

嗜酸硫氧化细菌作用下元素硫化学形态的研究进展

何 环, 夏金兰, 彭安安, 张成桂, 邱冠周

(中南大学 资源加工与生物工程学院 生物冶金教育部重点实验室, 长沙 410083)

摘 要: 嗜酸硫氧化细菌是生物冶金过程中研究最为广泛的细菌, 广泛分布在含硫和硫化物丰富的环境中。嗜酸硫氧化细菌作用下, 单质硫及其它还原型硫化物(包括金属硫化矿)经过一系列形态转换使得硫在其细胞体内、体外和环境沉积物中存在着不同形态分布。单质硫经细菌细胞活化后在细胞体内以硫球形式积累; 还原型硫化物可被细菌氧化至硫酸盐, 其氧化中间态多为单质硫或连多硫酸盐等。有关嗜酸硫氧化细菌作用下硫的形态研究十分缺乏, 进一步开展嗜酸硫氧化细菌作用下元素硫化学形态的研究可以为这类细菌的硫氧化机制及对硫化矿的浸出机理的阐明提供理论依据。

关键词: 嗜酸硫氧化细菌; 硫化学形态; 元素硫层; 硫球; 硫溶胶

中图分类号: Q 939

文献标识码: A

Research progress of sulfur chemical speciation impacted by acidophilic sulfur-oxidizing bacteria

HE Huan, XIA Jin-lan, PENG An-an, ZHANG Cheng-gui, QIU Guan-zhou

(Key Laboratory of Biometallurgy of Ministry of Education of China, School of Resources Processing and Bioengineering, Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract: Acidophilic sulfur-oxidizing bacteria (SOB) are the mostly studied bioleaching bacteria which exists widely in the elemental sulfur and sulfides-containing environments. Under impaction by SOB, the solid sulfur and other reduced sulfides (including metal sulfides) are distributed in different chemical speciations inside or outside the cells as well as in the pertinent environmental deposit. The sulfur globules may be stored intra-cellularly after the solid sulfur is activated and transported by the bacteria. The reduced sulfur compounds, with polythiosulfate and/or elemental sulfur as the main transients, are finally oxidized to sulfuric acid. The chemical speciation of elemental sulfur impacted by various SOB was very poorly investigated, further research may provide theoretical support to the elucidation of sulfur metabolism of acidophilic SOB.

Key words: acidophilic sulfur-oxidizing bacteria; chemical speciation; elemental sulfur layer; sulfur globule; sulfur colloid

嗜酸硫氧化细菌是金属硫化矿生物浸出过程中的主要功能菌^[1-2]。对江西德兴, 广东梅州、大宝山、云浮等铜矿的酸性矿坑水和矿泥中的微生物生态多样性的研究表明, 这些环境中的细菌主要是能够利用亚铁和还原型硫化合物的细菌^[3-5]。从中筛选得到部分与金

属硫化矿溶出有关的功能菌株, 主要包括中温嗜酸硫氧化菌株, 如嗜酸氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*)、嗜酸氧化硫硫杆菌(*Acidithiobacillus thiooxidans*)、嗜酸阿贝氏硫杆菌(*Acidithiobacillus albertensis*); 以及中度嗜热硫氧化菌株, 如嗜酸喜温

基金项目: 国家重点基础研究发展规划资助项目(2004CB619201); 国家自然科学基金创新研究群体资助项目(50321402); 国家自然科学基金资助项目(50674101)

收稿日期: 2007-11-05; **修订日期:** 2008-03-24

通讯作者: 夏金兰, 教授, 博士; 电话: 0731-8836944; E-mail: jlxia@mail.csu.edu.cn

硫杆菌(*At. caldus*)等^[6-8]。此外,丁建南等^[9-10]还从云南腾冲的高温含硫温泉中筛选得到多株极度嗜热硫氧化菌株,包括嗜热硫氧化硫杆菌(*Sulfobacillus thermosulfidooxidans*),嗜热金属硫化叶菌(*Sulfolobus metallicus*)和万座嗜酸两面菌(*Acidianus manzaensis*)等。生物浸出实验表明,这些嗜酸硫氧化菌,尤其是嗜热菌能明显促进金属硫化矿物的氧化溶出,具有良好的工业应用前景^[6-10]。嗜酸硫氧化细菌的共同特点是嗜酸、能以单质硫和还原型硫化物(硫化物,亚硫酸盐,硫代硫酸盐,及各种连多硫酸盐等)作为能源物质进行专性或兼性化能自养生长。还原型硫化物在硫氧化细菌作用下,元素硫在细菌细胞体内外以不同化学形态分布:有的被转化成为微生物体内的蛋白质和酶中组成成分;有的以硫溶胶形式散布在细胞有机包裹物内^[11];有的以硫球形式积累在细胞体外^[12];金属硫化矿浸出过程中,元素硫在金属硫化矿表面^[1],浸出液中^[13]都有着广泛分布。可见,嗜酸硫氧化细菌对还原型硫化物的氧化利用及金属硫化矿的浸出过程,即是细菌细胞作用下元素硫的化学形态转化过程,因此,对嗜酸硫氧化细菌作用下元素硫的赋存形态展开研究有助于揭示和阐明金属硫化矿物生物溶出过程中硫的分子形态转化规律,为进一步阐明嗜酸硫氧化菌作用下金属硫化矿生物溶出机理提供理论依据,以及为进一步研究和阐明嗜酸硫氧化菌代谢途径奠定基础。

1 嗜酸硫氧化细菌系统多样性

在硫和硫化物丰富的环境中,如含硫温泉、火山口、含硫煤矿、金属硫化矿等,硫氧化细菌在能量生产、硫元素循环以及维持环境中群落多样性等方面起着重要作用。自然界能够氧化元素硫的微生物相当丰富,其种群结构常受到环境因素,如含硫化物种类及其浓度、温度、酸度、光照强度、有机物丰度等的影响^[14]。如表1所示,在极端酸性环境下,尽管能源物质相对贫瘠,生存pH值一般低于3,但微生物群落同样具有多样性。根据其生存温度可将它们分为中温(<40℃)、中度嗜热(40~60℃)和极度嗜热(>60℃)嗜酸硫氧化细菌^[15-16]。

中温硫氧化细菌主要是嗜酸硫杆菌属(*Acidithiobacillus*,简称为*At.*)细菌,包括嗜酸氧化亚铁硫杆菌(*At. ferrooxidans*)、嗜酸氧化硫硫杆菌(*At. thiooxidans*)和阿贝氏嗜酸硫杆菌(*At. albertensis*)等^[17]。

这类菌中,除*At. ferrooxidans*)能利用亚铁和还原型硫化物外,其余均只能利用单质硫和还原型硫化物生长。*At. ferrooxidans*是最早分离到的嗜酸硫氧化细菌,早期研究人员认为该细菌是主要浸矿功能菌,因此相关研究比较全面,目前关于*At. ferrooxidans*的亚铁和硫代谢途径成为研究热点^[18-19]。

生物浸出过程中,由于微生物生长代谢和矿物氧化分解,浸矿体系温度可快速上升至50℃以上,因此,一些中温嗜酸细菌难以生存,而中度嗜热酸性细菌却可以很好生长。这些细菌主要是一些亚铁或硫氧化专性或兼性自养细菌,其中,亚铁氧化细菌主要为氧化亚铁钩端螺旋菌(*Leptospirillum ferrooxidans*),该细菌只能使亚铁氧化,最适生长温度为45℃,能耐受较高浓度铁离子^[20]。而硫氧化细菌则主要包括硫化杆菌(*Sulfobacillus spp.*)和喜温嗜酸硫杆菌(*At. caldus*)^[3]。*(Sulfobacillus)*菌属不仅能够以亚铁、金属硫化物等还原型硫化物化能自养生长,还能够利用有机底物进行兼性异养生长^[21-23]。*At. caldus*是*Acidithiobacillus*属中惟一中度嗜热菌。DOPSON等^[24]研究发现,利用*At. caldus*与*Sulfobacillus thermosulfidooxidans*混合浸出含砷黄铁矿时,浸出过程中产生的单质硫和连四硫酸盐比单独使用纯培养的*S. thermosulfidooxidans*时要低,这说明*At. caldus*有效促进了硫氧化过程。

极端嗜热条件下生长细菌多为古细菌,它们能够在厌氧或需氧条件下利用还原型硫化物或单质硫。目前已分离纯化到4个菌属,如表1所示,它们分别是硫化叶菌(*Sulfolobus*)、金属球菌(*Metallorphaera*)、嗜酸两面菌(*Acidianus*)、憎叶菌属(*Stygiolobus*)和硫磺球形菌属(*Sulfurisphaera*)。硫化叶菌*Sulfolobus*是研究较多古生菌属,生存温度为55~80℃,生存pH值0.9~5.8,能以还原型硫化物和简单有机物兼性能自养和异养生长^[25];金属球菌*Metallorphaera*为严格好氧,兼性能无机营养的革兰氏染色阴性细菌,能利用单质硫和硫化矿生长,还能利用H₂作为能源底物;嗜酸两面菌*Acidianus*(以前属名为*Desulfurolobus*)为高温嗜酸条件下兼性厌氧生长古细菌;目前,*Stygiolobus*和*Sulfurisphaera*均仅有一个种,分别为*Azoricus*和*Ohwakuensis*,其中*Stygiolobus azoricus*为专性厌氧生长,而*Sulfurisphaera ohwakuensis*能够进行兼性厌氧生长,并且厌氧条件下必须添加单质硫^[26-27]。

嗜酸硫氧化细菌根据生存温度可分为中温、中度嗜热和极度嗜热细菌。16S rRNA嗜酸硫氧化细菌系统发育树如图1所示。对比分析发现,嗜酸硫氧化细菌从系统发育树组成上也明显分为3个组,从上到下分别变

表1 分离纯化到能够利用还原型硫化化合物的嗜酸硫氧化细菌

Table 1 Isolated acidophilic sulfur-oxidizing bacteria making use of reductive sulfur compounds

Surviving temperature	Genus	Specie	Physiological characteristic			Ref.
			Optimal temperature/℃	pH	Characteristic of gram staining	
Mesophiles <40 ℃	<i>Acidithiobacillus</i>	<i>ferrooxidans</i>	30	1.8–2.0	G [−]	[8]
		<i>thiooxidans</i>	28–30	2.0–2.8	G [−]	[28]
		<i>albertensis</i>	30	3.5–4.0	G [−]	[6]
Moderate thermophiles 40–60 ℃	<i>Acidithiobacillus</i>	<i>calvus</i>	40	2.5	G [−]	[29]
	<i>Sulfobacillus</i>	<i>sibiricus</i>	55	1.7	G ⁺	[21]
		<i>thermosulfidooxidans</i>	50	1.6	G ⁺	[30]
		<i>disulthidooxidans</i>	35–40	1.5–2.5	G ⁺	[24]
		<i>acidophilus</i>	50	1.7		[31]
		<i>thermotolerans</i>	40	2.0		[23]
Extreme thermophiles >60 ℃	<i>Sulfolobus</i>	<i>shibitae</i>	80	3.7		[32]
		<i>solfataricus</i>	80	2.0–4.0		[33]
		<i>metallicus</i>	65–70	1.5		[34]
		<i>acidocaldarius</i>	75–80	2.0–3.0		[35]
		<i>tokodaii</i>	80	2.5–3.0		[36]
		<i>sedula</i>	75	2.8		[37]
	<i>Metallosphaera</i>	<i>prunae</i>	55–80	3.0		[38]
		<i>hakonensis</i>	70	3.0		[39]
		<i>brierleyi</i>	65	1.5		[40]
	<i>Acidianus</i>	<i>infernus</i>	88	2.5		[41]
		<i>ambivalens</i>	80	2.5		[42–43]
		<i>sulfidivorans</i>	74	0.8–1.4	G [−]	[44]
		<i>manzaensis</i>	80	1.2–1.5	G [−]	[45]
		<i>tengchongensis</i>	70	2.5	G [−]	[46]
	<i>Sulfurisphaera</i>	<i>ohwakuensis</i>	85	2.0	G [−]	[26]
	<i>Stygiolobus</i>	<i>azoricus</i>	80	2.5–3.0		[27]

形细菌中温菌，杆状菌中的中度嗜热菌和极度嗜热菌中的古细菌，可见细菌的生理生化性质与其分子遗传特性之间确实存在着密切的联系。

2 细菌作用下硫化学形态

元素硫在自然界中以无机硫和有机硫形式存在。如表 2 所示，无机硫形式多样，可以单质、硫化物和硫酸盐等多种不同的形态存在。有机硫则主要是含硫氨基酸如半胱氨酸、甲硫氨酸、蛋氨酸、谷胱甘肽及其衍生物，主要分布在原油、煤和生物体内。表 3 所示为单质硫的化学结构^[47]，分别为环状硫 S_n(n =

6~20)，链状聚合硫 S_n(n>10⁵)，多聚硫化物 S_n^{2−}(n = 1~8)，多聚硫烷 H—S_n—H(n = 1~8)，多聚有机硫烷 R—S_n—R(R 为有机官能团，n = 1~13)，连多硫酸盐聚合物[−]O₃S—S_n—SO₃[−](n = 1~4)，其中 n 表示目前为止能够得到的纯化合物原子个数。嗜酸硫氧化细菌在所处环境(如高温温泉、酸性矿水和深海热喷口中)的硫循环中发挥着重要作用。还原型硫化物在硫氧化细菌(包括光合硫氧化细菌，嗜酸硫氧化细菌等)作用下，会产生大量的单质硫和中间硫化物。这些含硫物质赋存形态多样，有的直接以硫球形式形成聚集体存在于细菌体内或体外；有的在金属硫化矿表面形成疏水的硫层；大部分元素硫以各种离子形式进入溶液中。

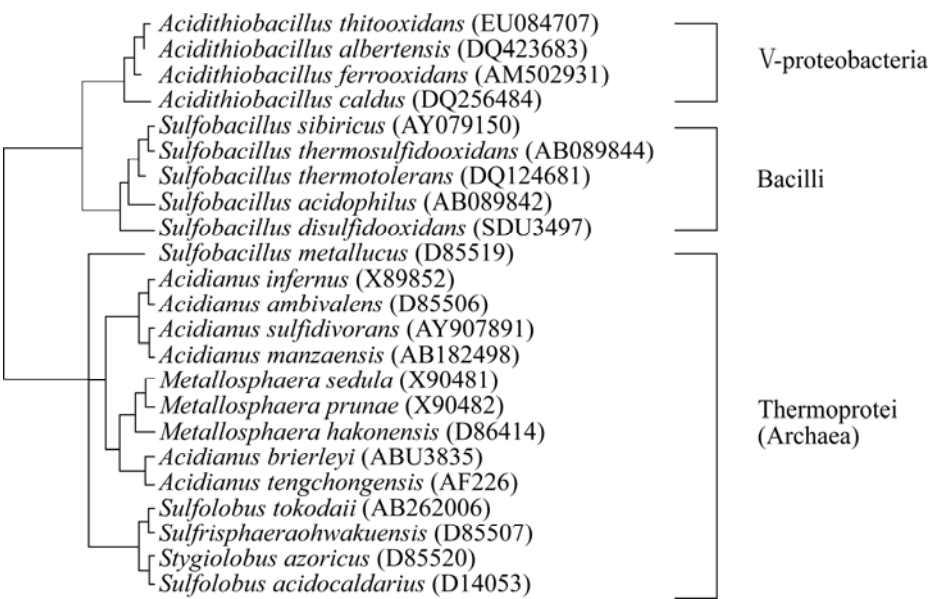


图 1 基于 16S rRNA 嗜酸硫氧化细菌系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene-sequence/accession number in brackets is gene bank of each strain

表 2 硫的主要化合物及化合价

Sulfur Compound	Chemical formula	Sulfur oxidation state
Sulfate	SO_4^{2-}	+6
Thiosulfate	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+ 5 (sulphone S)/- 1 (sulphane S)
Polythionates	$-\text{O}_3\text{S}(\text{S})_n\text{SO}_3^-$	+ 5 (sulphone S)/0 (inner S)
Sulfite	SO_3^{2-}	+4
Hydrosulfite	$\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$	+4
Elemental sulfur	S_n	0
Polysulfides	S_n^{2-}	- 1 (terminal S)/0 (inner S) (terminal S)/0 (inner S)
Sulfide	$\text{HS}^-/\text{S}^{2-}$	-2

2.1 硫溶胶和硫球

还原型硫化物可以被许多硫氧化细菌氧化，多数情况下元素硫被氧化成硫酸根离子，但有些情况下，元素硫却以聚合硫球或疏水硫球积累在细菌体内或者体外。早在一个世纪之前就有学者报道过还原型硫化物在硫氧化细菌作用下可通过某种机制以硫球形式积累在细菌细胞体内，后来，又有不少研究人员发现光合硫细菌和无色硫细菌在将硫化物和硫代硫酸盐氧化到硫酸盐时，硫颗粒作为中间产物或者末端产物而被积累，但由于研究手段的局限性以及硫形态的多样

表 3 单质硫的化学形态

Sulfur	Chemical formula	Ring sizes or chain lengths
Homocycles	S_n	$n = 6-20$ (pure compounds)
Polymeric sulfur	S_n	$n > 10^5$
Polysulfides	S_n^{2-}	$n = 1-8$
Polysulfanes	$\text{H}-\text{S}_n-\text{H}$	$n = 1-8$ (pure compounds)
Organic polysulfanes	$\text{R}-\text{S}_n-\text{R}$	$n = 1-13$, R is an organic group (pure compounds)
Polythionates	$-\text{O}_3\text{S}-\text{S}_n-\text{SO}_3^-$	$n = 1-4$ (pure compounds)

性，硫球的具体化学形态一直是困扰人们难题^[48-50]。目前对于硫氧化细菌(主要是光合硫细菌)细胞体内硫的形态存在两种不同的认识，PRANGE 等^[12, 49]认为，光合硫细菌，如紫色和绿色硫细菌体内是以链状硫化物存在。在某些硫氧化细菌体内却以环烷状硫化物存在，而 PICKERING 等^[50]认为，不同的硫氧化细菌体内硫球均以简单环烷状 S_8 存在。尽管他们使用的检测手段相同，均为 X 射线近边结构光谱，通过对比原位条件下样品中硫和标准含硫样品(包括环烷状 S_8 ，链状硫化物等一系列其它从-2~6 含硫化合物)图谱差异，从而推测生物样品中硫赋存形态，但是两者所采用研

究方法又存在差异, PRANGE 采用荧光模式, 而 PICKERING 采用透射模式, 这种研究方法上差异是否会影响最终研究结果还不清楚。

酸性环境下硫氧化细菌同样可以利用还原型硫化合物生长, 并且在生长过程中同样观察到有类似硫球物质积累。ROJAS 等^[11]用人工打磨处理过 100 nm 厚的黄铁矿膜培养 *At. ferrooxidans* 菌, 采用透射电镜研究其生物氧化步骤, 观察到硫化物变成硫溶胶, 这种胶体状硫被细菌储存起来并且散布在包裹细菌的有机外壳里, 并且形成的硫颗粒可以直接传递给下一代细胞, 但是对于硫的化学形态还不清楚。KNICKERBOCKER 等^[51]研究发现, *At. thiooxidans* 在单质硫中生长时, 硫表面亲疏水性发生明显变化, 采用扫描电镜观察到硫表面有一层有机外壳, 硫变成一种溶胶状物质, 但未报道这种溶胶状物质的具体化学形态。PRANGE 等^[12]利用 X 射线吸收近端结构光谱原位检测到 *At. ferrooxidans* 在硫代硫酸盐培养液中形成硫球是以聚硫化物形式存在, 其存在结构很有可能是 $\text{O}_3\text{S}(\text{S})_n\text{SO}_3^-$ (n 为硫原子数目), XIA 等^[6]通过透射电子显微镜观察到 *At. albertensis* 在利用硫代硫酸钠生长时体内有电子透明物质存在, 该物质与 BRYANT 等^[52]所报道的物质极其相似, 有可能是细胞积累硫颗粒, 但是有关硫具体化学形态还需进一步分析和验证。

化学意义上硫溶胶是由天然硫或者是富含硫的化合物所形成的一种胶体状物质, 其颗粒直径大约 0.1~1.0 μm , 主要由 S_8 分子(疏水溶胶)或者是有着亲水末端链状化合物(亲水溶胶)组成, 这两种硫溶胶都可以通过化学手段制备^[53]。与化学手段制备的硫溶胶相比, 硫氧化细菌在生长过程中所形成的硫球溶胶在胶体颗粒尺寸与胶体稳定性关系方面具有相似性; 但在颗粒密度和表面亲疏水性等方面可能差别较大, 如: 细菌硫球溶胶颗粒密度明显低于(化学)斜方硫溶胶颗粒密度, 细菌硫球表面亲水性好, 而斜方硫表面却疏水^[50]。

目前, 有关硫氧化细菌作用下单质硫球或硫溶胶的形成和降解过程及其机制还不清楚。OHMURA 等^[54]发现, *At. ferrooxidans* 在单质硫能源基质中生长时, 细胞鞭毛上有一种硫结合蛋白(40 kDa), 该蛋白通过与硫形成二硫键的形式使 *At. ferrooxidans* 特异地吸附在硫的表面上。ROHWERER 等^[55]基于体外实验提出单质 S_8 先被活化然后被催化氧化的模式, 其中, 活化反应首先由亲核反应试剂打开环状结构的 S_8 , 即细胞外的单质 S 与外膜蛋白上的硫醇基团 RSH(功能类似于大量的谷胱甘肽)相互接触后被活化, 形成线状的无

机硫与有机物结合的 $\text{RS}_n\text{H}(n \geq 2)$, 然后转运到细胞周质后被硫加双氧酶氧化, 形成主要产物 SO_3^{2-} , 但是, 细胞体内是否遵循这一模式却不清楚, 并且到目前为止也未分离到与硫转运相关的关键蛋白。

2.2 生物浸出中的元素硫层

浸矿酸性环境下, 金属硫化矿在 H^+ 和 Fe^{3+} 作用下, 主要经硫代硫酸盐途径或聚硫化物途径而分解; 浸矿细菌通过氧化还原型硫化合物来提供其生长所需能量, 同时维持浸矿环境中金属离子不断浸出所需要的高铁离子和质子。硫代硫酸盐溶解途径适用于 FeS_2 、 MoS_2 和 WS_2 等不溶于酸金属硫化物的溶解, 它完全基于 Fe^{3+} 对元素 S 的氧化作用直至硫中的 6 个电子全部被转移, 形成 SO_3^{2-} , 将金属元素分离到溶液中去。聚硫化物溶解途径则适用于 ZnS 、 PbS 、 FeAsS 、 CuFeS_2 、 MnS_2 、 CuS 、 Cu_2S 、 NiS 、 CoS 和 CdS 等众多溶于酸金属硫化物的溶解, 它基于 Fe^{3+} 在 H^+ 的协助下的对金属硫化物的氧化作用, 将金属硫化物溶解, 其中大部分硫转化为硫酸根离子, 少量生成的 SO_3^{2-} 和单质 S。另外, 如果浸矿中缺 Fe^{3+} , 易溶于酸的金属硫化矿, 如闪锌矿, 可以在质子攻击下溶解并释放出硫化氢^[1]。

嗜酸硫氧化细菌浸出和纯化学浸出过程中, 金属硫化矿表面形成疏水的元素硫层影响金属硫化矿表面的电学性质, 阻碍金属硫化矿的进一步分解和金属离子浸出^[1]。BEVILAQUA 等^[56]研究发现 *At. ferrooxidans* 单独浸出黄铜矿的过程中, 铜离子浸出速率逐渐减小; X 射线衍射分析发现矿物表面有层以元素硫为主的物质, 它的存在影响到了铜离子的浸出效率。SHI 等^[57]通过 X 射线衍射分析发现, *At. ferrooxidans* 浸出闪锌矿过程中矿物表面堆积物质主要组成为硫, 认为这有可能是影响细菌浸出效果的因素。FOWLER 等^[58]研究了 *At. ferrooxidans* 和高铁溶液浸出闪锌矿的效果发现, 接种细菌的体系中锌离子的浸出率明显高于未接种细菌体系; 而未接种细菌的体系中随着锌离子的浸出, 矿物表面形成一层多孔硫膜, 该膜的存在阻止了 Fe^{3+} 对闪锌矿的氧化攻击和锌离子浸出。FALCO 等^[59]利用化学方法和 *L. ferrooxidans* 浸出砷铜矿时, 发现矿物表面均有硫层形成, 严重影响了浸出效果。KLAUBER 等^[60]利用 X 射线光电子能谱(XPS)方法研究黄铜矿化学浸出过程中矿物表面元素硫形态, 研究结果发现, 矿物表面硫层主要由多硫化物和单质硫构成, 但是多硫化物具体化学形态还不确定。HARMER 等^[61]利用 XPS 和扫描电子显微镜研究高氯酸浸出黄铜矿过程, 提出黄铜矿化学浸出过程分

为3个步骤: 1) 通过氧化步骤将矿物氧化, 将铜和铁离子释放到溶液中, 使单一硫化物形成多聚硫化物; 2) 进行还原反应, 该步反应不释放阳离子, 但形成表面 S^{2-} 和短链多聚硫化物; 3) 再通过氧化重构作用形成晶形硫, 并伴随着阳离子的进一步释放。这种假设似有一定道理, 但还需进一步验证。

2.3 生物浸出中硫的化合物

酸性环境下, 单质硫具有很强的化学惰性, 必须通过嗜酸硫氧化细菌才能将其氧化。还原型硫化物在细菌作用下, 经过一系列氧化还原反应最终变成各种硫化物进入溶液中。研究表明, 不同硫氧化细菌、不同温度和酸度等环境条件以及初始硫化物种类等都会影响到硫的形态分布。

SCHIPPERS 等^[13, 62]利用反相高效液相色谱和离子对色谱比较研究了 *L. ferrooxidans*, *At. ferrooxidans*, *L. ferrooxidans* 和 *At. caldus* 混合培养以及高铁离子分别浸出黄铁矿的效果, 结果发现, *L. ferrooxidans* 浸出体系中存在连四硫酸盐、连五硫酸盐和大量单质硫, 其中单质硫占 10%, 连五硫酸盐 2%, 连四硫酸盐 1%, 且中间硫化物的组成与单纯高酸高铁溶液浸出时的结果基本相同; 单独采用 *At. ferrooxidans* 浸出时, 浸出溶液中仅有少量单质硫存在(占总硫 1%), 未发现连多硫酸盐; 而采用 *L. ferrooxidans* 和 *At. caldus* 混合浸出黄铁矿后, 浸出溶液中矿基本都是以硫酸根离子存在。这是因为 *At. ferrooxidans* 和 *At. caldus* 均能代谢硫, 能及时消解金属硫化矿浸出过程中生成的中间硫化物; 而 *L. ferrooxidans* 仅能代谢铁, 因此, 浸出过程中会出现连多硫酸盐等多种中间价态的硫化物。

HALLBERG 等^[63]研究不同解偶联剂和抑制剂对 *At. caldus* 氧化不同还原型硫化物的影响, 结果表明, 解偶联剂羰基氰氯苯胂(Carbonyl cyanide *m*-chlorophenyl-hydrazine)和 2, 4-二硝基苯酚(2, 4-dinitrophenol)对硫代硫酸盐氧化几乎没有任何影响, 而对连四硫酸盐、硫化物、单质硫和亚硫酸盐却有强烈抑制作用。N-乙基马来酰亚胺(N-Ethylmaleimide)可抑制硫代硫酸盐、连四硫酸盐、硫化物氧化至单质硫后的进一步氧化, 2-庚基-4-羟基喹啉-N-氧化物(2-heptyl-4-hydroxyquinoline-N-oxide)可阻止硫代硫酸盐、连四硫酸盐、单质硫氧化至亚硫酸后的进一步氧化。由于抑制剂和解偶联剂作用, 反应体系中可检测到积累的各种中间产物。

还原型硫化物在 *At. ferrooxidans* 体内的氧化过程中会产生大量的 SO_3^{2-} , 如果 SO_3^{2-} 没有被快速消化而在体内积累, 会对细胞产生毒害作用而影响细胞生

长。因此, 细胞体内存在解除 SO_3^{2-} 毒性的酶系统。硫氧化细菌体内 SO_3^{2-} 主要经由亚硫酸-受体氧化还原酶氧化成 SO_4^{2-} 。硫氧化细菌在利用硫代硫酸盐的过程中会产生连四硫酸盐及其它连多硫酸盐, 从古生菌 *Acidianus ambivalens* 中分离的膜结合硫代硫酸盐-辅酶Q 氧化还原酶(thiosulfate: quinone oxidoreductase: TQO) 在铁氧化物和癸基-泛醌为电子受体时能氧化 $S_2O_3^{2-}$ 成为 $S_4O_6^{2-}$ 。*At. ferrooxidans* 在单质硫能源基质中生长时有硫氰酸酶(Rhodanese)表达。硫氰酸酶是一种硫代硫酸盐硫转移酶(thiosulfate thiotransferase, TST), 专门打断 $S_2O_3^{2-}$ 中的S—S化学键, 产生S和 SO_3^{2-} 。一般认为连四硫酸盐在连四硫酸盐水解酶作用下生成硫酸盐, 但是相关研究报道结果前后不尽一致, 例如, STEUDEL 等^[64]于1987年研究发现 *At. ferrooxidans* 中连四硫酸盐水解酶主要产物是为 $HS_2SO_3^-$ 和 SO_4^{2-} , 而MEULENBERG等^[65]1992年发现 *Acidithiobacillus sp.*水解产物主要是 $S_2O_3^{2-}$ 、 SO_4^{2-} 和 S^0 , 但是SUGIO 等^[18, 66]于1996年研究发现 *At. ferrooxidans* Funis2-1水解产物主要是 $S_2O_3^{2-}$ 和 SO_4^{2-} 。

3 结论

金属硫化矿和还原型硫化物在嗜酸硫氧化细菌作用下, 会产生大量的单质硫和中间硫化物, 这些硫赋存化学形态多样, 有的直接以硫球形式形成聚集体悬浮在溶液中, 有的通过某种未知机制以硫球形式积累在细菌细胞体内, 还有一些在金属硫化矿表面形成疏水的元素硫层, 影响金属硫化矿表面的电化学性质从而阻碍金属硫化矿的进一步分解和金属离子浸出, 有些以各种硫化物的离子而进入溶液中, 但是有关嗜酸硫氧化菌作用下, 尤其是一些具有良好工业应用前景的嗜热嗜酸硫氧化菌作用下, 金属硫化矿表面硫的具体分子形态转化的报导极少。

尽管在光合硫氧化细菌中积累硫球化学形态已有所报道, 但是有关硫球形成和降解的具体机制目前还不清楚。生物浸出体系中硫氧化细菌因为生存环境特殊, 其分子遗传学特性与通常条件下光合硫细菌生长的硫氧化细菌存在很大差别, 目前对该体系中硫氧化细菌作用下硫形态的研究报道仅限于黄铁矿和黄铜矿等金属硫化矿, 并且研究报道结果极其有限。酸性环境下, 单质硫氧化必须通过硫氧化细菌氧化酶系完成, 但是细菌对单质硫的吸附、活化和初步氧化过程一直是悬而未决的难题。细菌对元素硫氧化利用过程就是

细菌作用下元素硫化学形态转变过程, 这与细菌体内氧化酶系密切相关。进一步开展嗜酸硫氧化作用下元素硫赋存形态研究, 将有助于揭示和阐明金属硫化矿物生物溶出过程中硫的分子形态转化规律, 从而为进一步阐明嗜酸硫氧化菌作用下金属硫化矿物生物溶出机理提供理论依据, 以及为进一步研究和阐明嗜酸硫氧化菌代谢途径奠定基础。

REFERENCES

- [1] ROHWERDER T, GEHRKE T, KINZLER K, SAND W. Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2003, 63(3): 239–248.
- [2] ROHWERDER T, SAND W. Oxidation of inorganic sulfur compounds in acidophilic prokaryotes[J]. Eng Life Sci, 2007, 7(4): 301–309.
- [3] HE Zhi-Guo, XIAO Sheng-mu, XIE Xue-hui, ZHONG Hong, HU Yue-hua, LI Qing-hua, GAO Feng-lin, LIU Jian-she, QIU Guan-zhou. Molecular diversity of microbial community in acid mine drainages of Yunfu sulfide mine[J]. Extremophiles, 2007, 11(2): 305–314.
- [4] YANG Yu, WAN Ming-xi, SHI Wu-yang, PENG Hong, QIU Guan-zhou, LIU Xue-duan. Bacterial diversity and community structure in acid mine drainage from Dabaoshan Mine, China[J]. Aquatic Microb Ecol, 2007, 47: 141–151.
- [5] YIN Hua-qun, QIU Guan-zhou, WANG Dian-zuo, CAO Lin-hui, DAI Zhi-min, WANG Jie-wei, LIU Xue-duan. Comparison of microbial communities in three different mine drainages and their efficiency of bioleaching to the low grade of chalcopyrite[J]. J Cent South Univ Technol, 2007, 14: 460–466.
- [6] XIA Jin-lan, PENG An-an, HE Huan, YANG Yu, LIU Xue-duan, QIU Guan-zhou. A new strain *Acidithiobacillus albertensis* BY-05 for bioleaching of metal sulfides ores[J]. Trans Nonferrous Metals Soc China. 2007, 17(1): 168–175.
- [7] QIU Guan-zhou, FU Bo, ZHOU Hong-bo. Isolation of a strain of *Acidithiobacillus caldus* and its role in bioleaching of chalcopyrite[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2007, 23: 1217–1225.
- [8] 何 环, 夏金兰, 彭安安, 邱冠周. 广东梅州浸矿菌的选育及对金属硫化物的浸出[J]. 材料研究与应用. 2007, 1: 182–186.
HE Huan, XIA Jin-lan, PENG An-an, QIU Guan-zhou. Breeding of a strain YS-1 from Meizhou, Guangdong province and its bioleaching trials for metal sulfides ores[J]. Materials Research and Application, 2007, 1: 182–186.
- [9] 丁建南, 于一尊, 何 环, 张成桂, 邱冠周. 嗜热硫氧化杆菌一新菌株的分离与鉴定[J]. 湖南师范大学自然科学版. 2007, 30(4): 104–108.
DING Jian-nan, YU Yi-zun, HE Huan, YIN Hua-qun, ZHANG Cheng-gui, QIU Guan-zhou. Isolation and identification of a new strain in *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Normalis Hunanensis, 2007, 30(4): 104–109.
- [10] 丁建南. 几种高温浸矿菌的分离鉴定及浸矿作用机理与潜力研究[D]. 长沙: 中南大学, 2007.
DING Jian-nan. Isolation, identification of thermophilic leaching microorganisms and studies on their bioleaching mechanism and potential [D]. Changsha: Central South University, 2007.
- [11] ROJAS J, GIERSIG M, TRIBUTSCH H. Sulfur colloids as temporary energy reservoirs for *Thiobacillus ferrooxidans* during pyrite oxidation[J]. Arch Microbiol, 1995, 163: 352–356.
- [12] PRANGE A, CHAUVISTRE R, MODROW H, HORMES J, TRÜPER H G, DAHL C. Quantitative speciation of sulfur in bacterial sulfur globules: X-ray absorption spectroscopy reveals at least three different species of sulfur[J]. Microbiology, 2002, 148: 267–276.
- [13] SCHIPPERS A, ROHWERDER T, SAND W. Intermediary sulfur compounds in pyrite oxidation: implications for bioleaching and biodepyritization of coal[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 52: 104–110.
- [14] ELSHAHED S M, SENKO M J, NAJAR F Z, KENTON S M, ROE A B, DEWERS T A, SPEAR J R, KRUMHOLZ L R. Bacterial diversity and sulfur cycling in a mesophilic sulfide-rich spring[J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69(9): 5609–5621.
- [15] JOHNSON D B. Biodiversity and ecology of acidophilic microorganisms[J]. FEMS Microbiol Ecol, 1998, 27: 307–317.
- [16] 刘飞飞, 周洪波, 符 波, 邱冠周. 不同能源条件下中度嗜热嗜酸细菌多样性分析[J]. 微生物学报, 2007, 47(3): 381–386.
LIU Fei-fei, ZHOU Hong-bo, FU Bo, QIU Guan-zhou. Bacterial diversity analysis of moderately thermophilic microflora enriched by different energy sources[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2007, 47(3): 381–386.
- [17] DONOVAN P K, WOOD A P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov. *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov.[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2000, 50: 511–516.
- [18] 张成桂, 夏金兰, 王 晶, 邱冠周. 嗜酸硫氧化细菌硫氧化进展[J]. 生物技术通报, 2007, 1: 59–65.
ZHANG Cheng-gui, XIA Jin-lan, WANG Jing, QIU Guan-zhou. A model of sulfur oxidation system of *Acidithiobacillus* spp.[J]. Biotechnology Bulletin, 2007, 1: 59–65.
- [19] 张成桂, 夏金兰, 邱冠周. 嗜酸氧化亚铁硫杆菌亚铁氧化系统研究进展[J]. 中国有色金属学报, 2007, 16(7): 1239–1249.
ZHANG Cheng-gui, XIA Jin-lan, QIU Guan-zhou. Progress in research on Fe^{2+} oxidation system of *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. The Chinese Journal of Nonferrous Metals, 2007, 16(7): 1239–1249.
- [20] RAWLINGS D E, TRIBUTSCH H, HANSFORD G S. Reasons why '*Leptospirillum*'-like species rather than *Thiobacillus*

- ferrooxidans* are the dominant iron-oxidizing bacteria in many commercial processes for the biooxidation of pyrite and related ores[J]. Microbiology, 1999, 145: 5–13.
- [21] MELAMUD V S, PIVOVAROVA T A, TOUROVA T P, T V KOLGANOVA, OSIPOV G A, LYSENKO A M, KONDRAT'EVA T F, KARAVAIKO G I. *Sulfobacillus sibiricus* sp. nov., a new moderately thermophilic bacterium[J]. Microbiology, 2003, 72(5): 605–612.
- [22] GHOURI M A, KHALID A M, SUSAN G, HEAPHY S, GRANT W D. Phylogenetic analysis of different isolates of *sulfobacillus* spp. isolated from uranium-rich environments and recovery of genes using integron-specific primers[J]. Extremophiles, 2003, 7: 341–34.
- [23] BOGDANOVA T I, TSAPLINA I A, KONDRAT'EVA T F. *Sulfobacillus thermotolerans* sp. nov., a thermotolerant, chemolithotrophic bacterium[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2006, 56: 1039–1042.
- [24] DOPSON M, LINDSTROM E B. Potential Role of *thiobacillus caldus* in arsenopyrite bioleaching[J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 71: 31–36.
- [25] BROCK T D, BROCK K M, BELLY R T, WEISS R L. *Sulfolobus*: A new genus of sulfur-oxidizing bacteria living at low pH and high temperature[J]. Arch Microbiol, 1972, 84: 54–68.
- [26] KUROSAWA N, ITOH Y H, IWAI T. *Sulfurisphaera ohwakuensis* gen. nov., sp. nov., a novel extremely thermophilic acidophile of the order *sulfolobales*[J]. Int J Syst Bacteriol, 1998, 48: 451–456.
- [27] SEGERER A H, TRINCONE A, GAHRTZ M, STETTER K O. *Stygiolobus azoricus* gen. nov., sp. nov. represents a novel genus of anaerobic, extremely thermoacidophilic archaeobacteria of the order *Sulfolobales*[J]. Int J Syst Bacteriol, 1991, 41(4): 495–501.
- [28] SUZUK I I, CHAN C W, TAKEUCHI T L. Oxidation of elemental sulfur to sulfite by *Thiobacillus thiooxidans* cells[J]. Appl Environ Microbiol, 1992, 58(11): 3767–3769.
- [29] 刘 纓, 齐放军, 林建群, 田克立, 颜望明. 一株中度嗜热嗜酸硫氧化杆菌的分离和系统发育分析[J]. 微生物学报, 2004, 44(3): 382–385.
- LIU Ying, QI Fang-jun, LIN Jian-qun, TIAN Ke-li, YAN Wang-ming. Isolation and phylogenetic analysis of a moderately thermophilic acidophilic sulfur oxidizing bacterium[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2004, 44(3): 382–385.
- [30] 邓敬石, 阮仁满. 影响 *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* 生长及亚铁氧化的因素研究[J]. 矿产综合利用, 2002, 3: 38–41.
- DENG Jing-shi, RUAN Ren-man. Studies on Influencing factors of growth and ferrous iron oxidation of *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*[J]. Multipurpose Utilization of Mineral Resources, 2002, 3: 38–41.
- [31] KINNUNEN P M, PUHAKKA J A. Characterization of iron- and sulphide mineral-oxidizing moderately thermophilic acidophilic bacteria from an Indonesian auto-heating copper mine waste heap and a deep south African gold mine[J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2004, 31(9): 409–414.
- [32] GROGAN D, PALM P, ZILLIG W. Isolate B12, which harbours a virus-like element, represents a new species of the archaeobacterial genus *Sulfolobus*, *Sulfolobus shibatae*, sp. nov.[J]. Arch Microbiol, 1992, 154: 594–599.
- [33] QUN X S, SINGH R K, CONFALONIERI F, ZIVANOVIC Y, ALLARDE G, AWAYEZA M J, CURTIS B A, MOORSE A D, ERAUSOG G, FLETCHER C, PAUL M K. The complete genome of the crenarchaeon *Sulfolobus solfataricus* P2[J]. PNAS, 2001, 98(14): 7835–7840.
- [34] DOPSON M, SUNDKVIST J E, LINDSTROM E B. Toxicity of metal extraction and flotation chemicals to *Sulfolobus metallicus* and chalcopyrite bioleaching[J]. Hydrometallurgy, 2006, 81: 205–213.
- [35] CHEN L M, BRÜGGER K, SKOVGAARD M, KURT H, NAOKI N, TAKAHIDE K, TOSHIKI U, AKIHIKO Y, TAIRO O. REDDER P, She Qun-xin, TORARINSSON E, GREVE B, AWAYEZA M, ZIBAT, KLENK H P, GARRETT R A. The Genome of *Sulfolobus acidocaldarius*, a model organism of the crenarchaeota[J]. J Bacteriol, 2005, 187(14): 4992–4994.
- [36] TOSHIHARU S, TOSHIO I, TAKETOSHI U. *Sulfolobus tokodaii* sp. nov. (*Sulfolobus* sp. strain 7), a new member of the genus *sulfolobus* isolated from beppu hot springs, Japan[J]. Extremophiles, 2002, 6: 39–44.
- [37] ITOH Y H, KUROSAWA N, UDA I, SUGA A, TANOUE S, ITOH T, HORIUCHI T, ITOH T. *Metallosphaera sedula* TA-2, a calditoglycerocaldarchaeol deletion strain of a thermoacidophilic archaeon[J]. Extremophiles, 2001, 5: 241–245.
- [38] FUCHS T, HUBER H, TEINER K, BURGGRAF S, STETTER K O. *Metallosphaera prunae* sp. nov., a novel metal-mobilizing, thermoacidophilic archaeum, isolated from a uranium-mine in Germany[J]. Syst Appl Microbiol, 2007, 18: 560–566.
- [39] KUROSAWA N, ITOH Y H, ITOH T. Reclassification of *Sulfolobus hakonensis takayanagi* et al. 1996 as *Metallosphaera hakonensis* comb. nov. based on phylogenetic evidence and DNA G+C content[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53: 1607–1608.
- [40] KONISHI Y, TOKUSHIGE M, ASAI S, SUZUKI T. Copper recovery from chalcopyrite concentrate by acidophilic thermophile *Acidianus brierleyi* in batch and continuous-flow stirred tank reactors[J]. Hydrometallurgy, 2001, 59: 271–282.
- [41] SEGERER A, NEUNER A, KRISTJANSSON J K, STETTER K O. *Acidianus infernus* gen. nov., sp. nov., and *acidianus brierleyi* comb. nov.: Facultatively aerobic, extremely acidophilic thermophilic sulfur-metabolizing archaeobacteria[J]. Int J Syst Bacteriol, 1986, 36(4): 559–564.
- [42] FUCHS T, HUBER H, BURGGRAF S, et al. 16S rDNA-based phylogeny of the archaeal order *Sulfolobales* and reclassification

- of *Desulfurolobus ambivalens* as *Acidianus ambivalens* comb. nov.[J]. Syst Appl Microbiol, 1996, 19(1): 56–60.
- [43] ZILLIG W, YEATS S, HOLZ I, BOECK A, RETTENBERGER M, GROPP F, SIMON G. *Desulfurolobus ambivalens*, gen. nov., sp. nov., an autotrophic archaeobacterium facultatively oxidizing or reducing sulfur[J]. Syst Appl Microbiol, 1986, 8(3): 197–203.
- [44] PLUMB J J, HADDAD C M, GIBSON J A E, FRANZMANN P D. *Acidianus sulfidivorans* sp. nov., an extremely acidophilic, thermophilic archaeon isolated from a solfatara on Lihir Island, Papua New Guinea, and emendation of the genus description[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2007, 57: 1414–1423.
- [45] YOSHIDA N, NAKASATO M, OHMURA N, ANDO A, SAIKI H, ISHII M, IGARASHI Y. *Acidianus manzaensis* sp. nov., a novel thermoacidophilic archaeon growing autotrophically by the oxidation of H_2 with the reduction of Fe^{3+} [J]. Curr Microbiol, 2006, 53(5): 406–411.
- [46] HE Z G, ZHONG H, LI Y. *Acidianus tengchongensis* sp. nov., a new species of acidothermophilic archaeon isolated from an acidothermal spring[J]. Curr Microbiol, 2004, 48: 159–163.
- [47] STEINBUCHER A. Microbiology monographs[M]. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2006: 21–51.
- [48] WILFRED E K, ARIE D K, ALBERT J H J. Biologically produced sulfur[J]. Topics Curr Chem, 2003, 230: 167–188.
- [49] PRANGE A, ARZBERGER I, ENGEMANN C, et al. In situ analysis of sulfur in the sulfur globules of phototrophic sulfur bacteria by X-ray absorption near edge spectroscopy[J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 1428: 446–454.
- [50] PICKERING I J, GEORGE G N, YU E Y, BRUNE D C, TUSCHAK C, OVERMANN J, BEATTY J T, PRINCE R C. Analysis of sulfur biochemistry of sulfur bacteria using X-ray absorption spectroscopy[J]. Biochemistry, 2001, 40: 8138–8145.
- [51] KNICKERBOCKER C, NORDSTROM D K, SOUTHAM G. The role of "blebbing" in overcoming the hydrophobic barrier during biooxidation of elemental sulfur by *Thiobacillus thiooxidans*[J]. Chem Geol, 2000, 169: 425–433.
- [52] BRYANT R D, MCGROARTY K M, COSTERTON J W, LAISHLEY E J. Isolation and characterization of a new acidophilic *Thiobacillus* species (*T. albertis*)[J]. Can J Microbiol, 1983, 29: 1159–1170.
- [53] STEUDEL R. Aqueous sulfur sols[J]. Topics in Current Chemistry, 2003, 230: 153–166.
- [54] OHMURA N, TSUGITA K, KOIZUMI J I. Sulfur-binding protein of flagella of *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. J Bacteriol, 1996, 178(19): 5776–5780.
- [55] ROHWERDER T, SAND W. The sulfane sulfur of persulfides is the actual substrate of the sulfur-oxidizing enzymes from *Acidithiobacillus* and *Acidiphillum* spp.[J]. Microbiology, 2003, 149: 1699–1709.
- [56] BEVILAQUA D, LEITE A, GARCIA O, TUOVINEN O H. Oxidation of chalcopryrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in shake flasks[J]. Process Biochem, 2002, 38(4): 587–592.
- [57] SHI S Y, FANG Z X. Bioleaching of marmatite flotation concentrate by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*[J]. Trans Nonferrous Metal Soc China, 2004, 14(3): 569–575.
- [58] FOWLER T A, CRUNDWELL F K. Leaching of zinc sulfide by *Thiobacillus ferrooxidans*: bacterial oxidation of the sulfur product layer increases the rate of zinc sulfide dissolution at high concentrations of ferrous ions[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(12): 5285–5292.
- [59] FALCO L, POGLIANI C A. Comparison of bioleaching of covellite using pure cultures of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* or a mixed culture of *Leptospirillum ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*[J]. Hydrometallurgy, 2003, 71: 31–36.
- [60] KLAUBER C, PARKER A, WILHELM V B, WATLING H. Sulphur speciation of leached chalcopryrite surfaces as determined by X-ray photoelectron spectroscopy[J]. Int J Min Proc, 2001, 62: 65–94.
- [61] HARMER S L, THOMAS J E, FORNASIERO D, GERSON A R. The evolution of surface layers formed during chalcopryrite leaching[J]. Geochim Cosmochim Acta, 2006, 70(17): 4392–4402.
- [62] SCHIPPERS A, JOZSA P G, SAND W. Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite[J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62(9): 3424–3431.
- [63] HALLBERG K B, DOPSON M, LINDSTRO E B. Reduced sulfur compound oxidation by *Thiobacillus caldus*[J]. J Bacteriol, 1996, 178(1): 6–11.
- [64] STEUDEL R, HOLDT G, CHEM D, THOMAS G, HAZEU I W. Chromatographic separation of higher polythionates S_nO [$stack{20}$] ($n = 3, \dots, 22$) and their detection in cultures of *Thiobacillus ferrooxidans*; molecular composition of bacterial sulfur secretions[J]. Ang Chem Int Ed, 1987, 26(2): 151–153.
- [65] MEULENBERG R, PRONK J T, HAZEU W, BOS P, KUENEN J G. Oxidation of reduced sulphur compounds by intact cells of *Thiobacillus acidophilus*[J]. Arch Microbiol, 1992, 157(2): 161–168.
- [66] SUGIO T, KANAO T, FURUKAWA H, NAGASAWA T, BLAKE R C. Isolation and identification of an iron-oxidizing bacterium which can grow on tetrathionate medium and the properties of a tetrathionate-decomposing enzyme isolated from the bacterium[J]. Ferment Bioeng, 1996, 82(3): 233–238

(编辑 龙怀中)