

·环境矿物学·

铁细菌利用天然金红石光生电子能量研究

吕 明, 鲁安怀, 郝瑞霞, 李 艳, 杨若晨, 王长秋

(北京大学 地球与空间科学学院, 北京 100871)

摘 要:天然金红石和铁氧化细菌在自然界中广泛存在,并且可能分布于同一区域,发生能量的交互作用。本文通过实验探讨了铁细菌利用金红石光生电子的可能性及其机理。研究发现,天然金红石在日光下可以很好地将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} ,其速度达 $101.8 \text{ mg/L} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$;而细菌又可以将 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} ,从中获得新陈代谢的能量。依靠这种作用,本文通过一种实验装置将金红石的光生电子导出并传递给 Fe^{3+} ,然后通过 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 的变化将电子传递给细菌,从而实现了细菌对光生电子能量的利用。在 96 h 内,光催化作用下的细菌浓度可以达到空白样品的 100 倍,说明光催化作用促进了细菌的生长。

关键词:氧化亚铁硫杆菌;电子载体;金红石;光生电子;燃料电池;二价铁;三价铁

中图分类号:P579;P578.4⁺7

文献标识码:A

文章编号:1000-6524(2008)03-0212-09

The utilization of photo-induced electrons from natural rutile by Fe bacteria

LÜ Ming, LU An-huai, HAO Rui-xia, LI Yan, YANG Ruo-chen and WANG Chang-qiu

(School of Earth and Space Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: As natural rutile and *Thiobacillus ferrooxidans* (T. f) are distributed widely in nature, they may contact with each other in some cases and cause energy exchange. The authors explored the probability of the utilization of photo-induced electrons from natural rutile by T. f and the mechanism of this process. In the experiment, natural rutile could reduce Fe^{3+} to Fe^{2+} under sunlight, the reduction rate reached $101.8 \text{ mg/L} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$, and T. f obtained energy by oxidizing Fe^{2+} to Fe^{3+} . Based on this experiment, the authors designed a device that could capture photo-induced electrons and pass them to bacteria via $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ mediator. In this way, T. f could utilize energy derived from photo-electron transition. In 96 hours, the strain under photocatalysis reached a density that was 100 times higher than that of the sample without experiencing photocatalysis. These results show that photocatalysis can give energy to bacteria and accelerate its growth.

Key words: *Thiobacillus ferrooxidans*; electron carrier; rutile; photo-induced electron; fuel cell; Fe^{2+} ; Fe^{3+}

金红石是自然界中分布广泛的一种光催化半导体矿物。从化学组成来看,金红石是 Ti 的氧化物,而 Ti 在地壳中丰度较高(0.61%),占地壳组成元素的第 9 位。在岩石圈与生物圈的交互带中,Ti 以 80

多种形态广泛存在(吴贤等,2006)。TiO₂ 被认为是一种优良的光催化剂,其光催化性能早在 1972 年就由 Fujishima 等(1972)发现并报道,到目前仍然是研究的热点。

收稿日期:2007-05-30;修订日期:2007-09-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(40572022)

作者简介:吕 明(1982-),男,硕士研究生,环境矿物学研究方向,E-mail:lvmingng@gmail.com;通讯作者:鲁安怀,E-mail:ahlu@pku.

edu.cn。

通过掺杂改性、降低颗粒尺寸等方法,可以提高 TiO_2 的光催化性能,但是大量研究所采用的 TiO_2 为锐钛矿型,而普遍认为金红石型 TiO_2 的光催化活性不高(贺北平等,1993)。然而鲁安怀(2003)的研究表明,天然金红石型 TiO_2 同样具有良好的光催化性能。由于天然金红石含有 V、Fe、Zn、Cu 等杂质元素,会造成晶格中元素类质同像的点缺陷,产生杂质能级,因而可以促进金红石对光能的利用,其吸收光谱的范围可以扩展到可见光。鲁安怀等(2004)又通过实验证实了天然金红石在日光照射下的光催化活性,这为本文的研究提供了基础。

天然金红石日光下光催化作用的原理是:天然金红石吸收可见光子的能量产生光生电子和空穴,光生电子可以参与物质的还原,而光生空穴可以参与物质的氧化,这样就实现了太阳能与化学能的转化。由于天然金红石与日光都在自然界中天然存在,金红石与周围的物质应该一直都发生着各种已知和未知的催化反应,广泛参与物质循环和能量流动的过程。

自然界中同样存在着大量细菌,其中氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*,简称 T.f)是一种嗜酸的依靠代谢 Fe^{2+} 和 S^{2-} 等元素化能自养的细菌。T.f 最初发现于酸性矿山水体中(Colmer and Temple, 1951),在土壤和水体中广泛分布,其氧化作用提供了植物可利用的硫酸盐营养。T.f 细菌由于可以浸出矿物中的金属,常应用于湿法冶金(周顺桂等,2002),同时也是细菌与矿物相互作用领域内

研究最多的菌种之一(Pogliani and Donati, 2000; Rojas-Chapana and Tributsch, 2001; Jones *et al.*, 2003)。

T.f 可以从 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} 的过程中获得电子,利用电子流动的能量来维持新陈代谢。从细胞外的最初供体 Fe^{2+} 一直到细胞内的最终受体 O_2 , 电子需要通过一系列的电子载体携带才能完成。电子载体在携带电子时从氧化态变成还原态,而完成电子传递之后又恢复到氧化态。这些电子载体按照氧化还原电位的高低依次排列,构成了电子传递的链条。近十多年来,许多学者通过基因序列分析和生物化学研究手段,成功分离并表征了组成 T.f 电子传递链的各种电子载体,如亚铁氧化酶(Iron oxidase)(Fukumori *et al.*, 1988; Kusano *et al.*, 1992; Cavazza *et al.*, 1995; Matthieu *et al.*, 2006; Jia Zeng *et al.*, 2007)、铁质兰素(Rusticyanin)(Yamanaka *et al.*, 1991; Blake *et al.*, 1992; Bruschi *et al.*, 1996; Bengrine *et al.*, 1998)、细胞色素 C(Cytochrome C)(Tamegai *et al.*, 1994; Appia-Ayme *et al.*, 1998; Andrés *et al.*, 2002)、细胞色素 C 氧化酶(Cytochrome C oxidase)(Kai *et al.*, 1989, 1992; Harrenga *et al.*, 1999)等。

通过研究大量的电子载体资料,不同学者建立了多种不同的电子传递链的模型(Yamanaka *et al.*, 1991; Blake *et al.*, 1994; Bruschi *et al.*, 1996),目前最流行的一种是 Quatrini 等(2006)提出的,电子传递顺序如图1。通过这样的电子传递链,细菌将

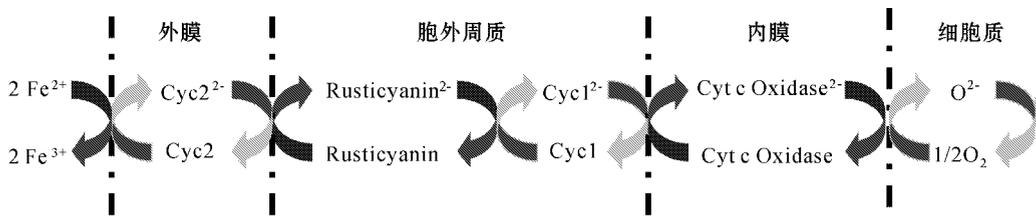


图1 T.f 的电子传递链(根据 Quatrini 等 2006)

Fig. 1 Electron transportation chain of T.f (after Quatrini *et al.*, 2006)

Fe^{2+} 的电子传递给 O_2 , 从而完成其能量代谢。

Fe^{2+} 氧化后可以为 T.f 提供的能量较低,只有 8.1 kcal/mol,即细菌需要氧化 22.4 mol Fe(II)才能固定 1 mol CO_2 ,这意味着在 Fe^{2+} 培养基中生长的细胞浓度不会太高。Yunker 等(1986)发现,当向 T.f 细菌生长的培养基通入直流电时,细菌氧化产生

的 Fe(III)可以被还原成 Fe(II),与常规方法比较,细胞浓度可以提高到 3.7 倍,细胞的生长速度可以提高到 6.5 倍。此后,许多研究(Taya *et al.*, 1991; Natarajan, 1992; Nakasono *et al.*, 1997; Matsumoto *et al.*, 1999)开始采用这种电解刺激培养(electrolytic cultivation)的方法来研究细菌的生长情况。

这些实验都表明,在合适的外加电压或电流下,T.f 细菌的生长受到刺激,会使新陈代谢加快。这种方法实际上实现了细菌对电能的利用, Fe^{3+} 在电流的作用下不断得到电子变成 Fe^{2+} , Fe^{2+} 又将其中的电子源源不断地传递给细菌。通过前面对电子载体的描述可以看出, $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 此时已经成为了电子载体,而最初的电子供体变成了电池负极。这样,细菌的电子传递链就从细胞内扩展到了细胞外。

T.f 电子传递链的扩展使细菌能量的来源从化学能扩展到电能,而电能又可以与其他多种能量形式转换,这样又可以进一步地扩展电子传递链的范围。而金红石恰好是一种将光能转化成电能的物质,将金红石引入到细菌的电子传递链中,就使细菌利用金红石光生电子能量成为可能。

在自然界中,随着岩石圈与生物圈的物质作用与循环,以 T.f 为代表的细菌和以金红石为代表的半导体矿物有可能处于同一生态环境里。人们已经知道微生物与半导体矿物的相互作用是地球上广泛发生的一种作用,这种作用影响了矿物的溶解和沉淀,影响了元素的地球化学循环,但是人们对于它们之间能量交流的过程了解不多。除了能够利用普通的化学能量外,细菌是否还可以利用半导体矿物光生电子的能量,以及通过何种方式利用这些能量,将是本文所要侧重探讨的问题。这些问题的研究可能会为自然界中半导体矿物与细菌能量交互作用的过程提供新的认识。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 金红石

实验采用的天然金红石样品取自某金红石矿床,经磨碎后过 200 目筛,平均粒径为 70~80 μm 。电子探针分析(李宁等,2003)显示该样品含有 V_2O_5 1.22%, FeO 0.39%, ZnO 0.35%, CuO 0.22%,这些杂质元素对金红石光催化活性起了至关重要的作用,使其光谱响应范围扩展到可见光段(刘娟等,2003)。紫外-可见光漫反射测试实验(鲁安怀等,2004)表明,该金红石样品在紫外和可见光范围内都具有活性(图 2)。

1.1.2 氧化亚铁硫杆菌

含氧化亚铁硫杆菌样品取自某煤矿酸性矿坑水中,水体 pH 值为 2.2,颜色棕黑,较混浊。菌种的分

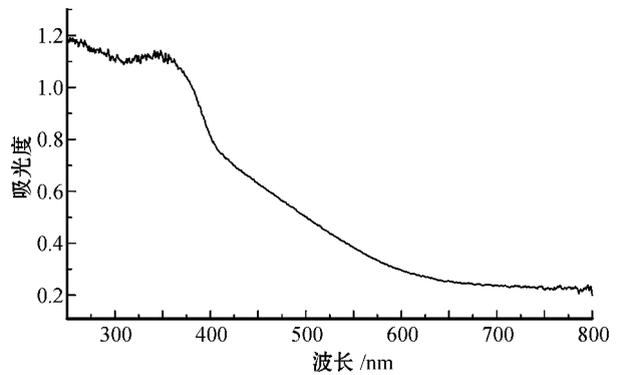


图 2 金红石样品的紫外-可见漫反射谱

Fig. 2 UV-Vis DRS of the rutile sample

离和培养均采用 9K 培养基,其成分为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3g, K_2HPO_4 0.5 g, MgSO_4 0.5 g, KCl 0.1 g, CaSO_4 0.01 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 20 g, H_2O 1 L($\text{pH} = 1.5$)。尽管大多数研究认为该菌种的最适生长 pH 值在 2.0~2.5 之间,但根据 Nakasono 等(1997)研究,在 $\text{pH} = 1.5$ 情况下可以尽量减少沉淀的产生而不影响细菌的生长,故本文实验将 pH 值调节为 1.5。

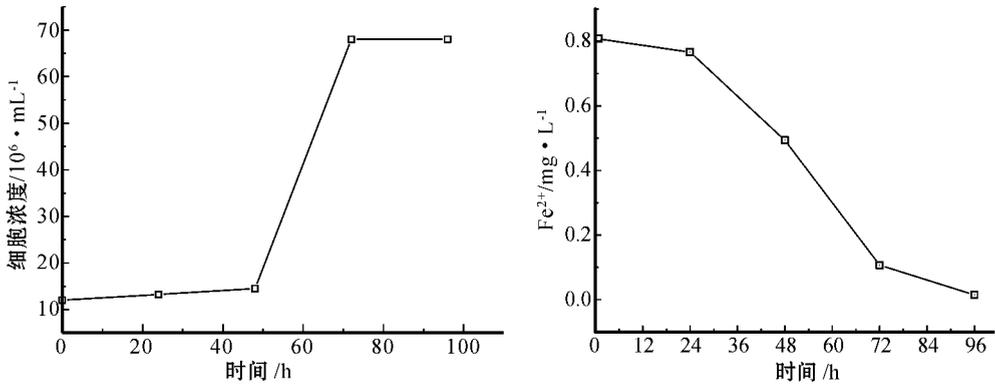
细菌用 30℃、160 r/min 的摇床培养,采用梯度稀释方法进行纯化,即取 5 mL 菌液,接种于装有 200 mL、9K 培养基的瓶中,摇匀,再从此培养基中取 10 mL 溶液接种到第 2 个同样的瓶中,按同样的方法依次接种 9 次,进行 30℃、160 r/min 摇床培养,最后一瓶长出的菌体是最纯的菌体。

环境扫描电子显微镜(Quanta 200FEG)观察此菌株为短杆状细菌,长 0.6~1.7 μm ,宽 0.3~0.5 μm ;一般为单生,少数为对生、链状和丛生。菌株为革兰氏阴性,在 pH 值 1.0~2.5、温度 25~35℃ 范围内均能生长。

在 30℃ 下培养的细菌,其生长周期、细胞浓度和氧化二价铁的速度如图 3 所示。从图 3 中可见,细菌在 48 h 后进入对数生长期,72 h 后进入稳定期,细胞浓度在稳定期可以达到 68×10^6 个/mL。 Fe^{2+} 的氧化速度与细胞生长速度相对应,在对数期氧化速度最快,48~72 h 的平均氧化速度达到 $2015.2 \text{ mg/L} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ 。在 72 h 后, Fe^{2+} 的氧化速度减慢,96 h 后全部变成三价铁。

1.2 实验装置

借助于电解刺激培养的原理,结合近年来大量研究的 TiO_2 光电化学电池和微生物燃料电池的结

图3 细菌单独在生化培养箱中的生长曲线和氧化 Fe^{2+} 的速度Fig. 3 The growth curve and Fe^{2+} oxidation curve under the condition T. f grow alone

构,本实验设计出一种将金红石的光生电子分离并传递给细菌的装置,其原理为:在日光照射下,金红石中光生电子通过金红石阳极流入电路,在阴极通

过 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 的变化将电子传递给细菌。其结构如图4所示。

从图4可知,装置由两个内部相通的容器组成,

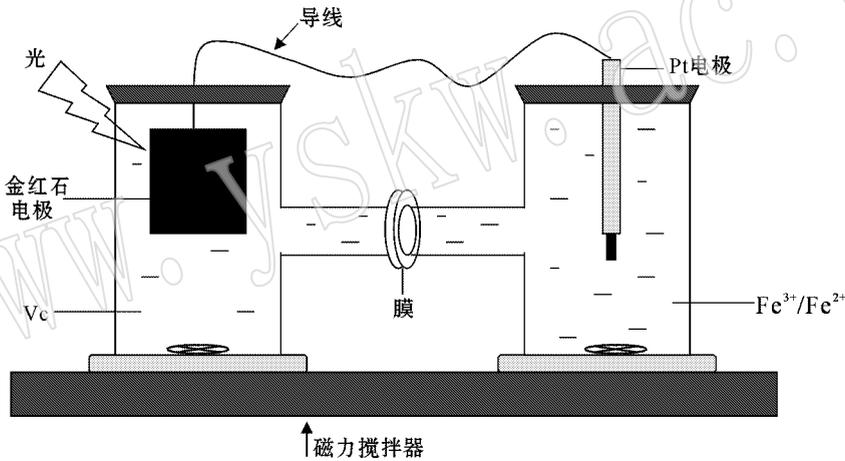


图4 实验装置示意图

Fig. 4 Sketch diagram of the experiment device

左边容器为光催化反应箱,右边容器为生化反应箱,尺寸均为 $7 \text{ cm} \times 8 \text{ cm} \times 15 \text{ cm}$ 。两个容器通过中间的管道连通,每节管长 9 cm ,直径 3 cm ,管道对接处隔有氢离子交换膜(nafion 117)。光催化反应箱光照一侧用玻璃制成以便于透光,其余部分用聚丙烯制成。容器内装满 12.5 g/L 抗坏血酸和 2.5 g/L KCl 溶液,顶部密封。生化反应箱用PVC材料制成,容器内部装有含 12.5 g/L $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 的溶液或稀释的9K培养基(各成分浓度为普通9K培养基的一半),顶部留 9 mm^2 透气孔。

金红石光催化电极的制作方法:①将 0.54 g 天然金红石和 0.06 g 乙炔黑混合,加入乙醇作为溶剂,超声震荡 30 min ;②加入3滴PTFE乳液,用玻璃棒搅拌至

混合物胶结;③将胶状物在 $5 \text{ cm} \times 7 \text{ cm}$ 石墨电极上辊压成薄膜,自然干燥 12 h 即制成光催化阳极。

Pt电极为市售Ruosull 213型,光催化电极与Pt电极用铜导线连接,整个装置置于磁力搅拌器(江苏同济仪器厂)上反应。光催化反应箱下部接有水浴冷凝装置。实验采用 300 W 卤素灯(Philips)作为光源,光源距离光催化电极 11 cm 。该光源的光强参数见表1。

1.3 测定方法

Fe^{2+} 的浓度由邻菲罗啉分光光度法测定(参照中华人民共和国环境保护行业标准,HJ/T 345-2007),所使用的分光光度计型号为Agilent HP8453。细菌浓度由血球计数法确定(参照微生物

表1 照明管型卤素灯辐照强度测定数据表

Table 1 Irradiation intensity of halogen lamp

距离/cm	紫外光强/ $\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ (320~400 nm)	可见光强/ $\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ (400 nm)
336	8	222
11	124	285
16	66	202
21	43	143
26	28	99.7

灯管:飞利浦照明有限公司,中国,型号 Q/YXKC33, 230 V, G5, R7s, 500 W(9900 流明), 300 W(5600 流明), 发射波长均为 300 nm 以上, 760 nm 以下, 采用 UV-A 型紫外辐照计(北京师范大学光电仪器厂, 中国北京)进行紫外光部分测量。

学实验教程), 所使用的光学显微镜为 Nikon LV100POL 型。

1.4 实验过程

1.4.1 金红石还原 Fe^{3+}

在无 T.f 菌存在的情况下, 准备了 3 组实验, 对每个实验中 Fe^{2+} 浓度进行了测量, 来探讨光催化作用对三价铁的还原能力。

(1) 有金红石和光照的实验: 阳极为天然金红石光催化电极, 光催化反应箱内装满(不留任何气泡) 12.5 g/L 抗坏血酸和 2.5 g/L KCl, 加顶盖并用塑料焊条密封。生化反应箱内装 12.5 g/L $\text{Fe}(\text{SO}_4)_3$, 留 9 mm² 透气孔。Pt 电极作为阴极, 用导线将两电极连接。调节水浴装置中水的流速以使温度保持在 30℃。

(2) 无金红石的光照实验: 阳极为石墨板上覆盖碳黑、PTFE(质量比 6:1) 制成的涂层, 用 300 W 卤素灯照射, 其余条件同上。

(3) 无光照但有金红石的实验: 阳极为石墨板上覆盖金红石、碳黑、PTFE(质量比 9:1:1) 制成的涂层, 用锡纸包裹光催化反应箱以保持避光, 无灯光照射, 其余条件同上。

1.4.2 金红石对细菌生长影响及 Fe^{2+} 浓度变化

在 T.f 菌存在的情况下, 也准备了 3 组实验, 对每个实验中细胞浓度和 Fe^{2+} 浓度进行了测量, 来探讨光催化作用对细菌生长的影响, 以及光催化与细菌协同作用对 Fe^{2+} 浓度的影响。

(1) 细菌与金红石的协同作用: 光催化反应箱按上述实验程序准备, 为了防止电极钝化, 每过 24 h 更换一次光催化电极和溶液, 因为根据下文的分析结果, 电池还原铁的能力在前 24 h 是最强的, 之后就会减弱。生化反应箱内装满稀释的 9K 培养基, 取培养 3 d 的菌液 0.5 mL 接入培养基中, 加盖, 留 9 mm² 透气孔。调解冷凝装置使温度保持在 30℃。

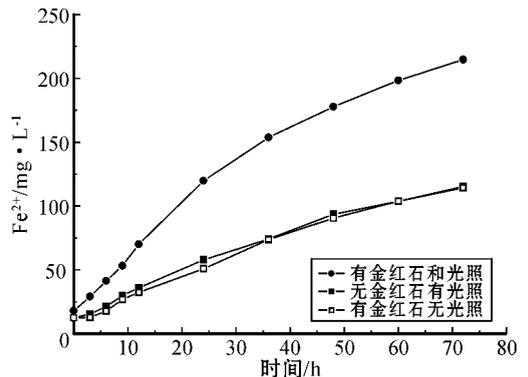
(2) 细菌单独作用: 只在生化培养箱内装满稀释的 9K 培养基, 取培养 3 d 的菌液 0.5 mL 接入培养基中, 加盖, 留 9 mm² 透气孔。温度保持在 30℃。

(3) 空白实验: 生化培养箱内不接种细菌, 其余条件与(2)相同。

2 结果与讨论

2.1 金红石光催化作用还原 Fe^{3+}

图 5 反映了不同条件下 Fe^{3+} 的还原情况, 可以看出 ①有金红石和光照时对 Fe^{3+} 具有明显的还原效果, 说明发生了光催化反应。在 72 h 内, 光催化反应可以将 Fe^{2+} 浓度从 17.96 mg/L 提高到 214.66 mg/L, 增加了 12 倍。而在另外两个对比实验中在 72 h 内 Fe^{2+} 还原的速度相对缓慢, ②可以将 Fe^{2+} 浓度从 12.62 mg/L 提高到 115.29 mg/L; ③可以将二价铁的浓度从 12.59 mg/L 提高到 114.21 mg/L, 都只相当于光催化反应速度的一半。说明在无金红石或无光照的条件下, 系统只存在单纯的原电池反应, 而不能完成光催化反应。另外, ②和③的结果较为接近, 说明除光催化以外, 其他因素对装置还原铁速度的影响差别较小。

图5 金红石光催化作用还原 Fe^{3+} Fig. 5 Fe^{3+} reduction by photocatalysis of rutile

从反应速度来看, 前 24 h 光催化反应的速度较快, 达到约 101.8 mg/L, 此后逐渐减缓。一方面可能是由于光催化产物吸附在金红石颗粒上导致电极钝化, 另一方面可能是由于抗坏血酸不断减少和 Fe^{2+} 不断增加, 导致化学反应速率降低。空白实验也有类似的趋势, 但不如光催化实验明显。

总的看来, 光催化还原 Fe^{3+} 的速率约为无光催化条件下速率的两倍。该实验说明, 在装置体系中, 光催化作用会产生光生电流, 从而促进 Fe^{3+} 的还原,

表明天然金红石具有良好的光催化还原性。

2.2 金红石光催化作用对细菌生长的影响

如前面的实验结果所显示,一方面金红石光催化作用将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} ,另一方面细菌的代谢作用又将 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} 。在此基础上,本节实验将要探讨:当这两种作用同时存在时,会对细菌的生长和体系中的铁浓度产生何种影响,以及细菌如何通过铁离子这种介体来利用光生电子。

由于上述光催化还原 Fe^{3+} 的速度 ($101.8 \text{ mg/L} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$) 小于正常情况下细菌氧化 Fe^{2+} 的速度 ($2015.2 \text{ mg/L} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$),为了使氧化和还原作用接近平衡,需要将细菌的浓度保持在较低的水平,以使氧化速率降低。同时,为了突出不同条件下实验效果差别,需要给细菌一定的生长压力,所以在本节实验中采用稀释的 9K 培养基,即将所有成分浓度减半 (Fe^{2+} 浓度 38.6 mg/L)。在这种培养基中细菌生长减缓,生长周期延长。

实验结果如图 6 所示,在金红石的光催化作用下,细菌的细胞浓度明显大于没有光催化作用时的浓度,到 96 h (1) 的细胞浓度已达到 $160 \times 10^6/\text{mL}$,而 (2) 的细胞浓度仍然维持在很低水平,为 $1.5 \times 10^6/\text{mL}$,不到前者的 1%。

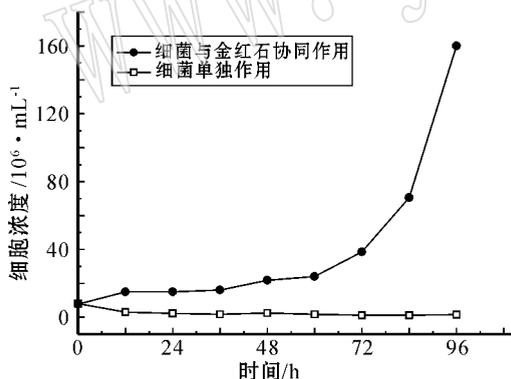


图 6 细菌在装置中的生长曲线

Fig. 6 The growth curve of T. f in the device

从 96 h 内的生长情况来看 (2) 中细菌浓度基本没有变化,处于 $1.25 \times 10^6/\text{mL}$ 和 $2.5 \times 10^6/\text{mL}$ 之间,表明细菌对生长环境适应缓慢。而 (1) 中细菌浓度在 60 h 前平稳增长,在 60 h 后进入指数期,开始高速增长,96 h 细胞浓度已经达到接种浓度的约 20 倍。

可见,光催化作用不仅促进了细胞的生长,同时也引起了细胞对数生长期的延长。本来细胞的对数生长期为 24 h,而在此实验中细胞的对数生长期至

少达到 36 h,并很可能继续延长,因为还有 415.8 mg/L 的 Fe^{2+} 未被消耗。

这些实验结果与电解刺激培养的多数实验研究结果相吻合,在电解刺激培养实验中,细胞浓度一般会比常规浓度高 3~50 倍 (Yunker and Radovich, 1986; Nakasono *et al.*, 1997; Matsumoto *et al.*, 1999) 细胞的对数生长期可以达到常规实验的 3 倍 (Matsumoto *et al.*, 1999)。但由于不同实验中细菌的生长环境不同,如本实验中细菌生长环境恶劣,生长压力很大,故在一些参数的定量数值方面会存在差别。

2.3 金红石与细菌协同作用对 Fe^{2+} 浓度的影响

图 7 反映了不同条件下 Fe^{2+} 浓度的变化。先看空白实验 (3),在 96 h 内 Fe^{2+} 浓度仅下降了约 57 mg/L ,变化量只占总量的 2.6%,也说明在该体系中,氧气等对 Fe^{2+} 的氧化速度较为缓慢。

再看细菌单独生长的实验 (2),由于生长环境中缺乏 Fe^{2+} ,整个实验期内细菌生长缓慢。对 Fe^{2+} 的氧化作用也比较微弱,平均氧化速度约为 $58.5 \text{ mg/L} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$,低于光催化还原 Fe^{3+} 的速度。在 96 h 内, Fe^{2+} 浓度只下降了 234 mg/L ,占总量的 10.8%,去除氧气的氧化作用,微生物所引起的氧化仅占约 8%。

最后看细菌与金红石协同作用下的实验 (1),曲线 (1) 显示 Fe^{2+} 浓度发生了强烈下降,这是由细菌的大量繁殖所造成的。 Fe^{2+} 浓度在 96 h 内下降了 1720 mg/L ,占总量的 80.5%。从 60 h 开始 Fe^{2+} 的消耗速度加快,此与细菌进入对数生长期相对应。

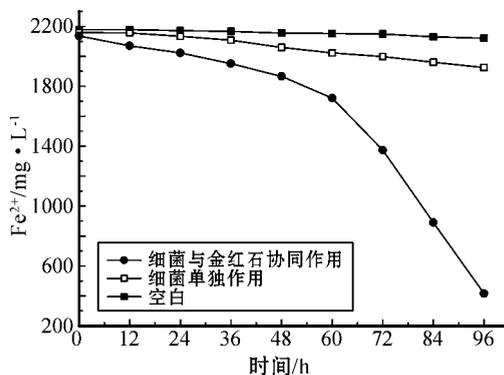


图 7 不同条件下 Fe^{2+} 浓度变化曲线

Fig. 7 Change of $[\text{Fe}^{2+}]$ under different conditions

金红石光催化还原 Fe^{3+} 的效果从图 6 中并不能直接看出。似乎在金红石光催化作用影响下, Fe^{2+} 浓度反而下降得更快,这其实是由于细胞氧化 Fe^{2+}

的速度过快造成的。尽管在低细胞浓度的情况下，细菌单独氧化 Fe^{2+} 的速度甚至不如单独光催化还原 Fe^{3+} 的速度，但是随着细胞浓度的快速上升，细菌氧化 Fe^{2+} 的作用迅速超过了金红石光催化还原 Fe^{3+} 的作用。由于本实验装置并不能像电解刺激培养那样控制电流，使得 Fe^{3+} 还原的速度并不能总是与 Fe^{2+} 氧化速度相匹配。

2.4 单位细菌耗 Fe^{2+} 量计算

为了定量研究金红石光催化还原 Fe^{3+} 对细菌生长的影响，分别计算了细菌单独作用下和金红石光催化与细菌协同作用下单位细菌氧化 Fe^{2+} 的量(图 8)。如果光催化作用确实发生，那么铁就可以通过光催化还原作用被细菌循环使用，从而单位细菌氧化铁的量就会低于空白水平。设单位细菌氧化 Fe^{2+} 的量为 F_n ，则 F_n 的计算方法为： $F_n = \Delta[Fe^{2+}]_n / \text{细胞浓度}_n = ([Fe^{2+}]_n - [Fe^{2+}]_{n-1}) / \text{细胞浓度}_n$ ，其中(12 h, $m=1$; 24 h, $n=2$; 依次类推)，即 F_n 等于从第 $n-1$ 个到第 n 个时间段内，由细菌引起的氧化 Fe^{2+} 的量除以细胞的量。这个公式基于一定生长时期内每个细胞氧化 Fe^{2+} 的速度相等的假设。

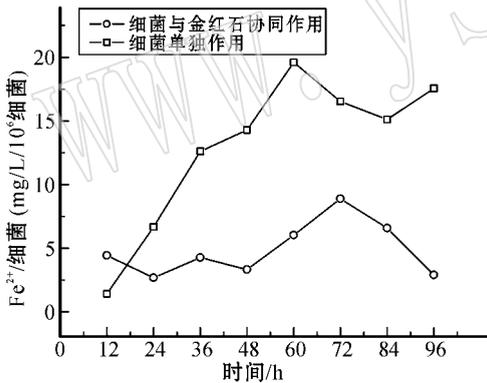


图 8 细菌单独作用及金红石与细菌协同作用中单位细菌氧化 Fe^{2+} 的量对比

Fig. 8 The utilization of Fe^{2+} by unit cell with or without photocatalysis

由细菌引起的 Fe^{2+} 氧化量可以通过实测 Fe^{2+} 浓度的变化量，减去空气中 O_2 等引起的对 Fe^{2+} 氧化的量得出，在细菌单独生长实验中， $\Delta[Fe^{2+}]_n$ 的计算为： $\Delta[Fe^{2+}]_n \text{ 细菌单独作用} = \Delta[Fe^{2+}]_n \text{ 细菌单独作用} - \Delta[Fe^{2+}]_n \text{ 空白} = ([Fe^{2+}]_n \text{ 细菌单独作用} - [Fe^{2+}]_{n-1} \text{ 细菌单独作用}) - ([Fe^{2+}]_n \text{ 空白} - [Fe^{2+}]_{n-1} \text{ 空白})$ 则： $F_n \text{ 细菌单独作用} = \frac{([Fe^{2+}]_n \text{ 细菌单独作用} - [Fe^{2+}]_{n-1} \text{ 细菌单独作用}) - ([Fe^{2+}]_n \text{ 空白} - [Fe^{2+}]_{n-1} \text{ 空白})}{\text{细胞浓度}_n}$

$[Fe^{2+}]_{n-1} \text{ 空白}) / \text{细胞}_n$ ，细菌单独作用。同样可以得到金红石光催化与细菌协同作用实验中的 $F_n : F_n \text{ 协同作用} = \frac{([Fe^{2+}]_n \text{ 协同作用} - [Fe^{2+}]_{n-1} \text{ 协同作用}) - ([Fe^{2+}]_n \text{ 空白} - [Fe^{2+}]_{n-1} \text{ 空白})}{\text{细胞}_n \text{ 协同作用}}$

2.5 细菌利用半导体矿物光生电子能量的机理

本文通过实验实现了这样一种能量转换，即光能→电能→生物能，半导体矿物、 Fe^{2+}/Fe^{3+} 分别在能量转换中起到了中介的作用，来自太阳光的能量通过这些中介最终被细菌利用，而细菌本身并没有光和作用的机制。从宏观的能量转换途径来看，本文实验的原理可以通过图 9 来表示。

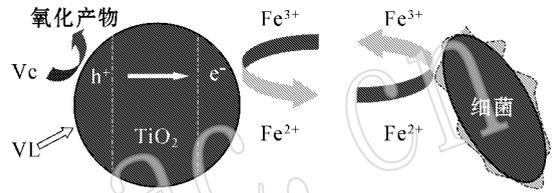


图 9 本文实验原理图示

Fig. 9 Principle of the experiment

如图 9，半导体矿物受到太阳光照射后产生空穴与电子的分离，光生空穴被 Vc 捕获，光生电子被 Fe^{3+} 捕获形成 Fe^{2+} ， Fe^{2+} 将电子传递给细菌后又被氧化成 Fe^{3+} ，这样铁离子起到了电子载体的作用，可以将电子不断从半导体矿物传递给细菌，为细菌提供了新陈代谢的能量。

从微观的电子传递途径来看，细菌的电子传递链得到了扩展，即从细胞内的有机电子载体扩展到细胞外的无机电子载体 Fe^{2+}/Fe^{3+} ，再进一步扩展到光生电子的载体金红石，与 Quatrini 等(2006)提出的电子传递链相比，本文提出的电子传递链多出了两个环节，其模式如图 10 所示这种电子传递链的扩展使细菌能够利用来自于不同形式的能量，极大增强了细菌对环境的适应能力。即使在营养缺乏的恶劣环境中，只要有半导体矿物存在，细菌仍然可能通过光催化的途径获得能量。

在自然界中，可以利用太阳光实现能量转换的半导体矿物有数十种(鲁安怀, 2003)，包括各种金属氧化物和硫化物。而可以作为细胞外电子载体的物质又包括 Fe^{2+}/Fe^{3+} 、 Mn^{2+}/Mn^{4+} 等无机离子以及包括许多天然色素和细胞代谢产物在内的有机物，这些载体已经成功地应用于微生物燃料电池中(Tanaka, 1983; Doong and Schink, 2002; Park and

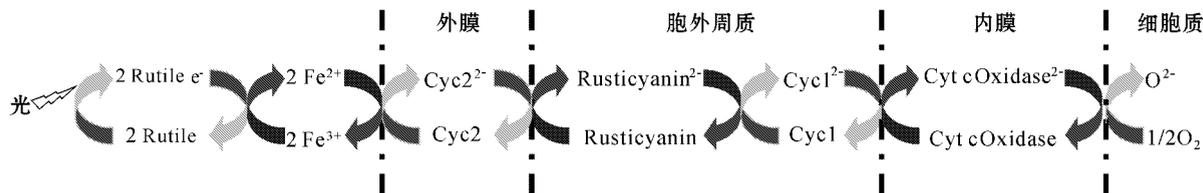


图 10 一种新的电子传递链模式

Fig. 10 A new electron transportation chain model

Zeikus, 2003; Fuyuki *et al.*, 2005; Sabina *et al.*, 2006)。可以作为半导体空穴捕获剂的物质同样包括众多的有机物和无机物, 不难想象, 这种微生物与半导体矿物的能量交互作用可能通过自然界中类似于本实验装置的天然结构而广泛存在, 一旦得到实证检验, 将极大地扩展人们对于自然进程中能量作用的认识。

3 结论

(1) 除了多数文献报道的光催化杀菌的性质以外, 金红石的光催化作用也可以显著促进细菌的生长。

(2) 金红石的光催化作用延长了细菌的电子传递链, 使铁细菌可以利用光生电子作为新陈代谢的能量, 这是细菌利用能量的一种新的方式。

(3) 通过金红石、 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 和细菌的作用, 可以实现光能→电能→化学能→生物能的转换。

References

- Andrés Y, Gaël B and Violaine B. 2002. Cytochromes C of *Acidithiobacillus ferrooxidans* [J]. FEMS Microbiology Letters, 209(2): 189~195.
- Appia-Ayme C, Bengrine A, Cavazza C, *et al.* 1998. Characterization and expression of the co-transcribed *cyc1* and *cyc2* genes encoding the cytochrome c4 (c552) and a high-molecular-mass cytochrome c from *Thiobacillus ferrooxidans* ATCC 33020 [J]. FEMS Microbiology Letters, 167(2): 71~177.
- Bengrine A, Guiliani N, Appia-Ayme C, *et al.* 1998. Sequence and expression of the rusticyanin structural gene from *Thiobacillus ferrooxidans* ATCC33020 strain [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression, 1443(1~2): 99~112.
- Blake R C and Shute E A. 1994. Respiratory enzymes of *Thiobacillus ferrooxidans*. kinetic properties of an acid stable iron: rusticyanin oxidoreductase [J]. Biochemistry, 33: 9220~9228.
- Blake R C, Shute E A, Waskosky J, *et al.* 1992. Respiratory components in acidophilic bacteria that respire on iron [J]. J. Geomicrobiol., 10: 173~179.
- Bruschi M, Cavazza C and Giudici-Ortoniconi M T. 1996. Biooxidation de minéraux sulfurés et dissolution de métaux par la bactérie acidophile: *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. Déchets, 4: 27~30.
- Cavazza C, Guigliarelli B, Bertrand P, *et al.* 1995. Biochemical and EPR characterization of high potential iron-sulfur protein in *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. FEMS Microbiol. Lett., 130: 193~200.
- Colmer A R and Temple K L. 1951. The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium: *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. J. Bacteriol., 62: 605~611.
- Doong R A and Schink B. 2002. Cysteine-mediated reductive dissolution of poorly crystalline iron(III) oxides by *Geobacter sulfurreducens* [J]. Environ. Sci. Technol., 36: 2939~2945.
- Fujishima A and Honda K. 1972. Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode [J]. Nature, 238: 37~38.
- Fukumori Y, Yano T, Sato A, *et al.* 1988. FeII oxidizing enzyme purified from *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. FEMS Microbiol Lett., 20: 169~172.
- Fuyuki Sato, Makoto Togo, Mohammed Kamrul Islam, *et al.* 2005. Enzyme-based glucose fuel cell using Vitamin K3-immobilized polymer as an electron mediator [J]. Electrochemistry Communications, 7: 643~647.
- Harrenga A and Michel H. 1999. The cytochrome c oxidase from *Paracoccus denitrificans* does not change the metal center ligation upon reduction [J]. Journal of Biological Chemistry, 274: 33296~33299.
- He Beiping, Wang Zhansheng and Zhang Xihui. 1993. Study actuality and development of photocatalytic oxidation organic substance with semiconductor [J]. Environmental Science, 15(3): 80~83 in Chinese with English abstract).
- Jones R A, Koval S F and Nesbitt H W. 2003. Surface alteration of arsenopyrite (FeAsS) by *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 67(5): 955~965.
- Kai M, Yano T, Fukumori Y, *et al.* 1989. Cytochrome oxidase of an acidophilic iron-oxidizing bacterium, *Thiobacillus ferrooxidans*, functions at pH 3.5 [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2: 839~843.
- Kai M, Yano T, Tamegai H, *et al.* 1992. *Thiobacillus ferrooxidans* cytochrome c oxidase: purification, and molecular and enzymatic features [J]. Journal of Biological Chemistry, 112: 816~821.
- Kusano T, Takeshima T, Sugawara K, *et al.* 1992. Molecular cloning

- of the gene encoding *Thiobacillus ferrooxidans* Fe(II) oxidase [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 267: 11 242~11 247.
- Li Ning, Lu Anhuai, Qinshan, *et al.* 2003. Mineralogical characteristics of natural vanadiferous rutile gestating photocatalytic activity [J]. *Acta Petrologica et Mineralogica*, 22(4): 332~338(in Chinese with English abstract).
- Liu Juan, Lu Anhuai, Guo Yanjun, *et al.* 2003. An experimental study on the modification of natural vanadiferous rutile by heating, quenching and electron irradiation [J]. *Acta Petrologica Et Mineralogica*, 22(4): 339~344(in Chinese with English abstract).
- Lu Anhuai. 2003. Mineralogical photocatalysis in natural self-purification of inorganic minerals [J]. *Acta Petrologica et Mineralogica*, 22(4): 323~331(in Chinese with English abstract).
- Lu Anhuai, Guo Yanjun, Liu Juan, *et al.* 2004. Photocatalytic effect of nature and modified V-bearing rutile [J]. *Chinese Science Bulletin*, 49(21): 2 284~2 287(in Chinese with English abstract).
- Matsumoto N, Nakasono S, Ohmura N, *et al.* 1999. Extension of logarithmic growth of *Thiobacillus ferrooxidans* by potential controlled electrochemical reduction of Fe(III) [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 64(6): 716~721.
- Matthieu N, Patrice B, Elisabeth L, *et al.* 2006. Structural analysis of the HiPIP from the acidophilic bacteria: *Acidithiobacillus ferrooxidans* [J]. *Extremophiles*, 10(3): 191~198.
- Nakasono S, Matsumoto N and Saiki S. 1997. Electrochemical cultivation of *Thiobacillus ferrooxidans* by potential control [J]. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 43(1): 61~66.
- Natarajan K A. 1992. Effect of applied potentials on the activity and growth of *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. *Biotechnol Bioeng*, 39: 907~913.
- Park D H and Zeikus J G. 2003. Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 81(3): 348~355.
- Pogliani C and Donati E. 2000. Immobilisation of *Thiobacillus ferrooxidans*: importance of jarosite precipitation [J]. *Process Biochemistry*, 35(9): 997~1 004.
- Quatrini R, Appia-Ayme C, Denis Y, *et al.* 2006. Insights into the iron and sulfur energetic metabolism of *Acidithiobacillus ferrooxidans* by microarray transcriptome profiling [J]. *Hydrometallurgy*, 83: 263~272.
- Rojas-Chapana J A and Tributsch H. 2001. Biochemistry of sulfur extraction in bio-corrosion of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. *Hydrometallurgy*, 59(2~3): 291~300.
- Sabina T and Shelley D M. 2006. Development of a membraneless ethanol/oxygen biofuel cell [J]. *Electrochimica Acta*, 51(11): 2 168~2 172.
- Tamegai H, Kai M, Fukumori Y, *et al.* 1994. Two membrane-bound c-type cytochromes of *Thiobacillus ferrooxidans*: Purification and properties [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 119(1~2): 147~153.
- Tanaka K, Vega C A and Tamamushi R. 1983. Thionine and ferric chelate compounds as coupled mediators in microbial fuel cells [J]. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 11(4~6): 289~297.
- Taya M, Shiraishi H, Katsunishi T, *et al.* 1991. Enhanced cell density culture of *Thiobacillus ferrooxidans* in membrane-type bioreactor with electrolytic reduction unit for ferric ion [J]. *J. Chem. Eng. Jpn.*, 24: 291~296.
- Wu Xian and Zhang Jian. 2006. Geographical distribution and characteristics of Titanium resources in China [J]. *Titanium Industry Progress*, 23(6): 8~12(in Chinese with English abstract).
- Yamanaka T, Yano T, Kai M, *et al.* 1991. The electron transfer system in an acidophilic iron-oxidizing bacterium [A]. Mukohata Y. *New Era of Bioenergetics* [C]. Academic Press, 223~246.
- Yunker S B and Radovich J M. 1986. Enhancement of growth and ferrous iron oxidation rates of *T. ferrooxidans* by electrochemical reduction of ferric iron [J]. *Biotechnol Bioeng*, 28: 1 867~1 875.
- Zhou Shungui, Zhou Lixiang and Huang Huanzhong. 2002. Removal of heavy metals from sewage sludge by bioleaching [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 22(1): 125~133(in Chinese with English abstract).
- Zeng Jia, Geng Meimei, Liu Yuandong, *et al.* 2007. Expression, purification and molecular modelling of the Iro protein from *Acidithiobacillus ferrooxidans* Fe-1 [J]. *Protein Expression and Purification*, 52(1): 146~152.

附中文参考文献

- 贺北平, 王占生, 张锡辉. 1993. 半导体光催化氧化有机物的研究现状及发展趋势 [J]. *环境科学*, 15(3): 80~83.
- 李 宁, 鲁安怀, 秦 善, 等. 2003. 孕育光催化活性的天然含钒金红石矿物学特征 [J]. *岩石矿物学杂志*, 22(4): 332~338.
- 刘 娟, 鲁安怀, 郭延军, 等. 2003. 天然含钒金红石加热、淬火及电子辐射改性实验研究 [J]. *岩石矿物学杂志*, 22(4): 339~344.
- 鲁安怀. 2003. 无机界矿物天然自净化功能之矿物光催化作用 [J]. *岩石矿物学杂志*, 22(4): 323~331.
- 鲁安怀, 郭延军, 刘 娟, 等. 2004. 天然含钒金红石: 一种用于降解卤代有机污染物的光催化剂 [J]. *科学通报*, 49(21): 2 284~2 287.
- 吴 贤 健. 2006. 中国的钛资源分布及特点 [J]. *钛工业进展*, 23(6): 8~12.
- 周顺桂, 周立祥, 黄焕忠. 2002. 生物淋滤技术在去除污泥重金属的应用 [J]. *生态学报*, 22(1): 125~133.