

水溶性有机物的电子穿梭功能研究

许伟^{1,2}, 胡佩¹, 周顺桂^{2*}, 李晓敏², 李艳红¹

(1. 四川师范大学化学与材料科学学院, 成都 610066; 2. 广东省生态环境与土壤研究所, 广东省农业环境综合治理重点实验室, 广州 510650)

摘要:以源于污泥的 DOM(dissolved organic matter)为供试材料,以中国希瓦氏菌(*Shewanella cinica*)D14^T为电子转移驱动力,研究了 DOM 的氧化还原性能与电子穿梭功能.结果表明,污泥 DOM 可作为末端电子受体接受醌还原菌 D14^T呼吸链上的电子,从而转变为还原态 DOM,而还原态 DOM 可将电子再次转移给 Fe(Ⅲ).经 D14^T还原后,DOM 电子供给量(e^-/C)由初始 2.2~14 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 增加到 253~347 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$.循环伏安法与多次还原-氧化循环实验表明,DOM 呈现 2 对明显的氧化还原峰,经 3 次还原-氧化循环后电子供给量可稳定维持在 150~250 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,说明 DOM 具有重复利用、反复转移电子的特性.在菌株 D14^T还原水铁矿的体系中,加入 DOM 可提高水铁矿的还原溶解速率,其原因是 DOM 在 D14^T与水铁矿之间充当了电子穿梭体的角色.这些结果反映了 DOM 在电子转移反应中的重要性,为 DOM 的环境属性提出了一个新见解.

关键词:水溶性有机物;中国希瓦氏菌 D14^T;氧化还原性;电子穿梭功能

中图分类号:X172; X13 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2009)08-2297-05

Electron Shuttling Function of Dissolved Organic Matter

XU Wei^{1,2}, HU Pei¹, ZHOU Shun-gui², LI Xiao-min², LI Yan-hong¹

(1.College of Chemistry and Materials Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610066, China; 2.Guangdong Key Laboratory of Agricultural Environment Pollution Integrated Control, Guangdong Institute of Eco-Environment and Soil Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: The redox reactive and electron shuttling function of dissolved organic matter (DOM) derived from sewage sludge were studied with *Shewanella cinica* D14^T as driving force of electron transfer. The results indicated that sludge DOM initially served as terminal electron acceptor obtaining electrons from the respiratory chain of quinone-reducing bacteria D14^T, then it translated to reduced DOM which can donate electrons to Fe(Ⅲ) again. The electron donating capacities (EDC) of DOM increased from initial capacity of 2.2-14 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ to 253-347 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ after DOM was reduced by D14^T. The cyclic voltammetry measurements and multiple reduction-oxidation cycles experiments of DOM showed that two pairs of redox peaks were clearly observed and the EDC remained at a level of 150-250 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ after three reduction-oxidation cycles, indicating that DOM can be recyclably used for electron transfer. In the system of hydrous ferric oxide (HFO) reduction by *S. cinica* D14^T, the reductive dissolution speed was improved with the presence of DOM, since that DOM was capable of acting as an electron shuttle between *S. cinica* D14^T and HFO. These results demonstrate the important role of DOM in electron transfer process, and bring out a new perspective about the functions of DOM in the environment.

Key words: dissolved organic matter(DOM); *Shewanella cinica* D14^T; redox reactive; electron shuttling function

水溶性有机物(dissolved organic matter, DOM)通常是操作上的定义,它是指物料经水浸提后,能通过 0.45 μm 的滤膜,具有不同结构和分子量大小的有机物的连续体或混合体^[1],它既包含低分子量的游离氨基酸、糖类、有机酸,也包括大分子量的腐殖质、氨基糖和多酚等.DOM 是陆地生态系统中极为活跃的有机组分,不仅显著影响重金属、养分元素与有机污染物的活化、迁移和生态毒性,而且与矿物风化、成土过程以及土壤有机质分解转化等重要过程密切相关^[2].

长期以来,有关 DOM 的研究集中于吸附与络合属性,重点是它对重金属和有机污染物迁移扩散的影响^[3~5].但最近 DOM 的氧化还原属性逐渐成为研究热点.2007 年, Bauer 等^[6]首先提出 DOM 作为氧化还原缓冲剂的概念,采用化学还原剂(金属 Zn 和

H₂S)与氧化剂(络合态三价铁),分别测定了电子接受量(electron accepting capacities, EAC)和电子供给量(electron donating capacities, EDC),以及这一过程中电子转移能力.结果表明,以腐殖质为模型物的 DOM 溶液的氧化还原缓冲范围为 -0.9 ~ +1.0 V.荧光光谱^[7]、电子自旋共振光谱^[8]和电化学^[9]等方法研究表明,DOM 的氧化还原性主要是由于 DOM 结构中普遍存在的醌基.近年来研究表明,自然界中普遍存在一类醌还原菌(又称腐殖质还原菌),它是一类以腐殖质中的醌基作为唯一末端电子受体,进

收稿日期:2008-09-20;修订日期:2008-11-13

基金项目:国家自然科学基金项目(40601043, 20777013)

作者简介:许伟(1982~),男,硕士研究生,主要研究方向为环境微生物与环境生态, E-mail: xuwei20070331@126.com

* 通讯联系人, E-mail: sgzhou@soil.gd.cn

行厌氧胞外呼吸的微生物^[10].它们可以多种有机物(如有机酸、糖类等)为电子供体,将电子传递链上的电子传给腐殖质中的醌基,醌基再将电子传给其他电子受体(如铁氧化物),从而驱动电子转移^[11,12].

本研究以 1 株醌还原菌——中国希瓦氏菌(*Shewanella cinica*)D14^[13]作为电子转移驱动力,考察了 DOM 被 D14^T 菌株还原后的电子供给量(EDC),测定 DOM 的氧化还原活性,以及 DOM 对 D14^T 还原难溶性铁氧化物的影响,以期为进一步分析 DOM 在元素循环、污染物的降解以及生物地球化学电子转移反应中的作用提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 DOM 的提取

取一定体积广州某污水处理厂浓缩污泥(含固率 3.28%),在 4℃下,13 000 r/min 离心 20 min,上清液过 0.45 μm 滤膜,滤液中的有机物即为 DOM(相关性质见表 1),其 pH 由 pH 计测得,浓度以水溶性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)表示,由 TOC 仪

(TOC-V CPH, 岛津)测定,然后用超纯水将 DOM 的浓度(以 C 计,下同)稀释到 100 mg•L⁻¹,避光冷藏备用.SUVA 值是 UV₂₅₄ 与 DOC 的比值,该值可表征 DOM 的分子量大小、芳构化或腐殖化程度.

1.2 污泥 DOM 的电子供给量测定

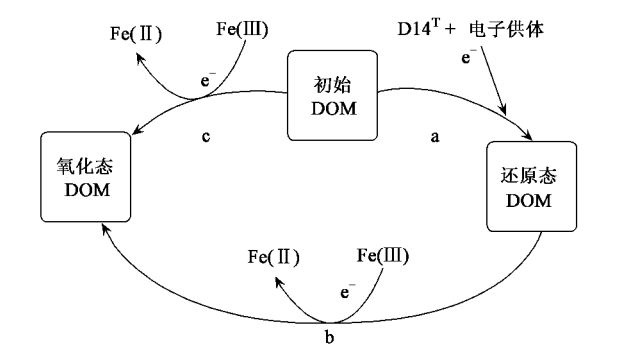
EDC 是指 DOM 作为电子供体可提供的电子数量.通过测定其对 Fe(Ⅲ)净还原量,计算每 g 有机碳(DOC)所转移的电子数(e⁻/C),e⁻/C 的单位: μmol•g⁻¹.为了描述 DOM 电子转移过程,本研究将 D14^T 转移电子至 DOM 的过程定义为 DOM 还原阶段;DOM 转移电子给 Fe(Ⅲ)定义为 DOM 氧化阶段(图 1).氧化阶段又分 2 种情况:①初始电子供给量,即 DOM 提取后未被空气氧化直接还原 Fe(Ⅲ)所测得的量;②潜在电子供给量,即初始 DOM 被微生物还原后,还原态 DOM 将电子转移给 Fe(Ⅲ)所测得的量.实验选用中国希瓦氏菌 D14^T,因为其厌氧条件下可以利用多种有机酸盐和甲苯等污染物作为电子供体,以腐殖质作为唯一末端电子受体进行厌氧呼吸^[13].

表 1 污泥 DOM 相关性质¹⁾

Table 1 Some properties of sludge DOM

DOM 来源	pH	DOC/mg•L ⁻¹	Fe/μg•L ⁻¹	Mn/μg•L ⁻¹	Zn/μg•L ⁻¹	Ni/μg•L ⁻¹	Cu/μg•L ⁻¹	SUVA _{254 nm} /L•mg ⁻¹
污泥	7.13	788	2482	410	88.5	33	15.9	0.038

1) Fe、Mn、Zn、Ni、Cu 浓度是由 ICP-AES 测得



a 代表 DOM 还原阶段, b 和 c 代表 DOM 氧化阶段
图 1 DOM 还原-氧化过程中电子转移示意
Fig.1 Electron transfer schematic for reduction-oxidation process of DOM

在牛肉膏蛋白胨液体培养基中培养过夜的菌液于 4℃下,6 000 r/min 离心收集菌体,用已灭菌去离子水洗涤菌体 2 次,然后重悬于其中制成菌悬液,并用梯度稀释平板计数法计数(个/mL).在无菌操作台,往 20 mL 西林瓶(含 9 mL 无菌去离子水)加入菌悬液(10⁹个/mL)、乳酸盐(电子供体)和 DOM,控制处

理未加电子供体,最终溶液总体积 15 mL,3 个平行,充氮气(99.99%)15 min,压盖蔽光 30℃恒温培养(24 ± 1) h,这称为 DOM 还原阶段.

DOM 电子供给量(EDC)的测定参考了 Lovley 等^[11]和 Heitmann 等^[14]实验方法,并进行了相应修改.2 mL 0.1 mol•L⁻¹ 乙酸钠缓冲液[含 0.5 mmol•L⁻¹ FeCl₃ 或 Fe(citrate),缩写为 FeCi],pH 5.87,先通氮气 15 min 去氧,然后在 Bactron- I 型厌氧工作站内(N₂:CO₂ 体积比为 80:20,美国 shellab)加入 2 mL 还原态 DOM 滤液(过 0.2 μm 膜),2 个平行,控制处理不加 FeCl₃ 或 FeCi,空白不加 DOM 滤液,压盖放入摇床 220 r/min,蔽光 30℃恒温培养(24 ± 1) h,这称为 DOM 氧化阶段.采用邻菲罗啉分光光度法测定溶液中 Fe²⁺ 浓度^[15].0.1% 邻菲罗啉预先通氮气 30 min 去氧,厌氧下每个样品注射 4 mL 邻菲罗啉,显色 10 min 后,510 nm 下比色(TU-1800PC 型紫外可见分光光度计).净产生的 Fe²⁺ 量可由下式求得:

$$C_{Fe^{2+}} = C_{FeCl_3/FeCi} - c_{control} - c_{blank}$$

(1)

1.3 污泥 DOM 还原-氧化循环过程测定

1.3.1 微生物方法

DOM在相同的条件下,进行重复的还原-氧化反应,以还原态 DOM 的 EDC 来表征.首先,DOM($30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)被 D14^{T} 还原,还原态 DOM 在厌氧下过滤,部分样品滤液测其 EDC(方法同 1.2),剩下样品的滤液通无菌的空气 30 min,使还原态 DOM 转变为氧化态 DOM;然后重新加入菌和电子供体,充氮气 15 min,压盖培养,DOM 再次被还原,厌氧下过滤 DOM,部分样品滤液测其 EDC,剩下样品的滤液通无菌的空气 30 min;接着再次重新加入菌和电子供体,充氮气 15 min,压盖培养,厌氧下过滤 DOM,测其 EDC.

1.3.2 循环伏安法(cyclic voltammetry, CV)

在 CHI605C 电化学分析仪(上海辰华仪器公司)上测定,采用三电极体系电解槽.测试条件:电解质为 $1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaClO}_4$,溶剂为二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO),工作电极为直径 3.0 mm 的 Pt 圆柱,辅助电极铂丝,参比电极 $\text{Ag}/\text{AgCl}^{[9]}$. DOM 溶液冷冻干燥后溶于二甲基亚砜.具体步骤参考文献[9].

1.4 污泥 DOM 对 D14^{T} 还原难溶性铁氧化物的影响

水铁矿溶液^[16](pH 7.0,终浓度 $12\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 121°C 湿热灭菌 20 min)加入 D14^{T} 菌悬液(10^8 个/mL)、乳酸盐和 DOM,空白即水铁矿溶液,控制处理不加 DOM 或不加乳酸盐,充 N_2 15 min 后压盖, 30°C 恒温避光培养,定时取样测定 $\text{Fe}(\text{II})$.采用邻菲罗啉分光光度法测定溶液中 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度,先用 $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ HCl}$ 提取^[17],放摇床 220 r/min, 90 min,过滤,显色 10 min 后,510 nm 下比色.

2 结果与讨论

2.1 污泥 DOM 的电子供给量

图 2 反映了污泥 DOM 经 D14^{T} 菌株还原前后的电子供给能力.初始 EDC 是 DOM 直接作为电子供体,不进行微生物还原,所测得电子供给量.DOM 初始 EDC 很小,说明 DOM 初始状态以氧化态为主.潜在 EDC 是指污泥 DOM 从 D14^{T} 菌株电子呼吸链上获得电子成为还原态,然后还原态 DOM 再转移电子给可溶的 $\text{Fe}(\text{III})$,测得电子供给量.在没有外加电子供体(乳酸盐)下, D14^{T} 的加入提高了污泥 DOM 的 EDC 值,由初始 $2.2\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $14\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 增加到 $247\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $159\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$,分别为 FeCl_3 和 FeCl_2 所测结果,EDC 的增加可能是 DOM 中存在一些小分子物质(如有机酸、氨基酸等)被菌利用^[18].在

D14^{T} 和乳酸盐同时存在下,DOM 潜在 EDC 比未加电子供体(只有菌)的要多 40.5% (FeCl_3 测得)和 59.2% (FeCl_2 测得),说明 D14^{T} 可以转移电子给 DOM,DOM 接受电子后可再次转移出来,且在这一电子转移过程中 D14^{T} 菌体增加一个数量级(数据未列出),说明 D14^{T} 在转移电子过程中获得能量支持生长.许志诚等^[13]研究也表明, D14^{T} 以乳酸盐为电子供体还原腐殖质过程中可以获得能量支持生长.

从图 2 还可看出,总体上 FeCl_3 测试的结果比 FeCl_2 测试的结果要高很多. FeCl_3 溶解于水后,以水合离子形式存在于溶液中,而 FeCl_2 溶解于水后是以络合形式存在于溶液中. $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 半反应的标准电势为 0.77 V, $[\text{Fe}(\text{citrate})]^{0}/[\text{Fe}(\text{citrate})]^{1-}$ 半反应的电势为 0.391 V,电势高的容易被还原^[19],所以 FeCl_3 中 $\text{Fe}(\text{III})$ 易于被还原,这与测试的结果相符.但初始 EDC 测试的结果正好相反,可能是菌的加入影响了 DOM 或者存在其他作用,需更深入研究.

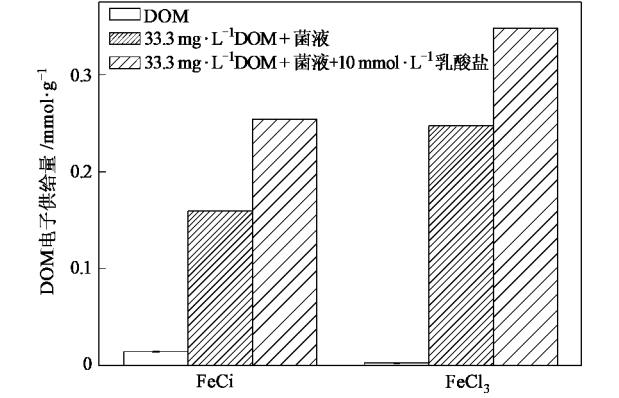


图 2 污泥 DOM 电子供给量

Fig. 2 Electron donating capacities of sludge DOM

2.2 污泥 DOM 的氧化还原性

图 3 为污泥 DOM 在 3 次氧化还原循环过程中的电子供给量.DOM 先被菌株 D14^{T} 还原,然后还原态 DOM 被氧气氧化,在相同的条件下,进行重复的还原-氧化反应,以潜在电子供给量(EDC)来表征.结果表明,污泥 DOM 经历 3 次还原-氧化循环后,潜在 EDC 能稳定维持在 $150\sim 250\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间,说明 DOM 可以被重复利用,反复转移电子.这与 Ratasuk 等^[20]利用氧气(氧化剂)和氢气(还原剂)研究腐殖质氧化还原性的结果相似.

图 4 为 DOM 溶于有机溶剂 DMSO 测得循环伏安图,有 2 对氧化还原峰:氧化峰 A1 和还原峰 C1,氧化峰 A2 和还原峰 C2,即阳极发生 2 次氧化(失电子),阴极发生 2 次还原(得电子).空白扫描显示

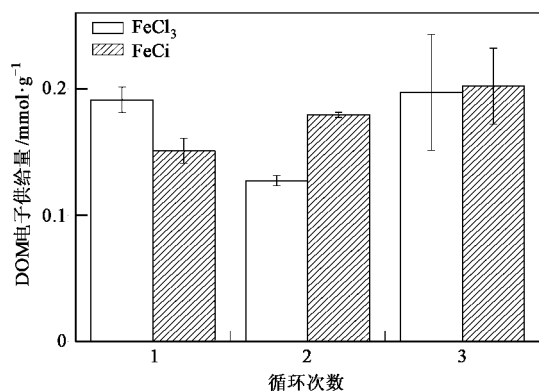


图3 3次还原-氧化循环过程中污泥 DOM 电子供给量

Fig.3 Electron donating capacities of sludge DOM over three reduction-oxidation cycles

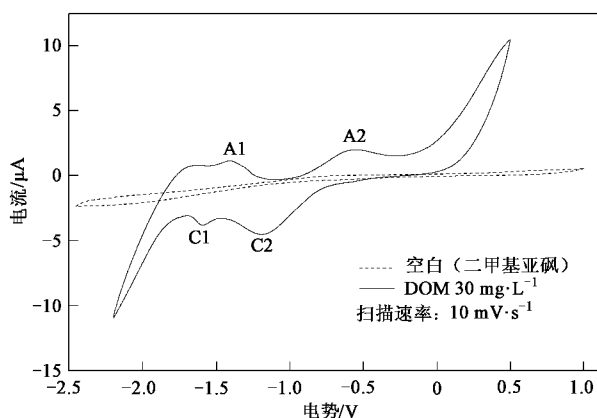


图4 污泥 DOM 循环伏安

Fig.4 Cyclic voltammograms of sludge DOM

DMSO 不产生氧化还原峰,而电解质 NaClO_4 作为导电媒介也不会产生氧化还原峰,所以出现的 2 对氧化还原峰应源于 DOM. Nurmi 等^[9]用循环伏安法测试醌模型物蒽醌-2, 6-二磺酸 (anthraquinone-2, 6-disulfonate, AQDS) 也出现了 2 对氧化还原峰,表示 AQDS 发生相继的单个电子转移,即 $Q + e^- \rightleftharpoons Q^{\cdot-}$, $Q^{\cdot-} + e^- \rightleftharpoons Q^{=}$ (Q 代表醌, $Q^{\cdot-}$ 代表半醌自由基, $Q^{=}$ 代表对苯二酚). 由此可见, DOM 在这一循环中也发生了类似的电子转移.

标准条件下,可逆的电化学反应 CV 呈现阳极和阴极对峰,两峰电势的差 (ΔE_p) 等于 $0.059/n$ V (n 是转移电子数),阳极与阴极的峰电流比 (I_p^A/I_p^C) 接近 1^[21]. A1 与 C1 的 ΔE_p 为 0.181 V, A2 与 C2 的 ΔE_p 为 0.602 V; A1 与 C1 的 I_p^A/I_p^C 为 0.7, A2 与 C2 的 I_p^A/I_p^C 为 0.4. 这些结果表明 $\Delta E_p > 0.059/n$ V, $I_p^A/I_p^C < 1$, 与标准条件下不一致,这可能与 $\text{Fe(II)}\text{-DOM}$

和 $\text{Fe(III)}\text{-DOM}$ 络合物有关. 由表 1 可知污泥 DOM 中铁的含量相对较高. 在阴极扫描时 $\text{Fe(III)}\text{-DOM}$ 络合物被还原,可能引起 $\text{Fe(II)}\text{-DOM}$ 络合物的离解,所以在随后的阳极扫描中铁络合物可能表现出差异,从而不会产生相等强度的电流. 这些结果暗示,除了醌基以外, DOM 中还可能存在其他氧化还原活性基团,如多种氧化态的杂环原子结构 (氮或硫) 和金属有机络合基团^[22].

2.3 污泥 DOM 对菌株 D14^T 还原水铁矿 (hydrous ferric oxide, HFO) 的影响

微生物 Fe(III) 还原不但对铁的生物地球化学循环产生影响,而且对其它的微量元素和营养物质的分布及有机物的降解起着重要的作用. 自然界中 Fe(III) 多以不溶性铁氧化物存在,使得微生物还原铁氧化物的速率很慢. 为了减轻微生物与铁矿物直接接触的需要,氧化还原介体 (电子穿梭体) 的存在就很有必要^[23], 如腐殖质及其模型物 AQDS 等. 以难溶性水铁矿 (HFO) 为电子受体,以乳酸盐为电子供体,研究了 DOM 对菌株 D14^T 还原 HFO 的影响,结果见图 5.

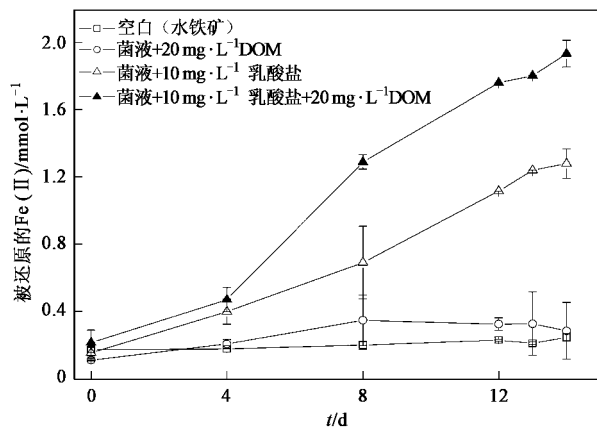


图5 污泥 DOM 对 D14^T 还原水铁矿的影响

Fig.5 Effect of sludge DOM on hydrous ferric oxide reduction by *S. cinica* D14^T

从图 5 可知,只有 D14^T 和 DOM 作用,没有外源电子供体, HFO 有很少量的还原,可能是 DOM 中存在一些小分子物质 (如有机酸、氨基酸) 被 D14^T 利用,与 2.1 结果一致. 在 D14^T 和乳酸盐同时存在下,添加 DOM 有利于加速 HFO 还原,且随反应时间的增加,促进作用越明显,经 14 d 的反应,添加 DOM 处理的 HFO 的还原速率比不添加 DOM (菌液 + 10 mmol·L⁻¹ 乳酸盐) 的高出 51.2%. 由以上实验可知, DOM 具有氧化还原活性,可以反复转移电子,且在

D14^T 还原 HFO 中起到明显的促进作用,说明 DOM 可以从 D14^T 获得电子,然后将电子传递给不溶性的 HFO,从而提高了电子的传递速率,起到氧化还原介体的作用。

3 结论

(1)污泥 DOM 可作为末端电子受体接受醌还原菌 D14^T 呼吸链上的电子,从而转变为还原态 DOM,而还原态的 DOM 可作为电子供体转移电子给 Fe(Ⅲ)。污泥 DOM 初始电子供给量为 2.2 ~ 14 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$,在 D14^T 和乳酸盐的参与下,其潜在电子供给量显著增加到 253 ~ 347 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

(2)污泥 DOM 可经历多次还原-氧化,反复转移电子。循环伏安扫描表明污泥 DOM 存在 2 对氧化还原峰,即阳极发生 2 次氧化(失电子),阴极发生 2 次还原(得电子);多次氧化还原循环实验表明,污泥 DOM 在 3 次还原-氧化循环后电子供给量(EDC)可稳定维持在 150 ~ 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间。

(3)污泥 DOM 可加速 D14^T 菌株对难溶性水铁矿的还原溶解。具体途径为:DOM 从 D14^T 电子呼吸链上获得电子,转变为还原态 DOM,然后还原态 DOM 将电子传递给铁氧化物,自身又变成氧化态,可循环利用,多次转移电子,从而加速铁还原,因而具有电子穿梭功能。

参考文献:

[1] Kalbitz K, Solinger S, Park J H, *et al.* Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review[J]. *Soil Sci*, 2000, **165** (4): 277-304.

[2] 王艮梅,周立祥. 陆地生态系统中水溶性有机物动态及其环境学意义[J]. *应用生态学报*, 2003, **14**(11):2019-2025.

[3] 付美云,周立祥. 垃圾渗滤液水溶性有机物对土壤 Pb 溶出的影响[J]. *环境科学*, 2007, **28**(2):243-248.

[4] Dunnivant F M, Schwarzenbach R P, Macalady D L. Reduction of substituted nitrobenzenes in aqueous solutions containing natural organic matter[J]. *Environ Sci Technol*, 1992, **26**: 2133-2142.

[5] Kappler A, Haderlein S B. Natural organic matter as reductant for chlorinated aliphatic pollutants[J]. *Environ Sci Technol*, 2003, **37**: 2714-2719.

[6] 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**(1): 139-145.

[7] Cory R M, McKnight D M. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter[J]. *Environ Sci Technol*, 2005, **39**: 8142-8149.

[8] Struyk Z, Sposito G. Redox properties of standard humic acids[J]. *Geoderma*, 2001, **102**: 329-346.

[9] Nurmi J T, Tratnyek P G. Electrochemical properties of natural organic matter (NOM), fractions of NOM, and model biogeochemical electron shuttles[J]. *Environ Sci Technol*, 2002, **36**: 617-624.

[10] Van Trump J I, Sun Y, Coates J D. Microbial interactions with humic substances[J]. *Adv Appl Microbiol*, 2006, **60**:55-96.

[11] 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.

[12] Lovley D R, Fraga J L, Coates J D, *et al.* Humics as an electron donor for anaerobic respiration[J]. *Environ Microbiol*, 1999, **1** (1): 89-98.

[13] 许志诚,洪义国,罗微,等. 中国希瓦氏菌 D14^T 的厌氧腐殖质呼吸[J]. *微生物学报*, 2006, **46** (6): 973-978.

[14] Heitmann T, Goldhammer T, Beer J, *et al.* Electron transfer of dissolved organic matter and its potential significance for anaerobic respiration in a northern bog[J]. *Glob Change Biol*, 2007, **13**(8): 1771-1785.

[15] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 368-370.

[16] Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, *et al.* The Prokaryotes[M]. New York: Springer-Verlag, 2006. 635-658.

[17] 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.

[18] Jiang J, Kappler A. Kinetics of Microbial and Chemical Reduction of Humic Substances: Implications for Electron Shuttling[J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42** (10):3563-3569.

[19] Strathmann T J, Stone A T. Reduction of oxamyl and related pesticides by Fe II: Influence of organic ligands and natural organic matter[J]. *Environ Sci Technol*, 2002, **36**: 5172-5183.

[20] Ratasuk N, Nanny M A. Characterization and Quantification of Reversible Redox Sites in Humic Substances [J]. *Environ Sci Technol*, 2007, **41** (22): 7844-7850.

[21] Sawyer D T, Sobkowiak A, Roberts J L. *Electrochemistry for Chemists*[M]. (2nd ed). New York: Wiley, 1995. 999.

[22] Fimmen R L, Cory R M, Chin Y P, *et al.* Probing the oxidation-reduction properties of terrestrially and microbially derived dissolved organic matter[J]. *Geochim Cosmochim Ac*, 2007, **71**: 3003-3015.

[23] Hernandez M E, Newman D K. Extracellular electron transfer[J]. *CMLS Cell Mol Life Sci*, 2001, **58**: 562-1571.