

# *Arthrobacter echigonensis* 介导生物氧化锰形成的机制及生物氧化锰的成分

许旭萍<sup>1,2</sup>, 王芳<sup>1,2</sup>, 李敏<sup>1,2</sup>

(1. 福建师范大学工业微生物教育部工程研究中心, 福州 350108; 2. 福建师范大学生命科学学院, 福州 350108)

**摘要:**对 1 株分离自锰矿矿石具有高效氧化锰活性的节杆菌 (*Arthrobacter echigonensis*) MN1405 氧化锰机制进行研究. 结果表明, *A. echigonensis* MN1405 在其生长过程中产生锰氧化活性因子和碱性物质, 活性因子在细胞内合成, 并分泌至菌体表面和胞外培养液中. MN1405 对  $Mn^{2+}$  的氧化作用是通过升高环境 pH 值和产生锰氧化活性因子共同作用的结果. 虽然该菌产生锰氧化活性因子不需要  $Mn^{2+}$  的诱导, 但在培养基中加入  $Mn^{2+}$  可以提高活性因子的产生量. MN1405 产生的锰氧化活性因子对 SDS、 $NaN_3$  等多种酶抑制剂不敏感, 而且具有较高的耐热性能. XPS 和 FTIR 分析 MN1405 介导  $Mn^{2+}$  氧化形成的生物锰氧化物, 确定成分为  $MnOOH$ ; SEM 显示生物氧化锰的形态为絮状.

**关键词:** *Arthrobacter echigonensis*; 生物氧化锰; 形成机制; 锰氧化活性因子;  $MnOOH$

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)06-1772-06

## Biogenic Manganese Oxides Component and Formation Mechanisms Catalysed by *Arthrobacter echigonensis*

XU Xu-ping<sup>1,2</sup>, WANG Fang<sup>1,2</sup>, LI Min<sup>1,2</sup>

(1. Engineering Research Center of Industrial Microbiology, Ministry of Education, Fujian Normal University, Fuzhou 350108, China; 2. College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350108, China)

**Abstract:** *Arthrobacter echigonensis* MN1405 was isolated from manganese mineral sample, with high iron and manganese oxidizing activity. The mechanisms for manganese oxidation by *A. echigonensis* MN1405 were studied. The results showed that *A. echigonensis* MN1405 would produce manganese oxidizing activity factor and alkaline material during growth, the activity factor was synthesized in the cell and then secreted into cellsurface and extracellular culture medium through cytomembrane. Strain MN1405 could oxidize  $Mn^{2+}$  by increasing pH value of extracellular environment and producing manganese oxidizing activity factor. Though it was not need the induction of  $Mn^{2+}$  for the bacterium to produce manganese oxidizing activity factor, added of  $Mn^{2+}$  into medium could increase the output of activity factor. The manganese oxidizing activity factor produced by MN1405 was insensitive to a variety of enzyme inhibitors, such as SDS,  $NaN_3$  and so on, and had higher heat resistance. The components of the biogenic manganese oxides, produced by the MN1405 catalytic on  $Mn^{2+}$  oxidation, was identified as  $MnOOH$  by XPS and FTIR. SEM showed the morphology of the manganese oxides was floccus.

**Key words:** *Arthrobacter echigonensis*; biogenic manganese oxides; formation mechanism; manganese oxidizing activity factor;  $MnOOH$

锰氧化细菌广泛分布于土壤、淡水、海洋沉积物等环境,介导着锰的氧化作用.有研究认为当环境中仅有  $O_2$  而没有锰氧化细菌存在时,  $Mn^{2+}$  在数年内都难以氧化,微生物可强烈催化  $Mn^{2+}$  氧化形成生物氧化锰<sup>[1]</sup>.近年来,某些种类的锰氧化细菌已被应用于地下水生物除锰、含重金属离子工业废水的处理、探讨氧化锰矿物的成因、研究海洋沉积物中铁锰结核形成过程<sup>[2~6]</sup>.随着人们对生存环境和洋底锰结核资源的认识与关注,使得生物氧化锰形成的分子机制已成为当前研究的热点之一.研究人员根据对 3 类锰氧化细菌模式菌株,即 *Leptothrix discophora* SS-1、SP-6, *Pseudomonas putida* Mn B1、GB-1 及 *Bacillus* sp. 的研究结果,初步认为细菌是通过分泌多铜氧化酶(MOCS)来氧化  $Mn^{2+}$ <sup>[7~9]</sup>,不过这一理

论还需要寻找更多的证据.不同细菌氧化锰的机制是不同的,包括直接氧化和间接氧化.间接氧化是通过改变环境的 Eh 和 pH 或者产生  $Mn^{2+}$  螯合剂,促进  $Mn^{2+}$  的氧化;直接氧化是通过产生锰氧化酶或者锰的粘合物成分,催化  $Mn^{2+}$  的氧化<sup>[10]</sup>.

本研究对 1 株 *Arthrobacter echigonensis* 氧化锰的生化机制进行了初步探讨,包括  $Mn^{2+}$  对氧化活性因子的诱导作用、活性因子定位、pH 值对  $Mn^{2+}$  氧化的影响、锰氧化物的化学成分分析等方面,以期为该菌今后应用于富铁锰水质的净化提供参考,同时也

收稿日期:2010-06-19;修订日期:2010-08-25

基金项目:福建省环保厅科技项目(FJHK(2009)12);福建省教育厅科技项目(JK2009008)

作者简介:许旭萍(1962~),女,教授,主要研究方向为重金属废水的生物处理,E-mail:xuping@fjnu.edu.cn

可以充实生物氧化锰机制的基础理论研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

*Arthrobacter echigonensis* MN1405 (GenBank 登录号为: GU326383), 由本课题组分离自福建省龙岩市连城锰矿矿石<sup>[11]</sup>。

### 1.2 培养基

无锰培养基: 葡萄糖 0.3 g, 牛肉膏 0.1 g,  $K_2HPO_4$  0.5 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.5 g,  $NaNO_3$  0.5 g,  $NH_4NO_3$  0.5 g,  $CaCl_2$  0.5 g, 柠檬酸 1.3 g, 柠檬酸铁铵 0.45 g, 柠檬酸三钠 4 g, 蒸馏水 1 L, pH 值 6.8 ~ 7.0, 121℃ 灭菌 15 min。

有锰培养基: 在无锰培养基中的基础上添加  $MnSO_4 \cdot H_2O$  0.03 g/L。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 培养物的制备

将 *A. echigonensis* MN1405 接种于有锰和无锰的培养基中, 于 25℃, 120 r/min 振荡培养 2 d, 获得培养液。将培养液分别制备上清液、菌体和细胞裂解液。①上清液: 将培养液于 4℃, 4 000 r/min 离心 10 min, 弃沉淀物, 获得上清液。②菌体: 将培养液于 4℃, 2 500 r/min 离心 2 min, 取上清液。上清液再于 4℃, 4 000 r/min 离心 10 min, 收集菌体沉淀。菌体用 pH 7.0 的 Tris-HCl 缓冲液洗涤 2 次, 除去菌体表面粘附的氧化物。再用 pH 7.0 的 Tris-HCl 缓冲液重新悬浮制成菌悬液。③细胞裂解液: 取少量上述菌悬液, 用超声波处理使细胞破裂, 6 000 r/min 离心 10 min, 弃沉淀, 获得细胞裂解液。采用有锰培养基培养获得的培养液、上清液和菌体在结果中分别称为有锰培养液、有锰上清液和有锰菌体; 而采用无锰培养基培养获得的培养液、上清液和菌体在结果中分别称为无锰培养液、无锰上清液和无锰菌体。

#### 1.3.2 培养物锰氧化活性的测定

吸取培养物(培养液、上清液或菌体)5 mL 于试管中, 加入  $MnSO_4$  溶液使  $Mn^{2+}$  浓度为 10 mg/L, 于 25℃, 120 r/min 条件下反应 1 h 后, 4 000 r/min 离心 10 min, 除去沉淀物, 然后取上清液测定  $Mn^{2+}$  浓度, 计算锰氧化率。

#### 1.3.3 菌体活性与 $Mn^{2+}$ 氧化的关系

将 MN1405 接种于有锰培养基中, 于 25℃, 120 r/min 振荡培养 8 h, 分别加入抑菌剂  $HgCl_2$  和  $CdCl_2$  溶液<sup>[12]</sup>, 使其浓度为 50  $\mu$ mol/L, 继续培养 40 h, 获得培养液。将培养液于 4 000 r/min 离心 10 min, 除去

菌体及沉淀物, 然后取上清液测定培养液剩余  $Mn^{2+}$  浓度, 计算锰氧化率。以不加抑菌剂的培养液做为对照, 同时以不接种的培养基于相同条件下培养做为空白对照。

#### 1.3.4 酶抑制剂对培养物锰氧化率的影响

将 MN1405 接种于有锰培养基培养 2 d 后, 得到培养液。在试管中加入 5 mL 的培养液, 然后加入适量酶抑制剂溶液, 混匀后, 加入  $MnSO_4$  溶液使  $Mn^{2+}$  浓度为 10 mg/L, 反应 1 h, 离心, 取上清液测定剩余的  $Mn^{2+}$  浓度, 计算锰氧化率。

#### 1.3.5 锰离子测定方法

锰离子的测定采用甲醛肟分光光度法<sup>[13]</sup>。

锰氧化率的计算公式:

锰氧化率 = [(初始  $Mn^{2+}$  浓度 - 剩余  $Mn^{2+}$  浓度) / 初始  $Mn^{2+}$  浓度]  $\times$  100%

数据处理: 数据为 3 个平行样的平均值, 采用 Excel 2003 和 SPSS (V13.0) 分析软件对数据进行统计学分析及作图。

#### 1.3.6 菌体表面生物锰氧化物 SEM 观察

将 MN1405 接种于有锰培养基中, 于 25℃, 120 r/min 振荡培养 2 d 后, 于 2 500 r/min 离心 2 min, 除去培养过程中产生的沉淀物。上清液于 4 000 r/min 离心 10 min 收集菌体。菌体用蒸馏水洗涤后, 冷冻干燥, 用于扫描电镜 (SEM) 观察。

#### 1.3.7 生物锰氧化物 X 射线光电子能谱 (XPS) 和傅里叶远红外光谱 (FTIR) 分析

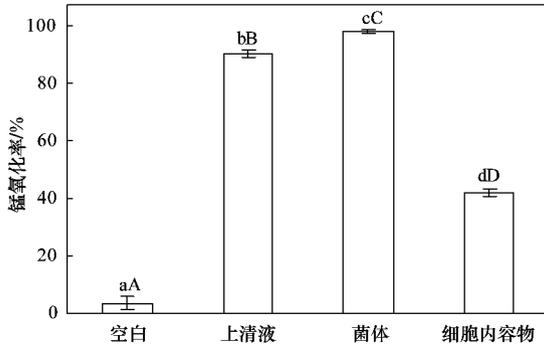
将 MN1405 分别接种于添加 1.2 mmol/L 焦磷酸钠 (用于固定  $Mn^{2+}$  氧化过程中可能形成的  $Mn^{3+}$  中间体) 和不加焦磷酸钠的有锰培养基中 (用于分析氧化终产物)<sup>[14]</sup>。培养 2 d 后, 将 2 种培养液混合, 于 2 500 r/min 低速离心 2 min, 弃去含有菌体的上清液, 收集培养过程中产生的生物氧化锰沉淀物。沉淀物加入适量蒸馏水, 洗涤 2 次后, 冷冻干燥成粉末状, 将粉末压片后分别用 X 射线光电子能谱 (XPS) 和傅里叶远红外光谱仪 (FTIR) 分析锰氧化物中锰的价态和成分。

## 2 结果与分析

### 2.1 MN1405 锰氧化活性因子定位

MN1405 在生长过程中能够使培养基中的可溶性  $Mn^{2+}$  转化为不溶性的锰化合物, 从而将  $Mn^{2+}$  从水中除去<sup>[11]</sup>。分别测定了上清液、菌体和细胞裂解液的锰氧化活性, 对锰氧化活性因子的分布进行定位, 结果见图 1。由图 1 可知, MN1405 培养物的上清

液、菌体和细胞裂解液 3 个部分都具有介导  $Mn^{2+}$  氧化的活性,其中菌体的活性最高,锰氧化率可达到 98.1%,上清液次之,细胞裂解液活性最小,三者之间存在极显著差异.由此可以推测 MN1405 产生的锰氧化活性因子是分泌型的产物,在细胞内合成后,分泌至菌体表面及细胞外环境中发生作用.



不同小写字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ ); 不同大写字母表示差异极显著 ( $p < 0.01$ ), 下同

图 1 MN1405 锰氧化活性因子定位

Fig. 1 Location of the manganese oxidation factor in strain MN1405

## 2.2 菌体活性与 $Mn^{2+}$ 氧化的关系

比较加抑菌剂和不加抑菌剂培养液的锰氧化活性,结果见图 2. 由图 2 可知,接种但不加抑菌剂的培养液锰氧化率为 100%,而加入抑菌剂  $HgCl_2$  和  $CdCl_2$  的实验组锰氧化率仅为 12.7% 和 12.1%,与不加抑菌剂的锰氧化率差异极显著.当 MN1405 处于对数生长期时,加入抑菌剂  $HgCl_2$  和  $CdCl_2$ ,不仅抑制了菌体的生长繁殖,而且可能抑制了锰氧化活性因子的生成,所以  $Mn^{2+}$  的氧化能力显著下降.说明菌体活性与  $Mn^{2+}$  氧化有密切关系.

## 2.3 不同培养时间培养物的锰氧化活性

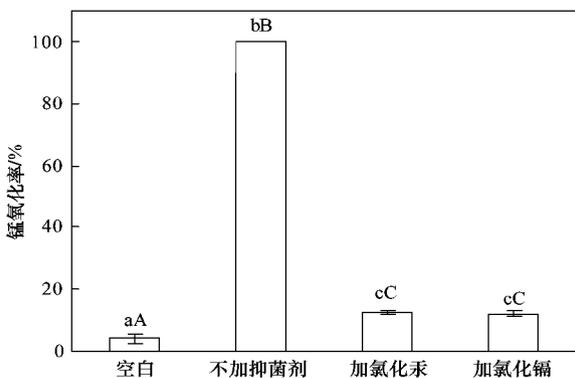


图 2 抑菌剂对  $Mn^{2+}$  氧化的影响

Fig. 2 Effect of inhibitor on manganese oxidation

将 *A. echigonensis* MN1405 接种于有锰培养基中,按照 1.3.1 节的方法进行培养,每天取样测定培养物的锰氧化活性,结果见图 3.

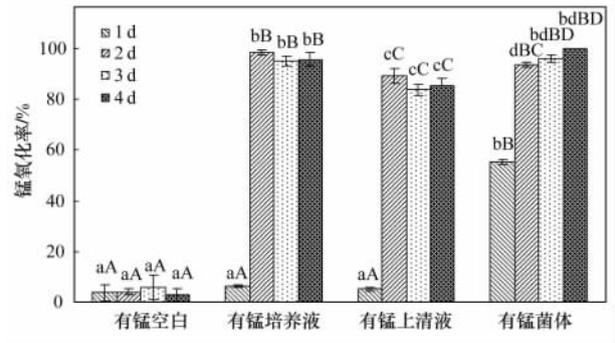


图 3 不同培养时间的培养液、上清液和菌体的锰氧化率

Fig. 3 Manganese oxidation rate of the culture liquid, supernatant and cell suspensions by different culture time preparation

由图 3 可知,锰氧化活性因子确实是 MN1405 在其生长过程中合成的,随着培养时间的延长,培养物的锰氧化活性逐渐增大,而且锰氧化活性因子首先出现在菌体上,随后分泌到胞外培养液中.培养 1 d 时培养液和上清液的锰氧化率较低,分别为 6.2% 和 5.2%,与菌体的锰氧化率(55.3%)差异极显著;培养 3~4 d,培养液和菌体的锰氧化率都大于 95%,二者之间没有差异,但与上清液的锰氧化率(83.8%~85.6%)差异极显著.

## 2.4 $Mn^{2+}$ 对锰氧化活性的诱导作用

将 *A. echigonensis* MN1405 分别接种于有锰培养基和无锰培养基中,按照 1.3.1 节的方法进行培养获得培养物,测定培养物的锰氧化活性,结果见图 4. 图 4 显示用有锰培养基培养 MN1405 所得到的培养物与无锰培养基培养所得到的培养物都具有氧化

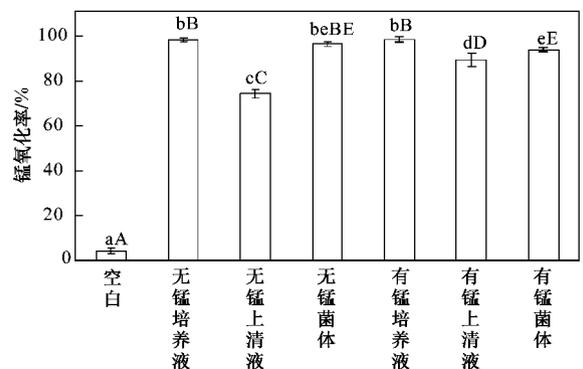


图 4 有锰培养物与无锰培养物锰氧化率比较

Fig. 4 Comparison manganese oxidation rate of the culture with  $Mn^{2+}$  to the culture absence  $Mn^{2+}$

锰的活性, 两者的锰氧化率没有差异, 说明锰氧化活性因子的产生不需要  $Mn^{2+}$  的诱导。

## 2.5 pH 值对锰氧化活性的影响

### 2.5.1 MN1405 生长过程中培养物的 pH 值变化

将 MN1405 接种于培养基中, 每天取样测定培养液的 pH 值, 做 3 个平行样, 结果取平均值。图 5 显示接种 MN1405 后培养 2 d, 有锰和无锰的培养液、上清液和菌体的 pH 值都由初始的 6.8 提高到 9.3 以上。说明 MN1405 在其生长代谢过程中产生了某种碱性物质, 使微环境的 pH 值升高, 从而促进  $Mn^{2+}$  的氧化作用。

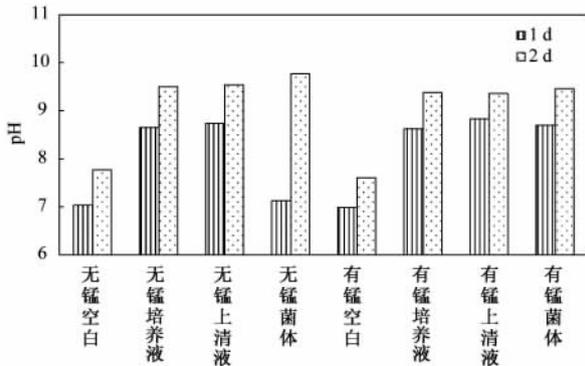


图 5 培养过程中的 pH 值变化

Fig. 5 Change of the pH value in the cultivating process

### 2.5.2 不同 pH 值的培养物锰氧化率比较

MN1405 在生长时, 会使培养基的 pH 值升高至碱性范围, 为了分析 MN1405 的培养物催化  $Mn^{2+}$  氧化是单纯由 pH 值升高所致, 还是存在其它因素, 进一步做了以下实验, 即将培养物的 pH 值分别调节为 4~10 后, 测定各自的锰氧化活性, 结果见表 1。表 1 显示, pH 值对锰氧化率的影响较大。当将培养物(培养液、上清液和菌体)的 pH 值从原来的 9.3 以上调节为 4~10 后, 随着 pH 值的下降, 锰氧化活性逐渐下降, 锰氧化率减小。pH 值为 9 和 10 时锰氧化率明显大于其余 pH 值的锰氧化率。但是, 即使是在酸性范围(pH 4~6), 仍有一定的锰氧化活性, 说明 MN1405 对  $Mn^{2+}$  的氧化作用是通过升高环境 pH 值和产生锰氧化活性因子共同作用的结果, 因为  $Mn^{2+}$  的化学氧化只能发生在 pH 8.5 以上<sup>[15]</sup>。当将培养液的 pH 值调整为 4~6 时, 无锰培养物(培养液、上清液和菌体)的锰氧化率显著减小, 仅为 3.2%~36.0%, 而有锰培养物(培养液、上清液和菌体)的锰氧化率为 28.7%~64.3%。显然, 在培养基中加入  $Mn^{2+}$  可使 MN1405 产生更多的锰氧化活性因子。而未接种的空白培养基, 分别调节 pH 值为 4

~10 后, 测定其锰氧化率仅为 2.0%~4.8%, 说明如果培养基中没有 MN1405 菌体及其代谢产物存在, 即使在 pH 10 的条件下,  $Mn^{2+}$  的氧化率很小。

表 1 不同 pH 值的培养物锰氧化率比较

Table 1 Comparison of manganese oxidation rate of the culture with different pH

pH 值	锰氧化率/%							
	无锰培养基				有锰培养基			
	空白	培养液	上清液	菌体	空白	培养液	上清液	菌体
4	2.3	4.3	3.2	11.9	2.0	28.7	34.0	38.8
5	2.4	5.1	2.1	3.1	3.6	34.1	26.1	45.5
6	2.8	19.1	16.5	36.0	3.8	59.5	60.5	64.3
7	2.9	23.3	12.6	59.6	4.1	64.0	56.8	59.2
8	3.4	38.3	23.3	55.7	4.2	62.5	58.0	70.0
9	3.8	88.4	76.7	93.5	4.6	88.1	86.4	100
10	4.1	90.2	84.0	100	4.8	97.2	92.7	97.8

## 2.6 酶抑制剂对培养物锰氧化活性的影响

为了了解 MN1405 产生的锰氧化活性因子的性质, 本实验选择了几种酶抑制剂进行研究, 结果见表 2。表 2 显示: 上清液中的锰氧化活性因子对  $HgCl_2$ 、 $NaN_3$  等多种酶抑制剂不敏感, 而且具有较高的耐热性, 随着抑制剂浓度的增大, 加热时间的延长, 锰氧化率增大。菌体除了对 NaCl 和蛋白酶 K 敏感外, 对其它几种处理都不敏感。初步推测 MN1405 催化锰氧化的活性因子不是酶类物质, 可能是糖蛋白或糖类物质。有关 NaCl 和蛋白酶 K 抑制菌体锰氧化活性的原因还有待于进一步研究。

### 2.7 菌体表面生物锰氧化物 SEM 观察

扫描电镜(SEM)图片显示: 用有锰培养基培养所得到的 MN1405 菌体虽然经过多次洗涤, 但表面仍可见沉积着大量的锰氧化物(图 6), 表明培养基中的  $Mn^{2+}$  被菌体吸附并氧化为不溶性高价锰氧化物, 这种生物氧化锰与菌体结合紧密, 呈絮状结构。

### 2.8 锰氧化物的价态及成分分析

关于生物氧化锰中锰的价态, 在以往的研究中有很多猜测及不同的研究结果。Johnson 等<sup>[16]</sup>在对 1 株海洋锰氧化菌 *Erythrobacter* sp. SD21 研究时发现  $Mn(III)$  是酶促反应的初级产物。然而, Bargar 等<sup>[17]</sup>却发现 *Bacillus* sp. SG-1 菌株氧化  $Mn(II)$  所形成的初级产物是  $Mn(IV)$ , 并未形成  $Mn(III)$  中间产物。本实验分别采用 XPS 和 FTIR 分析 MN1405 氧化  $Mn^{2+}$  所产生的生物锰氧化物, 结果见图 7 和图 8。图 7 显示  $Mn2p$  的结合能有 2 个主峰  $Mn2p_{3/2}$  和  $Mn2p_{1/2}$ 。  $Mn2p_{3/2}$  的结合能  $E$  为 641.55 eV, 是  $Mn(III)$  的特征吸收峰<sup>[18]</sup>, 未见  $Mn(IV)$  的吸收峰。说明 MN1405 将  $Mn^{2+}$  氧化为  $Mn(III)$ , 这在锰氧化

表2 不同酶抑制剂对 Mn(II) 氧化活性物质的影响

Table 2 Effect of the enzyme inhibitors in the culture on manganese oxidation rate

抑制剂	浓度	锰氧化率/%	
		有锰上清液	有锰菌体
HgCl <sub>2</sub> /μmol·L <sup>-1</sup>	0	80.0	88.0
	10	82.4	92.3
	20	83.7	95.7
	50	85.7	96.0
	0	67.5	78.2
NaN <sub>3</sub> /mmol·L <sup>-1</sup>	0.1	72.3	84.0
	0.2	84.3	89.6
	1.0	84.0	88.3
	0	82.0	85.9
NaCl/mol·L <sup>-1</sup>	0.1	82.6	72.6
	0.5	100	61.3
	1.0	95.3	52.8
	0	84.5	97.2
SDS/%	0.01	88.6	98.0
	0.1	94.4	99.4
	1.0	96.5	99.4
蛋白酶 K/μg·mL <sup>-1</sup>	0	62.8	95.9
	10	80.0	95.4
	20	86.5	89.0
	40	96.4	89.4
	0	88.0	94.8
沸水浴处理/min	10	98.7	99.6
	20	100	99.9
	50	100	100

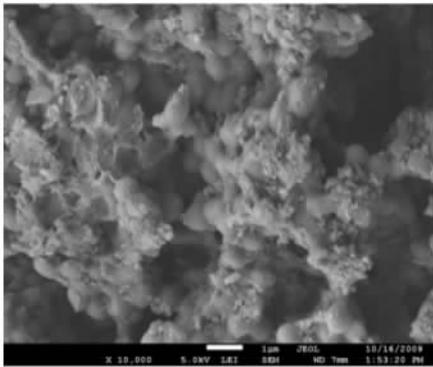


图6 MN1405 菌体表面生物氧化锰在 SEM 下的形态特征

Fig. 6 Scanning electron micrographs of MN1405 cells with their biogenic Mn oxides

细菌中较为少见. 图 8 显示锰氧化物在 3 435.70  $\text{cm}^{-1}$  和 1 645.75  $\text{cm}^{-1}$  处分别出现了 OH 的伸缩振动吸收峰和变形振动吸收峰; 879.93  $\text{cm}^{-1}$  处出现了  $\alpha\text{-FeOOH}$  的特征吸收峰; 555.06  $\text{cm}^{-1}$  处出现了 Mn-O 的特征吸收峰, 结合 XPS 的图谱可知这种生物锰氧化物与六方水锰矿 ( $\text{MnOOH}$ ) 的组成相同<sup>[19,20]</sup>.

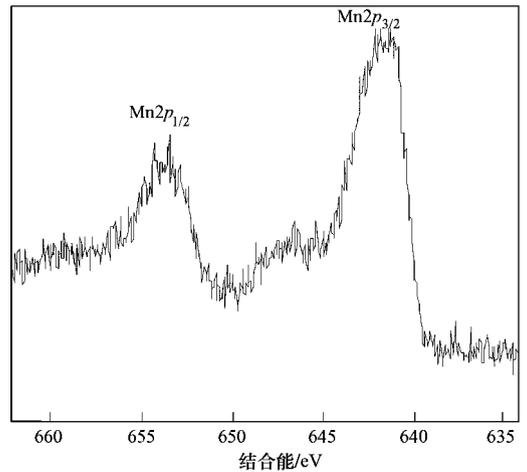


图7 锰氧化物的 XPS 图谱

Fig. 7 XPS analysis of biogenic manganese oxides

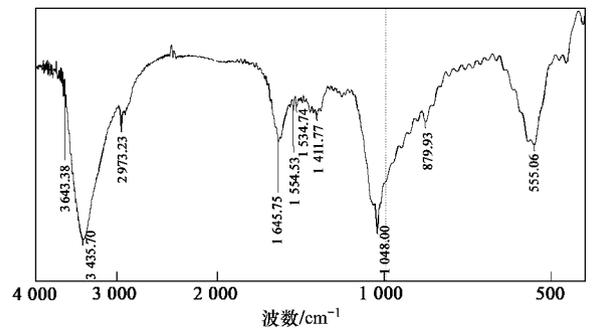


图8 锰氧化物的红外光谱图

Fig. 8 Infrared spectra analysis of manganese oxides

### 3 结论

(1) *A. echigonensis* MN1405 在其生长过程中合成锰氧化活性因子, 活性因子首先分泌至菌体细胞表面, 随后分泌到培养液中. 上清液、菌体和细胞裂解液 3 个部分都具有氧化  $\text{Mn}^{2+}$  活性, 其活性表现为菌体 > 上清液 > 细胞裂解液.

(2) *A. echigonensis* MN1405 产生锰氧化活性因子不需要  $\text{Mn}^{2+}$  的诱导, 但是  $\text{Mn}^{2+}$  的存在可以提高活性因子的产生量.

(3) *A. echigonensis* MN1405 对  $\text{Mn}^{2+}$  的氧化机制主要是通过提高微环境中的 pH 值和产生锰氧化活性因子 2 种方式共同作用的结果.

(4) *A. echigonensis* MN1405 产生的锰氧化活性因子对多种酶抑制剂不敏感, 而且具有较高的耐热性能.

(5) *A. echigonensis* MN1405 将  $\text{Mn}^{2+}$  氧化为  $\text{MnOOH}$ , 这种生物氧化锰呈絮状结构.

## 参考文献:

- [1] 王文明, 邵宗泽, 王革娇. 一株海洋锰氧化细菌对 Mn(II) 的氧化去除研究 [J]. 湖北农业科学, 2009, 48(1): 85-88.
- [2] 李冬, 张杰, 陈立学, 等. 生物除铁除锰在地下水处理厂的应用 [J]. 中国给水排水, 2004, 20(12): 85-88.
- [3] 张杰, 李冬, 陈立学, 等. 地下水除铁除锰机理与技术的变革 [J]. 自然科学进展, 2005, 15(4): 433-438.
- [4] 金圣圣, 贺纪正, 郑袁明, 等. 生物氧化锰矿物对几种重金属的吸附作用 [J]. 环境科学学报, 2009, 29(1): 132-139.
- [5] 刘凡, 冯雄汉, 陈秀华, 等. 氧化锰矿物的生物成因及其性质的研究进展 [J]. 地学前缘, 2008, 15(6): 66-73.
- [6] 林学政, 高爱国, 陈皓文. 北极海洋沉积物中锰细菌的分离与系统发育 [J]. 生态学报, 2008, 28(12): 6364-6370.
- [7] 孟佑婷, 郑袁明, 张丽梅, 等. 环境中生物氧化锰的形成机制及其与重金属离子的相互作用 [J]. 环境科学, 2009, 30(2): 574-582.
- [8] Tebo B M, Bargar J R, Clement B G, *et al.* Biogenic manganese oxides: properties and mechanisms of formation [J]. Annual Review of Earth and Planetary Sciences, 2004, 32: 287-328.
- [9] Brouwers G J, Vijgenboom E, Corstjens P L A M, *et al.* Bacterial Mn<sup>2+</sup> oxidizing systems and multicopper oxidases: an overview of mechanisms and functions [J]. Geomicrobiology Journal, 2000, 17: 1-24.
- [10] 杨宏, 钟杰, 纪娟, 等. Mn(II) 氧化细菌的微生物学研究进展 [J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(1): 143-146.
- [11] 王芳, 许旭萍, 郑晓丹, 等. 锰细菌氧化锰的影响因素研究 [J]. 福建师范大学学报, 2010, 25(2): 111-114.
- [12] 张杰, 李东, 杨宏, 等. 生物固锰除锰机理与工程技术 [M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2005. 115-117.
- [13] HJ/T 344-2007, 水质锰的测定甲醛肟分光光度法 (试行) [S].
- [14] Webb S M, Dick G J, Bargar J R, *et al.* Evidence for the presence of Mn(III) intermediates in the bacterial oxidation of Mn(II) [J]. Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America, 2005, 102(15): 5558-5563.
- [15] 杨宏, 纪娟, 钟洁, 等. 生物除锰技术研究进展与应用 [J]. 环境科学与技术, 2008, 31(8): 38-43.
- [16] Johnson H A, Tebo B M. In vitro studies indicate a quinone is involved in bacterial Mn(II): oxidation [J]. Archives of Microbiology, 2008, 189(1): 59-69.
- [17] Bargar J R, Tebo B M, Villinski J E. In situ characterization of Mn(II) oxidation by spores of the marine *Bacillus* sp. Strain SG-1 [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2000, 64(16): 2775-2778.
- [18] 周国伟, Kang Y S, 李天铎, 等. 红钛锰矿 MnTiO<sub>3</sub> 纳米材料的溶胶-凝胶法制备及光谱研究 [J]. 中国科学 B 辑: 化学, 2004, 34(6): 449-453.
- [19] 冯雄汉, 谭文峰, 刘凡, 等. 碱性介质中水钠锰矿的生成途径 [J]. 中国科学 D 辑: 地球科学, 2005, 35(4): 340-351.
- [20] 陈建林, 沈华涕, 韩喜球, 等. 太平洋多金属结核中铁锰矿物分析及成因研究 [J]. 海洋学报, 1999, 21(2): 56-63.