁矿过程中 Cd^{2+} 及 Fe^{2+} 浓度变化

Figure 2 Concentration changes of Cd^{2+} and Fe^{2+} during *S. oneidensis* MR-1 reduction of ferrihydrite

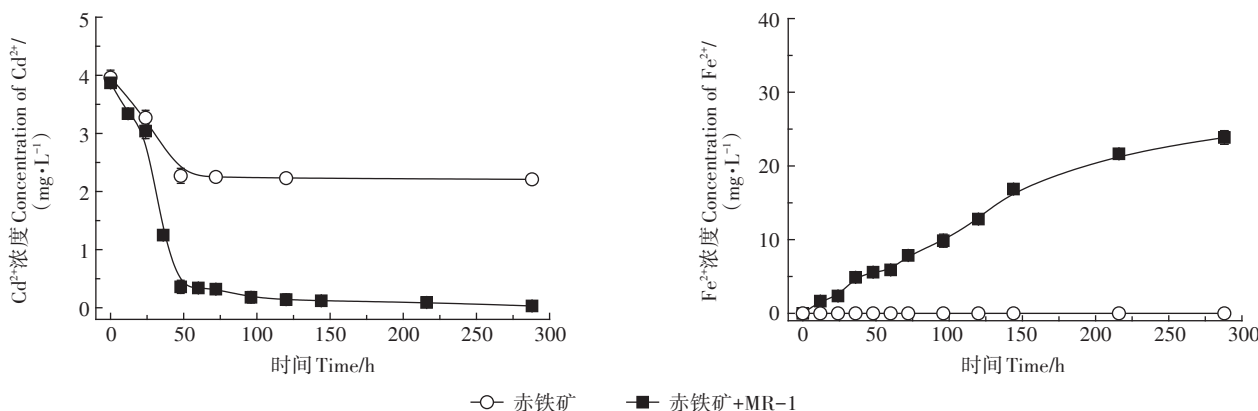


图3 *S. oneidensis* MR-1 还原赤铁矿过程中 Cd^{2+} 及 Fe^{2+} 浓度变化

Figure 3 Concentration changes of Cd^{2+} and Fe^{2+} during *S. oneidensis* MR-1 reduction of hematite

所示。酸性条件下 Cd^{2+} 吸附固定量相对较多,在初始pH 5.0的接种处理中 Cd^{2+} 固定效果最好,在24~60 h内快速下降,120 h后溶液中 Cd^{2+} 浓度低于检出限,但初始pH 4.0时矿物对 Cd^{2+} 固定量较少,288 h时溶液中 Cd^{2+} 浓度为 $1.93 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。水铁矿在酸性条件下的溶出使溶液中 Fe^{2+} 浓度迅速增加,12 h内 Fe^{2+} 浓度便达到 $7.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右,初始pH 5.0时,试验体系中 Fe^{2+} 浓度在288 h后积累到 $70.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,而初始pH为6.0时,试验体系中 Fe^{2+} 浓度最终达到 $59.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,均高于初始pH 7.0体系中的 Fe^{2+} 浓度($37.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),表明酸性条件更利于*S. oneidensis* MR-1对铁矿物的还原,但初始pH 4.0时 Fe^{2+} 浓度在288 h时仅为 $11.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。酸性条件下 Fe^{2+} 浓度增长符合*S. oneidensis* MR-1生长及铁还原特性。

初始pH为5.0时 Fe^{2+} 还原溶解速率略快于pH为6.0时,这与 Cd^{2+} 浓度下降速率相一致,证明酸性条件下*S. oneidensis* MR-1促进了水铁矿的晶型结构转化,进

而增强其对 Cd^{2+} 的固定,但较低pH值抑制了*S. oneidensis* MR-1的生长,导致矿物对 Cd^{2+} 的固定量减少。

2.4 FA对*S. oneidensis* MR-1还原铁矿诱导次生矿物固定 Cd^{2+} 的影响

添加不同浓度FA时,*S. oneidensis* MR-1诱导次生矿物固定 Cd^{2+} 试验中 Fe^{2+} 与 Cd^{2+} 浓度变化如图5所示。随着FA添加浓度的增加,试验体系中 Cd^{2+} 浓度在反应初期下降缓慢,可能是过高的FA抑制了铁矿物对 Cd^{2+} 的吸附。随着试验进行, Cd^{2+} 浓度下降速率加快,最终 Cd^{2+} 固定量相较无FA试验体系略有提升,288 h后初始FA为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液中的 Cd^{2+} 浓度分别为 $0.65 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。添加FA后 Fe^{3+} 还原过程明显增强,尤其在0~48 h增速明显变快,添加 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ FA的处理中,12 h后 Fe^{2+} 浓度达到 $4.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,添加 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ FA的处理中12 h后 Fe^{2+} 浓度达到 $7.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,48 h时达到了 $24.39 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,而水铁矿+ $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ FA处理中 Fe^{2+} 浓度仅在12 h时检

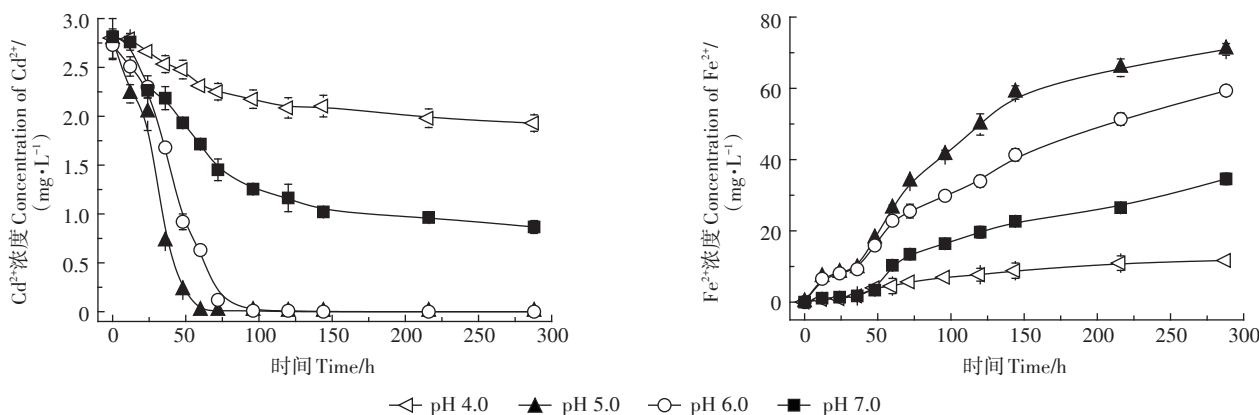


图4 不同初始pH条件下*S. oneidensis* MR-1还原水铁矿过程中 Cd^{2+} 及 Fe^{2+} 浓度变化

Figure 4 Concentration changes of Cd^{2+} and Fe^{2+} during *S. oneidensis* MR-1 reduction of ferrihydrite under different initial pH

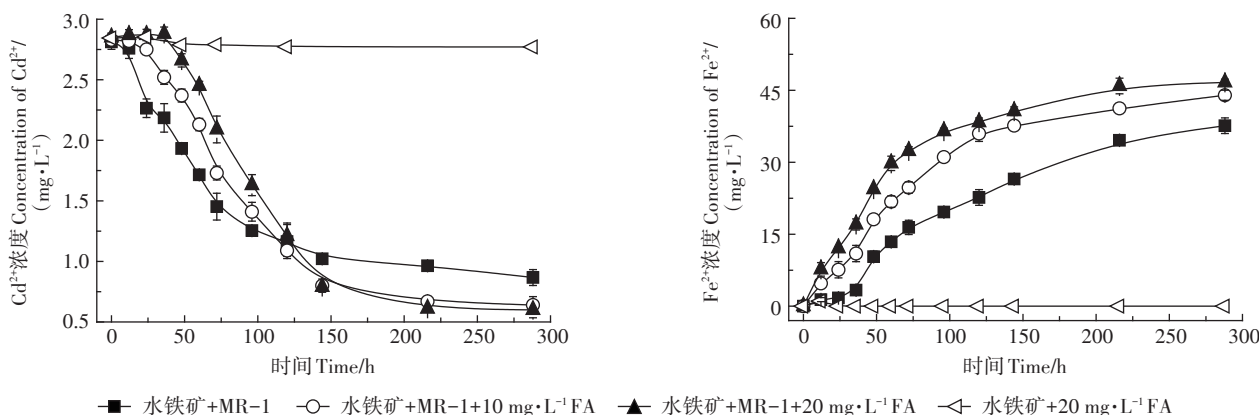


图5 不同浓度富里酸作用下*S. oneidensis* MR-1还原水铁矿过程中 Cd^{2+} 及 Fe^{2+} 浓度变化

Figure 5 Concentration changes of Cd^{2+} and Fe^{2+} during *S. oneidensis* MR-1 reduction of ferrihydrite under different concentrations of fulvic acid

测为 $1.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其余时间均低于检出限, 表明该试验中 FA 在 *S. oneidensis* MR-1 还原铁矿物时主要作为电子穿梭体, *S. oneidensis* MR-1 可通过其将电子传递给胞外的不可溶性 Fe^{3+} 进行还原, 从而加快了电子传递速率。

FA 作为电子穿梭体, 能促进微生物对水铁矿的还原, 但效果不显著, 溶液中 Fe^{2+} 浓度增加较少, 诱导次生矿物固定 Cd^{2+} 的效果不明显。

2.5 生物炭对 *S. oneidensis* MR-1 还原铁矿物诱导次生矿物固定 Cd^{2+} 的影响

生物炭负载 *S. oneidensis* MR-1 诱导次生矿物固定 Cd^{2+} 试验中 Fe^{2+} 与 Cd^{2+} 浓度变化如图 6 所示。生物炭负载 MR-1 吸附 Cd^{2+} 对照体系中, Cd^{2+} 浓度在 24 h 后稳定在 $2.21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 而生物炭负载 MR-1+水铁矿体系中 Cd^{2+} 浓度持续下降, 216 h 后逐渐稳定在 $0.58 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 比单一生物炭负载 MR-1 或水铁矿体系的 Cd^{2+} 固定效果提高。生物炭负载 MR-1 反应体系中 Fe^{2+} 浓度均低于检出限, 生物炭负载 MR-1+水铁矿体系的溶液中 Fe^{2+} 浓度在 0~60 h 内先增后减, 60 h 之后 Fe^{2+} 浓度低于检测限。

生物炭是一种富碳的多孔材料, 其孔隙结构适合微生物居住, 负载在生物炭上的 *S. oneidensis* MR-1 生长旺盛, 铁还原活性强, 相比微生物直接诱导次生矿物有更好的 Cd^{2+} 固定效果, 但溶液中 Fe^{2+} 浓度较低。

2.6 *S. oneidensis* MR-1 还原铁矿物诱导次生矿物固定 Cd^{2+} 的 XRD 分析

微生物还原铁氧化物矿物诱导次生铁矿物固定 Cd^{2+} 的 XRD 图谱如图 7a 和图 7b。水铁矿是一种弱结晶的铁氢氧化物, 晶型较差, 其 XRD 图谱峰少且宽, 反应后产物固相在 26.7° 、 14.1° 、 27.0° 等处检测出更

明显的衍射峰, 经过 Jade 物相检索与相关文献对比^[14], 确定衍射峰对应的物质为针铁矿和磁铁矿。随着试验进行, 悬浮液的颜色变深, 最终部分铁矿物粉末也能被磁铁吸引, 且颜色为黑色, 可能是磁铁矿。赤铁矿反应后在 26.7° 的衍射峰增强, 对应物质为正方针铁矿, 68.2° 产生了磁铁矿衍射峰, 且 33.1° 的赤铁矿峰变强, 可能是部分赤铁矿结构转化的重结晶导致, 表明铁矿物还原的过程中产生了晶型较好的次生矿物。

添加 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ FA 对 MR-1 还原铁介导的水铁矿晶型结构转化通过 XRD 表征, 如图 7c 所示。反应前的水铁矿 XRD 图中没有其他衍射峰, 而反应 288 h 后在 33.1° 产生了赤铁矿峰, 在 35.6° 和 62.2° 产生了磁铁矿峰; 相对未添加 FA 的微生物介导铁转化试验而言没有产生针铁矿, 而产生了赤铁矿, 且磁铁矿峰比未添加 FA 生物铁转化试验更强, 表明添加 FA 产生的磁铁矿含量、纯度和结晶度更高, 进一步增强了 Cd^{2+} 的固定。

为了进一步验证生物炭负载 MR-1 对水铁矿晶型结构转化的影响, 体系中矿物的结晶状态通过 XRD 表征, 如图 7d 所示。图谱峰经过 Jade 物相检索表明, 在多个位置检测出 CaCO_3 峰, 说明此生物炭内富含 CaCO_3 , 反应后在 26.7° 与 39.2° 处检测出针铁矿峰, 反应产物也能被磁铁吸引, 表明产生了次生铁矿——针铁矿与磁铁矿。

2.7 *S. oneidensis* MR-1 还原铁矿物诱导次生矿物固定 Cd^{2+} 的电化学及 XPS 分析

利用电化学循环伏安法表征铁矿物的氧化还原特性及 *S. oneidensis* MR-1 不同生长时期对铁氧化物矿物的还原能力, 结果如图 8a 所示。反应 0 h 时未发

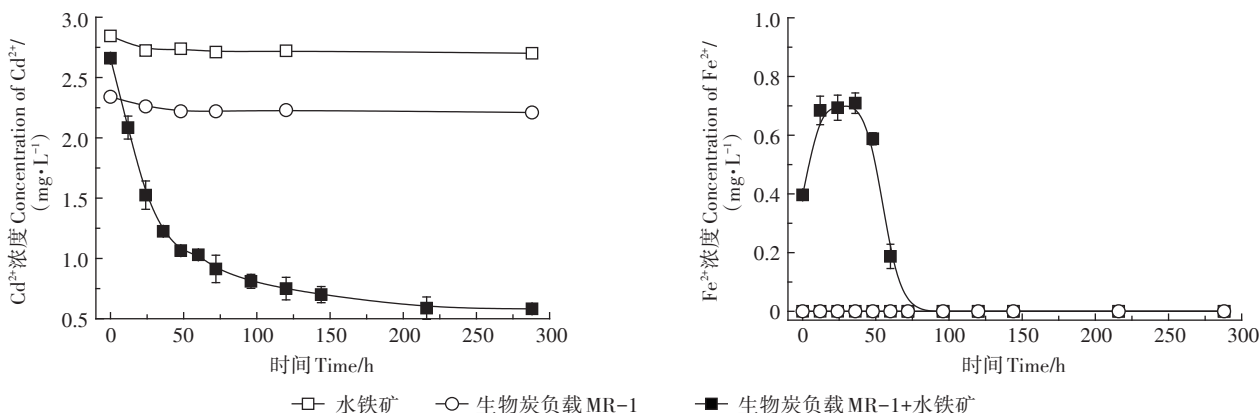


图 6 生物炭负载 *S. oneidensis* MR-1 还原水铁矿过程中 Cd^{2+} 及 Fe^{2+} 浓度变化

Figure 6 Concentration changes of Cd^{2+} and Fe^{2+} during *S. oneidensis* MR-1 reduction of ferrihydrite under bacteria inoculated biochar

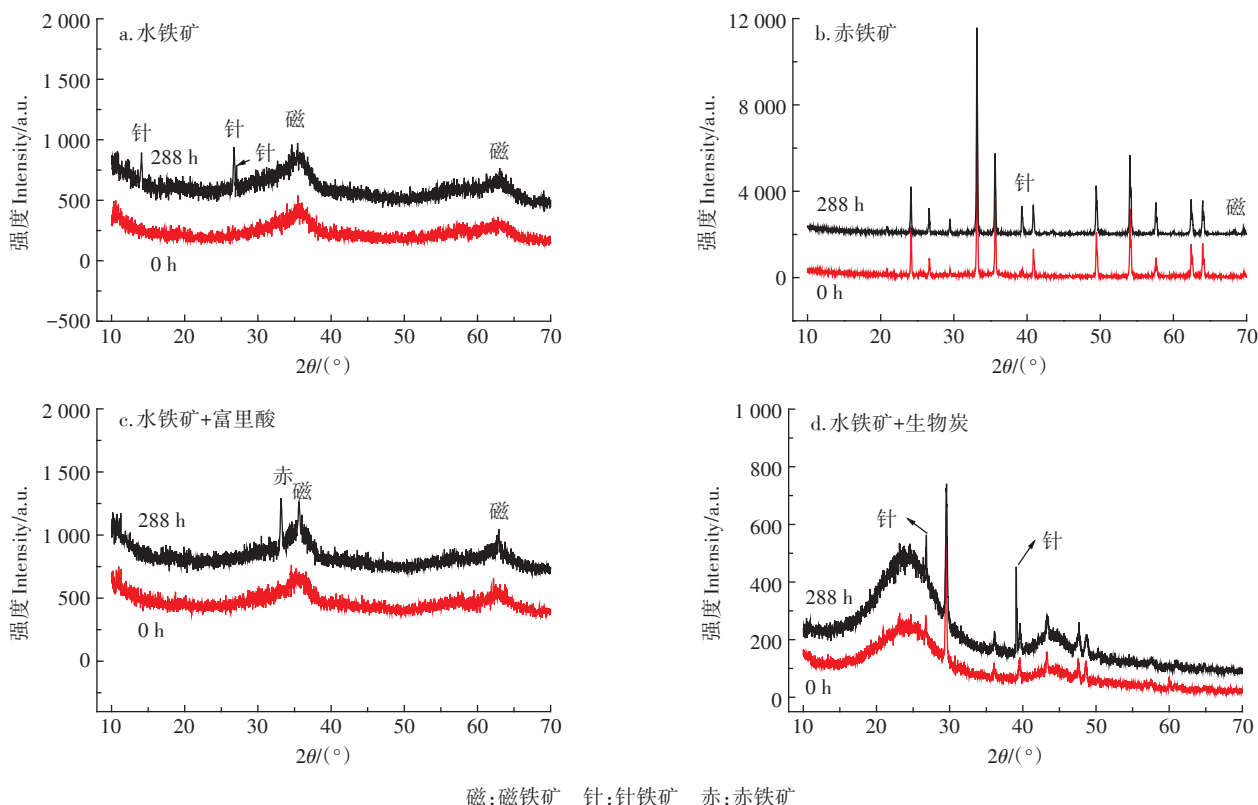


图7 *S. oneidensis* MR-1还原铁矿物前后(0 h和288 h)的固相XRD图

Figure 7 XRD patterns of *S. oneidensis* MR-1 reduction of ferrihydrite solid sample taken at 0 h and 288 h

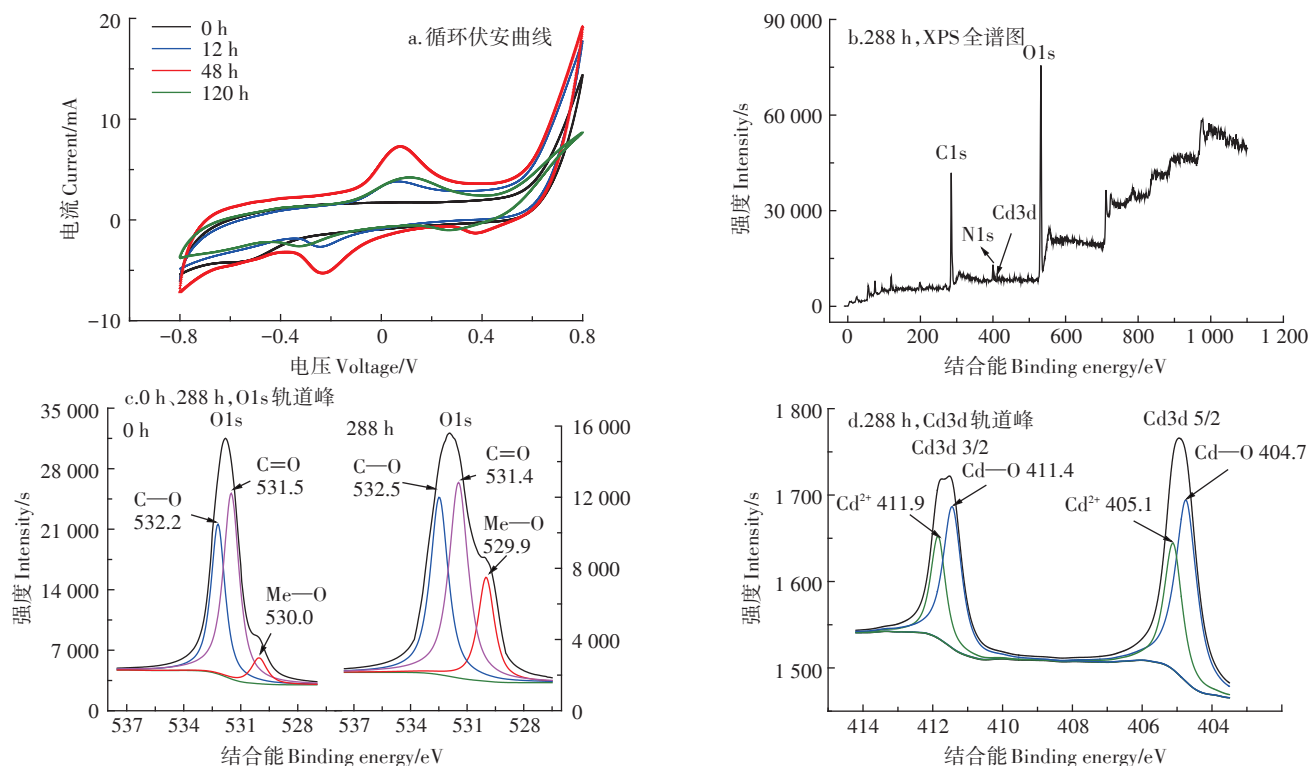
现氧化还原峰,12 h之后在0.10 V和-0.26 V左右出现 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 氧化还原峰,48 h时其氧化还原峰最大,表明此时铁氧化还原速率相对较快,这与*S. oneidensis* MR-1菌株生长特性相符。*S. oneidensis* MR-1对铁矿物有还原作用,铁矿物结构中氧化态铁作为电子受体被还原得到 Fe^{2+} 生成物,水铁矿体现出较好的氧化还原活性。

微生物还原水铁矿诱导次生矿物试验中固相产物XPS全谱结果如图8b所示。反应前后的XPS结果表明(图8c),固相产物O1s轨道峰 $\text{Fe}-\text{O}$ 峰面积比明显增加,这可能是由于生成磁铁矿及针铁矿产生了更多的 $\text{Fe}-\text{O}$ 键,以及 Cd^{2+} 在次生铁矿成矿过程中取代 Fe 形成了 $\text{Cd}-\text{O}$ 键^[15];且288 h时固相Cd3d轨道峰中 $\text{Cd}-\text{O}$ 峰面积比较高(图8d),表明与矿物的表面吸附 Cd^{2+} 相比,形成 $\text{Cd}-\text{O}$ 键固定才是固相产物中 Cd^{2+} 的主要固定方式。一方面*S. oneidensis* MR-1菌体表面丰富的官能团可以形成 $\text{Cd}-\text{O}$ 键,另一方面体系中产生的次生铁矿——针铁矿,其表面产生的大量羟基点位,也是 $\text{Cd}-\text{O}$ 键的主要来源^[12,16]。上述结果表明,次生铁矿晶型结构转化提供了更多的吸附点位,从而增强了 Cd^{2+} 的固定,微生物诱导次生铁矿的形成在

Cd^{2+} 固定中发挥了重要作用。

3 讨论

铁氧化物是环境中重金属的主要汇聚处,铁的生物转化与循环是土壤中一个重要的循环过程,利用异化铁还原过程加以引导,诱导产生次生矿物吸附重金属能更有效降低其生物有效性。YUAN等^[14]的研究表明,在微生物还原铁的过程中,可以通过次生铁氧化物和微生物细胞的吸附来固定较低浓度的 Cd^{2+} 。MENG等^[17]探究得出针铁矿与*S. oneidensis* MR-1及电子穿梭体AQDS的协同作用能有效降低铬的生物有效性,从而更好地控制铬在地下环境中的迁移和固定。BURTON等^[18]发现微生物还原 Fe^{3+} 以及随后生成 Fe^{2+} 可以诱导形成次生铁矿,这可能会改变Sb的形态和分配,导致其掺入新形成的次生铁矿中。在此基础上,本研究深入探讨了铁矿物和*S. oneidensis* MR-1体系中 Cd^{2+} 的增强固定机理,由于 Cd^{2+} 对微生物细胞的毒性^[19-20],使细菌生长受到一定程度抑制;采用的铁矿为不溶性铁矿,但在添加*S. oneidensis* MR-1条件下,发现铁矿能被异化铁还原作用还原溶解出 Fe^{2+} ,与此前的研究结果一致^[21],最终异化铁还原诱导产

图8 *S. oneidensis* MR-1 还原水铁矿的循环伏安曲线及固相产物的XPS分析Figure 8 Cyclic voltammetry curves of *S. oneidensis* MR-1 reduction of ferrihydrite and XPS analysis of solid phase

生次生铁矿对 Cd^{2+} 进行固定;与铁氧化物表面吸附相比,次生铁矿晶型结构转化提供了更多的吸附点位,具备更强的固定效果,这与大多数重金属及各类元素地球化学和矿物学之间的耦合作用相似^[22]。

环境 pH 以及各类腐殖质影响着自然界中铁矿物的演化,从而导致金属络合和吸附到矿物表面的能力发生变化^[23]。本研究发现在酸性环境中,微生物还原铁的动力学特性及产生次生铁矿的晶型结构均有所变化,这是由于生物铁还原过程是一个质子消耗过程^[24-25],较低 pH 也对 *S. oneidensis* MR-1 菌种的细胞特性(如细菌生长、胞外电子转移等)有一定影响^[26],进而影响 Cd^{2+} 的固定效率。FA 对铁矿生物转化过程有重要影响,本研究中添加 FA 促进了 Fe^{3+} 还原过程并加强了 Cd^{2+} 的固定,这可能是由于 FA 主要作为电子穿梭体,并且其在成矿过程中可调控铁还原菌铁转运相关基因的表达,从而促进次生矿物成矿效率^[27-28]。生物炭作为一种重金属修复剂,具有吸附重金属的能力,且可以降低土壤中重金属的迁移率和生物可利用性,此外,生物炭负载微生物已被证明是有效的环境修复手段^[29-30],可作为微生物的“定殖场所”^[31]。本试验中生物炭改变了铁还原菌在试验体系中的生长环境,虽然微生物还原水铁矿产生的 Fe^{2+} 被

生物炭强吸附^[32],游离到溶液中极少,但较微生物直接诱导次生矿物有更好的 Cd^{2+} 固定效果。值得注意的是,铁还原的时间、速率以及环境中有机质等不稳定的各类物质,这些特殊因素相互影响,对次生铁矿的形成过程起主要作用。

本研究利用电化学方法对微生物还原条件下铁矿物氧化还原特性进行表征,发现铁矿能接受铁还原菌的电子转移,这是铁矿物可以被微生物还原的电化学基础^[33],且氧化还原性质与铁还原菌生长特性一致。近期研究表明^[34],促进铁还原菌与铁矿物之间的电子转移会强化次生矿物的结晶。试验通过 XRD 与 XPS 表征铁矿物的晶型结构发现,次生矿物更高的含量和结晶度能增强重金属的固定,这为揭示微生物矿化菌与钝化材料的耦合作用及更好地实现土壤重金属的固定提供了科学依据。

4 结论

(1) 菌株 *S. oneidensis* MR-1 能还原铁矿物诱导产生次生矿物固定 Cd^{2+} ,与铁矿自身吸附相比,次生铁矿有更好的 Cd^{2+} 固定效果。

(2) 酸性条件($\text{pH} \geq 5.0$)、添加富里酸及使用生物炭负载微生物均能促进菌株 *S. oneidensis* MR-1 对铁

矿物的转化,进而增强 Cd^{2+} 的固定。

(3)铁氧化物矿物作为电子受体接受*S. oneidensis* MR-1的电子传递而被还原,铁矿物的晶型结构转变提供了更多的吸附点位,增强了 Cd^{2+} 的固定。

参考文献:

- [1] LUO J S, HUANG J, ZENG D L, et al. A defensin-like protein drives cadmium efflux and allocation in rice[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1):1-28.
- [2] 周建军, 周桔, 冯仁国. 我国土壤重金属污染现状及治理战略[J]. 中国科学院院刊, 2014, 29(3):315-320, 350. ZHOU J J, ZHOU J, FENG R G. Status of China's heavy metal contamination in soil and its remediation strategy[J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2014, 29(3):315-320, 350.
- [3] ZHANG J, KUMARI D, FANG C, et al. Combining the microbial calcite precipitation process with biochar in order to improve nickel remediation[J]. *Applied Geochemistry*, 2019, 103:68-71.
- [4] WANG Q, WEI Z, YI X, et al. Biogenic iron mineralization of polyferric sulfate by dissimilatory iron reducing bacteria: Effects of medium composition and electric field stimulation[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 684:466-475.
- [5] LIU R, LIAN B. Immobilisation of $\text{Cd}(\text{II})$ on biogenic and abiotic calcium carbonate[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 378:120707.
- [6] 党政, 代群威, 赵玉连, 等. 生物矿化在重金属污染治理领域的研究进展[J]. 环境科学研究, 2018, 31(7):1182-1192. DANG Z, DAI Q W, ZHAO Y L, et al. Research progress of biomineralization in the treatment of heavy metal contamination[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2018, 31(7):1182-1192.
- [7] LOVLEY D R, HOLMES D E, NEVIN K P, et al. Dissimilatory $\text{Fe}(\text{III})$ and $\text{Mn}(\text{IV})$ reduction[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2004, 49:219-286.
- [8] ETIQUÉ M, JORAND F P A, RUBY C. Magnetite as a precursor for green rust through the hydrogenotrophic activity of the iron-reducing bacteria *Shewanella putrefaciens*[J]. *Geobiology*, 2016, 14(3):237-254.
- [9] HANSEL C M, BENNER S G, NEISS J, et al. Secondary mineralization pathways induced by dissimilatory iron reduction of ferrihydrite under advective flow[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2003, 67(16):2977-2992.
- [10] MUEHE E M, MORIN G, SCHEER L, et al. Arsenic(V) incorporation in vivianite during microbial reduction of arsenic(V)-bearing biogenic $\text{Fe}(\text{III})$ (oxyhydr)oxides[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(5):2281-2291.
- [11] MUEHE E M, SCHEER L, DAUS B, et al. Fate of arsenic during microbial reduction of biogenic versus a biogenic As- $\text{Fe}(\text{III})$ -mineral coprecipitates[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(15):8297-8307.
- [12] LI C C, YI X, DANG Z, et al. Fate of Fe and Cd upon microbial reduction of Cd-loaded polyferric flocs by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Chemosphere*, 2016, 144:2065-2072.
- [13] SUN J L, WEI L, YIN R, et al. Microbial iron reduction enhances in-situ control of biogenic hydrogen sulfide by FeOOH granules in sediments of polluted urban waters[J]. *Water Research*, 2020, 171:115453.
- [14] YUAN C, LIU T, LI F, et al. Microbial iron reduction as a method for immobilization of a low concentration of dissolved cadmium[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 217:747-753.
- [15] BALTRUSAITIS J, CWIERTNY D M, GRASSIAN V H. Adsorption of sulfur dioxide on hematite and goethite particle surfaces[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2007, 9(41):5542-5554.
- [16] WEBER K A, ACHENBACH L A, COATES J D. Microorganisms pumping iron: Anaerobic microbial iron oxidation and reduction[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(10):752-764.
- [17] MENG Y, ZHAO Z, BURGOS W D, et al. Iron(III) minerals and anthraquinone-2, 6-disulfonate (AQDS) synergistically enhance bioreduction of hexavalent chromium by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 640/641:591-598.
- [18] BURTON E D, HOCKMANN K, KARIMIAN N, et al. Antimony mobility in reducing environments: The effect of microbial iron(III)-reduction and associated secondary mineralization[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2019, 245:278-289.
- [19] 司友斌, 王娟. 异化铁还原对土壤中重金属形态转化及其有效性影响[J]. 环境科学, 2015, 36(9):3533-3542. SI Y B, WANG J. Influence of dissimilatory iron reduction on the speciation and bioavailability of heavy metals in soil[J]. *Environmental Sciences*, 2015, 36(9):3533-3542.
- [20] JEONG S, MOON H S, SHIN D, et al. Survival of introduced phosphate-solubilizing bacteria (PSB) and their impact on microbial community structure during the phytoextraction of Cd-contaminated soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 263:441-449.
- [21] 司友斌, 孙林, 王卉. *Shewanella oneidensis* MR-1对针铁矿的还原与汞的生物甲基化[J]. 环境科学, 2015, 36(6):2252-2258. SI Y B, SUN L, WANG H. Effects of dissimilatory reduction of goethite on mercury methylation by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Environmental Sciences*, 2015, 36(6):2252-2258.
- [22] TAO L, ZHU Z K, LI F B, et al. $\text{Fe}(\text{II})/\text{Cu}(\text{II})$ interaction on goethite stimulated by an iron-reducing bacteria *Aeromonas Hydrophila* HS01 under anaerobic conditions[J]. *Chemosphere*, 2017, 187:43-51.
- [23] LIU D, ZHANG Q, WU L, et al. Humic acid-enhanced illite and talc formation associated with microbial reduction of $\text{Fe}(\text{III})$ in nontronite[J]. *Chemical Geology*, 2016, 447:199-207.
- [24] FROMMICHE R, WENDT-POTTHOFF K, FRIESE K, et al. Microcosm studies for neutralization of hypolimnic acid mine pit lake water (pH 2.6) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(6):1877-1887.
- [25] BENNER S G, HANSEL C M, WIELINGA B W, et al. Reductive dissolution and biomineralization of iron hydroxide under dynamic flow conditions[J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(8):1705-1711.
- [26] YANG C Y, ZHAO C, YANG Y Y, et al. Increase of riboflavin biosynthesis underlies enhancement of extracellular electron transfer of *Shewanella* in alkaline microbial fuel cells[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 130(2):763-768.

- [27] KULKARNI H V, MLADENOV N, MCKNIGHT D M, et al. Dissolved fulvic acids from a high arsenic aquifer shuttle electrons to enhance microbial iron reduction[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 615:1390–1395.
- [28] WANG S, WU Y, AN J, et al. Geobacter autogenically secretes fulvic acid to facilitate the dissimilated iron reduction and vivianite recovery [J]. *Environmental Science and Technology*, 2020, 54 (17) : 10850–10858.
- [29] CHEN H, TANG L, WANG Z, et al. Evaluating the protection of bacteria from extreme Cd(II) stress by P-enriched biochar[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263:114483.
- [30] WU C, AN W, LIU Z, et al. The effects of biochar as the electron shuttle on the ferrihydrite reduction and related arsenic (As) fate[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 390:121391.
- [31] CHEN T, JING W, FENG G, et al. Biochar and bacteria inoculated biochar enhanced Cd and Cu immobilization and enzymatic activity in a polluted soil[J]. *Environment International*, 2020, 137:105576.
- [32] 张又弛, 李会丹. 生物炭对土壤中铁生物还原作用和重金属分布的影响[J]. *环境污染与防治*, 2019, 41(4):377–381. ZHANG Y C, LI H D. Effects of biochar on biological iron reduction and metal distribution in soils[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2019, 41(4):377–381.
- [33] 丁竑瑞, 李艳, 王鑫, 等. 微生物还原铁氧化物矿物的电化学研究[J]. *矿物岩石地球化学通报*, 2011, 30(3):299–303, 310. DING H R, LI Y, WANG X, et al. Electrochemical research on iron oxide minerals reduction by microorganisms[J]. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 2011, 30(3):299–303, 310.
- [34] WU Y, WANG C, WANG S, et al. Graphite accelerate dissimilatory iron reduction and vivianite crystal enlargement[J]. *Water Research*, 2021, 189:116663.