



文章栏目：土壤污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.202110154 中图分类号 X53 文献标识码 A

李姗颖, 张立鑫, 李梅. 高效锑氧化菌的筛选鉴定及其对土壤中锑迁移转化的影响[J]. 环境工程学报, 2022, 16(5): 1602-1609. [LI Shanying, ZHANG Lixin, LI Mei. Isolation and identification of a high efficiency antimony oxidizing bacterium and its effect on the migration and transformation of antimony in soil[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(5): 1602-1609.]

## 高效锑氧化菌的筛选鉴定及其对土壤中锑迁移转化的影响

李姗颖<sup>1</sup>, 张立鑫<sup>2</sup>, 李梅<sup>1,✉</sup>

1. 山东建筑大学市政与环境工程学院, 济南 250101; 2. 中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京 100085

**摘要** 为了筛选出高抗性的锑 (Antimony, Sb) 氧化菌株, 并阐释该细菌对土壤中 Sb 迁移转化的机制, 从 Sb 污染土壤中富集培养并分离出 Sb 高抗性和高氧化效率的菌株, 结合细菌形态、生理生化检测、16S rDNA 基因序列分析等方法, 确定了菌株的分类地位; 通过该细菌与 Sb 污染土壤共孵育实验, 研究了细菌对土壤中 Sb 迁移转化的影响。结果表明, 筛选得到的菌株为假单胞菌属 *Pseudomonas*, 命名为 *Pseudomonas* sp. ZLX16; 菌株 ZLX16 能够耐受  $2 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  的 Sb(III) 以及  $10 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  的 Sb(V), 并且在 3 d 内可以将  $100 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-3}$  的 Sb(III) 完全氧化。土壤孵育实验表明, 该菌株能够显著减少 Sb 从固相土壤到液相中的释放量达 63.5%, 对土壤颗粒表面的 Sb(III) 有氧化作用, 并且能够促进 Sb(V) 以强吸附态的形式固定在土壤中; 该菌株对 Sb 的氧化速率较快, 并且可以显著降低土壤中 Sb 的流动性, 对修复 Sb 矿区污染土壤具有潜在的应用价值。本研究结果可为了解微生物影响土壤中污染物的迁移转化机制提供参考。

**关键词** 锑氧化菌; 分离鉴定; 迁移转化; 锑污染土壤

锑 (Sb) 是自然界中存在的一种有毒重金属。长期接触 Sb 可导致严重的健康问题, 如引起人体肝脏、皮肤、呼吸系统和心血管系统疾病。因此, Sb 被美国和欧盟列为优先控制污染物<sup>[1]</sup>。我国是世界上最大的 Sb 生产国, 全球超过 80% 的 Sb 供应量来自中国西南部的矿山<sup>[2]</sup>。环境中 Sb 既可以通过自然过程, 如岩石风化、热液喷发等产生, 也可以通过人为活动, 如矿山开采、化石燃料燃烧、地下水抽取等过程产生<sup>[3]</sup>。在 Sb 高污染地区, Sb 负荷超过土壤的自然衰减能力, 故导致 Sb 在谷物和蔬菜中积累, 进而沿食物链富集, 对人类健康构成巨大的威胁。有研究者发现, Sb 矿区附近居民膳食中 Sb 摄入量是健康标准 ( $360 \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 的 1.5 倍<sup>[4]</sup>。严峻的 Sb 污染形势, 促使全球开始关注 Sb 的生物地球化学过程<sup>[5]</sup>。

Sb 的化学形态决定了它的毒性、生物利用度和环境迁移性<sup>[6]</sup>。在自然环境中, Sb 主要有 2 种无机形态, 在含氧环境中以五价锑酸盐 [Sb(V)] 为主要形态, 而在缺氧条件下主要以毒性较大的三价亚锑酸盐 [Sb(III)] 形式存在<sup>[7]</sup>。在使用  $\text{O}_2$  作为电子受体的自然环境条件下, Sb 的氧化是极其缓慢的, 而微生物介导的酶促反应在 Sb 的形态转化中起着重要的作用<sup>[8]</sup>。Sb 氧化细菌 (SbOB) 编码的锑氧化酶能够催化 Sb(III) 向 Sb(V) 的转化, 以降低 Sb 的毒性, 从而为 Sb 污染环境的生物修复提

收稿日期: 2021-10-30; 录用日期: 2022-01-06

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (42077299)

第一作者: 李姗颖 (1995—), 女, 硕士研究生, 1330424948@qq.com; ✉通信作者: 李梅 (1964—), 女, 博士, 教授, limei@sdjzu.edu.cn

供了基础<sup>[9]</sup>。

近年来，微生物参与的 Sb 的生物地球化学循环及其介导 Sb 在固液界面之间的迁移转化引起了较多关注。生物吸附是 Sb 与微生物复杂的相互作用过程的第一步。大多数微生物表面含有多种带负电荷的基团，如羧基、氨基、羟基，这些基团通过络合、静电吸引和离子交换等作用方式吸附和固定包括 Sb 在内的多种重金属<sup>[10]</sup>。菌体表面的吸附作用能显著影响土壤中溶解离子的迁移和转化。另一方面，大多数土壤微生物会附着在含铁、锰、铝氧化物的天然黏土矿物上，形成的微生物—矿物复合物成为土壤中 Sb 的重要吸附剂<sup>[11]</sup>。目前，较多研究集中在锑氧化菌的筛选鉴定和分子机理的探究。虽然已经分离出了一些 SbOB，但受到 Sb 耐受性或氧化效率的限制，关于 SbOB 在 Sb 污染土壤中对 Sb 迁移转化的影响机制有待阐明<sup>[12]</sup>。因此，本研究的目的是：1) 从 Sb 污染土壤中分离和鉴定新的高效 SbOB；2) 阐释 SbOB 对污染土壤中 Sb 的存在形态以及迁移转化的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验原料

筛菌的土壤样品选自锑矿资源丰富的贵州省三都县苗龙村 (26°25'1"N, 107°52'33"E)。使用土壤采集器收集矿厂排水口附近的沉积物，将采回的样品风干后过筛。经测定，土壤锑质量分数为 155.9 mg·kg<sup>-1</sup>。

用于孵育的土壤选取湖南省冷水江市锡矿山龙王池末段矿泥 (27°44'39"N, 11°27'44"E)，土壤中金属元素的质量分数如表 1 所示。按照我国《土壤环境质量建筑用地土壤污染风险管控标准》(试行)(GB36600-2018)<sup>[13]</sup> 规定，工矿用地中锑的管制值为 360 mg·kg<sup>-1</sup>，供试污染土壤样品中的 Sb 大约是管制值的 4.7 倍。

表 1 土壤中金属元素的质量分数

Sb	As	Fe	Mn	Ca	Mg	Al
1 677	409	10 278	98	35 229	1 909	16 688

主要试剂：酒石酸锑钾 (C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>K<sub>2</sub>O<sub>12</sub>Sb<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O)、焦锑酸钾 (K<sub>2</sub>H<sub>2</sub>Sb<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·4H<sub>2</sub>O)。LB 培养基 (1 L 液体培养基中含有蛋白胨 10 g、酵母 5 g、氯化钠 5 g, pH 约为 7.5)，CDM 培养基 (1 L 液体培养基中含有 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 2 g; NH<sub>4</sub>Cl, 1 g; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.013 g; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.067 g; Na-lactate, 5 g; Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.033 g; NaHCO<sub>3</sub>, 0.798 g)，固体培养基为液体培养基中加入 1.5% 的琼脂制备。

### 1.2 实验方法

首先，从锑污染土壤中分离筛选出 Sb 氧化率较高 (>90%) 的菌株<sup>[9,14]</sup>，验证其对 Sb 的抗性及其氧化效率；然后，进行锑氧化菌与土壤的孵育实验，所有处理均重复 3 次。

**Sb 抗性实验。**接种 1% 菌液到 100 mL 的 LB 培养基中，设置 Sb(III) 浓度梯度为 0、0.1、1、2、3 mol·m<sup>-3</sup>，设置 Sb(V) 浓度梯度为 0、0.1、1、5、10 mol·m<sup>-3</sup>，每隔 2 h 取样，使用分光光度计测定细菌的 OD<sub>600</sub> 并绘制生长曲线。

**Sb 氧化实验。**接种 1% 菌液于 Sb(III) 浓度为 100 mmol·m<sup>-3</sup> 的 100 mL CDM 培养液的三角瓶中，在 30 °C、180 r·min<sup>-1</sup> 下震荡培育 6 d，间隔适当的时间取样 1 mL，离心后使用 0.22 μm 滤膜过滤，利用原子荧光光谱仪 (AFS) 测定 Sb 的形态和浓度。

**土壤孵育实验。**将 5 g 已灭菌的土壤加入到 200 mL 已灭菌的 CDM 培养基中，将筛选得到的锑氧化细菌以 1% 的接种量加入上述体系中，设为加菌体系，对照体系中不接种细菌。在 30 °C、180 r·min<sup>-1</sup> 下震荡培育，前 10 d 每隔 2 d 取样 1 mL，之后，间隔 5 d 取样 1 mL，样品过 0.22 μm 滤膜，用原子荧光光谱仪 (AFS) 测定 Sb(III) 和 Sb(V) 的浓度。取样时测定 pH 值，并使用稀 HCl 或 NaOH 调节加菌体系中的 pH，使其与对照体系的 pH 保持一致。另外取出 100 μL 溶液稀释适当倍

数用于平板涂布, 计数细菌的生长情况。

细菌对锑的吸附实验。在 CDM 培养基中, 将细菌培养至对数生长期, 加入  $50 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-3}$  Sb(III) 和  $50 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-3}$  Sb(V), 设为加菌体系, 在  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  下, 以  $180 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  振荡培养, 在 0 和 4 h 时取样, 以  $5000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min, 上清液过  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜, 用原子荧光光谱仪 (AFS) 测定 Sb 的浓度。设置不加菌的对照体系, 加菌体系与对照体系溶液中的 Sb 含量之差即为细菌对 Sb 的吸附量<sup>[15]</sup>。

萃取实验。将土壤孵育实验结束后的土壤样品进行萃取, 表 2 显示了土壤萃取的步骤及每种萃取剂所针对的锑的萃取形态<sup>[16]</sup>, 将过滤得到的萃取液用原子荧光光谱仪 (AFS) 测定 Sb 的形态和浓度。

表 2 Sb 土壤中 Sb 的顺序萃取

Table 2 Sequential extraction of antimony from soil

步骤	萃取剂及萃取条件	萃取形态
1	$1\times 10^3 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$ $\text{MgCl}_2$ , pH=8, 2 h, $25 \text{ }^\circ\text{C}$	离子结合态
2	$1\times 10^3 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$ $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , pH=5, 24 h, $25 \text{ }^\circ\text{C}$	强吸附态

### 1.3 表征方法

菌体样品经过预处理后使用扫描电子显微镜 (Quattro, 北京理德东方科技有限公司) 观察菌体的表面形貌<sup>[17]</sup>。将土壤样品冷冻干燥, 研磨过 200 目筛用于土壤样品的表征。采用 X 射线粉末衍射仪 (X' Pert 3 powder, 荷兰帕纳科分析仪器有限公司) 分析土壤样品中物质的晶体结构。利用显微激光共聚焦拉曼光谱仪 (LabRAM HR evolution, 东方科学仪器进口集团有限公司) 对土壤样品中存在的官能团进行分析<sup>[18]</sup>。利用 X 射线光电子能谱 (AXIS SUPRA, 岛津公司) 分析 Sb 的 4d 轨道在土壤颗粒表面的分布。

## 2 结果与讨论

### 2.1 锑氧化菌的分离筛选与鉴定

1) 形态观察及生理生化特征。如图 1 所示, 生长在 CDM 平板上的菌落呈淡黄色, 不透明, 形状不规则, 表面有褶皱并突起。利用 SEM 扫描电镜对细菌进行观察, 菌体为杆状, 长约  $1 \mu\text{m}$ 。对细菌生理生化特性进行鉴定如表 3 所示。



(a) 菌落形态

(b) 扫描电镜图片

图 1 细菌的形态特征

Fig. 1 Morphology of strain

表 3 细菌的生理生化特征

Table 3 Physiological and biochemical characteristics of strain

生理生化指标	可利用性	生理生化指标	可利用性
葡萄糖	+	甘露醇	-
果糖	+	接触酶	+
木糖	+	M.R.	-
蔗糖	-	V.P.	-
麦芽糖	+	淀粉水解	+
阿拉伯糖	+	苯丙氨酸	-
山梨醇	-	马尿酸盐	-

注: 表中“+”表示阳性或者能够利用; “-”表示阴性或者不能利用。

2) 系统发育树。如图 2 所示, 16S rDNA 基因系统发育树, 显示了细菌的亲缘关系。该菌株与 *Pseudomonas stutzeri* CCUG 11 256 (NR 118 798.1) 菌株的同源性达 94%, 为假单胞菌属, 命名为 *Pseudomonas* sp. ZLX16。

### 2.2 锑氧化菌株的生物学特性分析

1) 生长曲线及对锑的耐受性。菌株 ZLX16 对 Sb(III) 和 Sb(V) 都具有一定的抗性能力。菌株 ZLX16 的最小生长抑制浓度分别为  $2 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$  Sb(III)、至少  $10 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$  Sb(V)。好氧 SbOB 的 MIC 值普遍分布在 Sb(III)  $0.1\sim 5 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$  及 Sb(V)  $10 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$  以上的范围<sup>[9, 14, 19]</sup>。已有研究<sup>[14]</sup>表明, 从 11 种不同地区的锑矿土壤中分离出 125 株可培养的 Sb(III) 抗性细菌, 其中不动杆

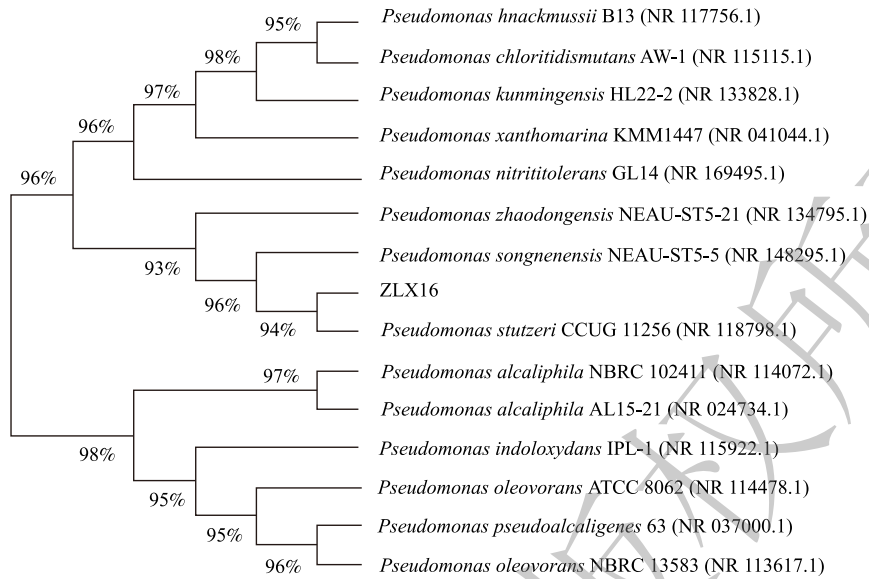


图 2 基于 16S rDNA 基因序列 Neighbor-Joining 法构建的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree constructed by neighbor-joining method of 16S rDNA gene sequence

菌属对 Sb(III) 的 MIC 最高为  $3.43 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$ ，假单胞菌属为  $1.65 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$ 。相较于假单胞菌属，菌株 ZLX16 对 Sb(III) 具有较强的抗性。ZLX16 对 Sb(V) 的 MIC 高于  $10 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$ ，这说明 Sb(V) 的毒性远低于 Sb(III)。值得注意的是，实验中用于菌株筛选的土壤 Sb 的质量分数约为  $155.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。可见，为了应对高 Sb 的毒性环境，菌株进化出了较强的 Sb 耐受能力，这也进一步解释了 SbOB 的 Sb 耐受性较强的原因。

2) 氧化实验。如图 3 所示，Sb 氧化细菌 ZLX16 在 3 d 内能够将 97.3% 的 Sb(III) 氧化为 Sb(V)，氧化速率为  $29.5 \mu\text{mol} \cdot \text{d}^{-1}$ 。在 LI 等<sup>[9]</sup>分离得到的 Sb 氧化菌中，氧化效率最高的 *Comamonas* spp.S44 和 JL40，其氧化速率分别为  $16.67$  和  $10.00 \mu\text{mol} \cdot \text{d}^{-1}$ 。相较于已报道<sup>[19]</sup>的一系列 Sb 氧化菌中，菌株 ZLX16 表现为较强的 Sb 氧化速率。

### 2.3 细菌对土壤中锑的迁移转化实验

1) 菌株 ZLX16 对土壤中锑的释放及氧化。土壤孵育实验过程中，Sb 的释放量变化如图 4(a) 所示。其中，只有 Sb(V) 从土壤释放到液相，Sb(III) 浓度低于检测限。加菌体系和对照体系在 25 d 时，释放到液相的 Sb(V) 浓度分别为  $15.0$  和  $41.1 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-3}$ ，加菌体系中 Sb 的释放量比对照体系中减少约 63.5%。这表明，细菌能够明显阻碍 Sb 由固相到液相中的转移。

实验过程中通过涂平板计数来掌握细菌的生长情况，同时监测了 pH 的变化。图 4(b) 中细菌的生长曲线表明，细菌生长状态良好，细菌数在第 10 d 左右达到最大量。对照体系中的 pH 初始为 8.2，随培养时间的延长有缓慢上升的趋势，在第 6 d 稳定在 8.9 左右。加菌体系中 pH 较对照体系略有上升，通过调节 pH，使之与实验体系保持一致，以排除 pH 变化对 Sb 的状态的影响。

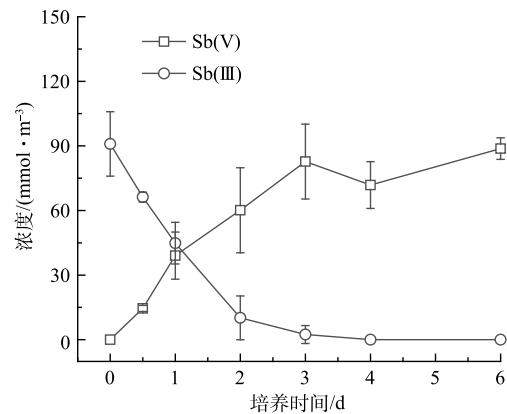


图 3 菌株 ZLX16 对 Sb(III) 的氧化效率曲线

Fig. 3 Sb(III) oxidation efficiency curve of strain ZLX16

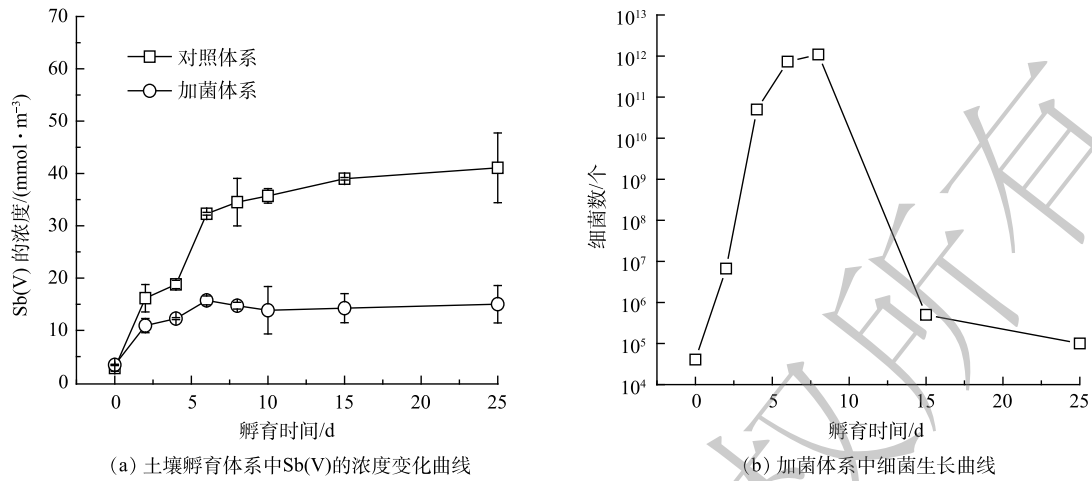


图4 土壤孵育体系中Sb的浓度及细菌生长曲线

Fig. 4 Sb concentration in soil incubation systems and growth curve of strain

为了探究菌株ZLX16对土壤中Sb存在形态的影响,对土壤中以离子结合态和强吸附态形式结合的Sb分别进行了萃取。如图5(a)、图5(b)所示,对比2个体系土壤中Sb(III)的质量分数,菌株ZLX16对固相中离子结合态和强吸附态的Sb(III)都有一定的氧化作用,氧化率分别为46.2%和41.9%。而且,2个体系中以离子结合态形式存在的Sb(III)较低,对照体系和加菌体系分别为1.8和0.9 mg·kg<sup>-1</sup>;以强吸附态形式存在的Sb(III)较高,对照体系和加菌体系分别为40.2和23.3 mg·kg<sup>-1</sup>。由于环境中Sb(III)主要以Sb(OH)<sub>3</sub>形式存在,呈电中性,易与土壤产生静电吸附,导致Sb(III)不易从固相中释放<sup>[20]</sup>,因此,2个体系中的Sb(III)均以强吸附态形式为主,这与图4(a)中未检测到Sb(III)的现象相符。

对比2个体系土壤中Sb(V)的质量分数,如图5(a)所示,加菌体系中和对照体系中以离子结合态形式存在的Sb(V)分别为9.9和17.1 mg·kg<sup>-1</sup>,此结果与图4(a)加菌体系中Sb(V)释放量低的现象一致。图5(b)显示,加菌体系和对照体系中以强吸附态形式存在的Sb(V)分别为13.5和2.9 mg·kg<sup>-1</sup>。这表明ZLX16可以将一部分游离态Sb(V)转化为强吸附态Sb(V),从而固定在土壤中。由于环境中Sb(V)主要以Sb(OH)<sub>6</sub>形式存在,与土壤存在静电斥力,流动性较强,容易释放,因此,2个体系中的Sb(V)均以离子结合态形式为主。

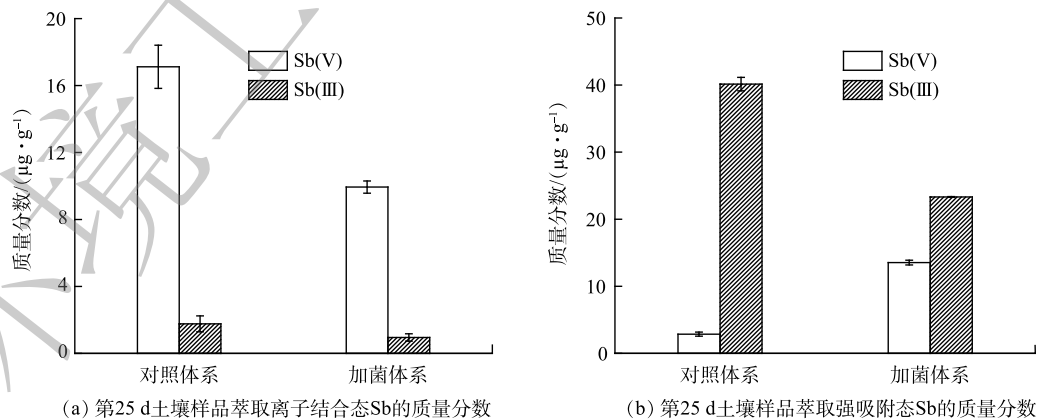


图5 土壤孵育体系中Sb的质量分数

Fig. 5 Mass fraction of Sb in soil incubation systems

2) 细菌和土壤对锑的吸附。为了探究加菌体系与对照体系相比所减少的Sb的去向,进行了细菌吸附实验和土壤消解实验。细菌吸附实验结果表明,细菌对Sb的吸附量约为16 mg·g<sup>-1</sup>。已有研

究证实, 细菌表面的大分子物质和官能团可以吸附络合重金属离子<sup>[21]</sup>。杜辉辉等<sup>[15]</sup>发现, 细菌主要通过细胞壁或胞外EPS的羧基、氨基络合Sb, 实验结果表明理论最大吸附容量约为1%。这主要是由于锑以含氧酸根的形式存在, 与细菌存在静电斥力, 导致吸附量较少。土壤消解结果显示, 加菌体系和对照体系的土壤中Sb分别为1 114、1 037 mg·kg<sup>-1</sup>。与对照体系相比, 加菌体系液相中减少的Sb中有92.0%被固定在土壤中。这说明, 在细菌的作用下, 土壤对锑的吸附能力增强。

3) XRD表征。为了探究细菌对土壤中成分的影响, 采用XRD手段对土壤样品中物质的晶体结构进行了分析。如图6所示, 土壤中含有晶型较好的SiO<sub>2</sub>。此外, 土壤中的Fe、Al、Ca含量较高, 可能会存在Fe、Al、Ca化合物。但从XRD中未发现Fe、Al、Ca等元素的衍射峰, 这说明土壤中的铁铝钙大部分是以无定形化合物的形态存在<sup>[22]</sup>。无定形的铁氧化物或无定形的铁、铝含水氧化物是Sb(V)吸附的主要土壤成分, 具有更大的比表面积, 可与重金属离子发生共沉淀, 从而增加土壤对重金属的吸附能力<sup>[23]</sup>。从XRD图谱中可发现, 加菌体系中出现铁锰水合氢氧化物(MnFe<sub>2</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>OH<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O)的衍射峰, 铁、锰氧化物是土壤中Sb吸附和氧化过程的重要物质, 这方面已有较多报道<sup>[24-26]</sup>。徐伟等<sup>[26]</sup>推测, Sb(V)在铁锰复合氧化物表面形成内层络合物, Sb(V)吸附量随离子强度的增加而增加。然而, 在研究环境中Sb的迁移转化时, 必须考虑铁、锰氧化物与有机物的复合物。细菌在土壤矿物表面粘附并形成生物膜是环境中常见的过程, 这个过程可能会改变这些团聚体的理化性质, 从而影响团聚体与金属的结合行为<sup>[27]</sup>。

4) 拉曼表征。进一步采用拉曼手段检测了土壤官能团组成, 如图7所示, 加菌体系中出现δ-FeOOH(六方纤铁矿)和γ-FeOOH(纤铁矿)峰<sup>[28-29]</sup>。这说明, 细菌促进土壤中的铁氧化物生成无定形的羟基氧化铁。无定形的羟基氧化铁表面暴露着非常活泼的(-OH、-OH<sub>2</sub>)官能团, 使其具有巨大比表面积、表面氧化还原和配位络合能力, 因此一直被视为重金属的高效吸附剂。FeOOH的晶型如α-FeOOH(针铁矿)和β-FeOOH(四方纤铁矿)、δ-FeOOH(六方纤铁矿)、γ-FeOOH(纤铁矿)被视作As(V)的良好吸附剂, 加菌体系中检测出的δ-FeOOH和γ-FeOOH在作为污染水中重金属的吸附剂方面具有相当大的前景<sup>[30-31]</sup>。Sb与As处于同一主族, 具有相似的化学性质, 故可推测羟基氧化铁对Sb也具有较强的吸附能力。这也解释了Sb被土壤固定的原因。

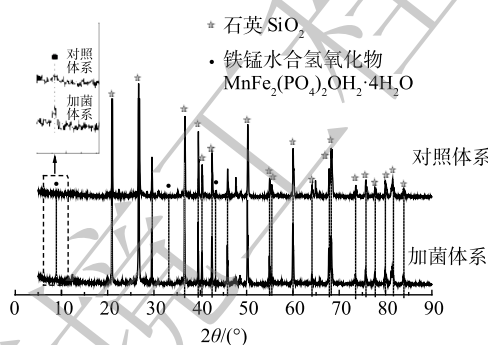


图6 土壤的XRD图谱

Fig. 6 XRD pattern of soil samples

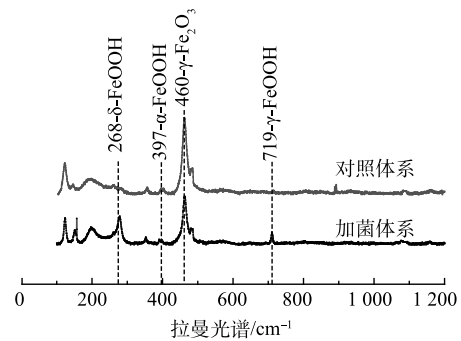


图7 土壤的拉曼光谱

Fig. 7 Raman spectroscopy of soil samples

### 3 结论

1) 从Sb污染地区分离鉴定得到1株Sb氧化细菌ZLX16, 通过比对16S rDNA基因序列, 鉴定为假单胞菌属*Pseudomonas*。综合该细菌的生物学特性, 发现该细菌对Sb有较强的抗性和氧化性。该菌株为进一步研究微生物氧化Sb的机理和生物修复锑污染土壤提供了菌种资源。

2) 土壤中Sb从固相到液相的迁移以Sb(V)为主。Sb氧化菌ZLX16能够将土壤颗粒表面的Sb(III)氧化, 生成的Sb(V)以强吸附态的形式被固定在土壤中, 从而可阻碍Sb(V)从固相释放到

液相。

3) 土壤的 XRD 和拉曼光谱显示, 菌株 ZLX16 促进土壤产生 Fe-Mn 氧化物和 FeOOH, 以增强对 Sb 的吸附能力, 从而可降低土壤中 Sb 的流动性。

## 参考文献

- [1] 许瑞, 南小龙, 蒋国清, 等. 镉污染土壤微生物修复机制研究进展[J]. 矿产保护与利用, 2020, 40(4): 23-34.
- [2] LI J, WANG Q, OREMLAND R S, et al. Microbial Antimony Biogeochemistry: Enzymes, Regulation, and Related Metabolic Pathways[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(18): 5482-5495.
- [3] CHU J W, MAO J S, HE M C. Anthropogenic antimony flow analysis and evaluation in China[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 683: 659-667.
- [4] WU F, FU Z, LIU B, et al. Health risk associated with dietary co-exposure to high levels of antimony and arsenic in the world's largest antimony mine area[J]. *Science of the Total Environment*, 2011, 409(18): 3344-51.
- [5] YAN L, CHAN T, JING C. Mechanistic study for stibnite oxidative dissolution and sequestration on pyrite[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 262: 114309.
- [6] TERRY L R, KULP T R, WIATROWSKI H, et al. Microbiological oxidation of antimony(III) with oxygen or nitrate by bacteria isolated from contaminated mine sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(24): 8478-8488.
- [7] WANG L Y, YE L, YU Y Q, et al. Antimony redox biotransformation in the subsurface: Effect of indigenous Sb(V) respiring microbiota[J]. *Environmental Science and Technology*, 2018, 52(3): 1200-1207.
- [8] 程爱华, 郑蕾. 生物铁修复Cr(VI)污染土壤的性能及机理[J]. *环境工程学报*, 2018, 12(10): 2892-2898.
- [9] LI J, WANG Q, ZHANG S, et al. Phylogenetic and genome analyses of antimony-oxidizing bacteria isolated from antimony mined soil[J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2013, 76: 76-80.
- [10] 徐一芑, 黄益宗, 张利田, 等. 镉污染土壤修复技术的文献计量分析[J]. *环境工程学报*, 2020, 14(10): 2882-2894.
- [11] MOON E M, PEACOCK C L. Adsorption of Cu(II) to ferrihydrite and ferrihydrite-bacteria composites: Importance of the carboxyl group for Cu mobility in natural environments[J]. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2012, 92: 203-219.
- [12] YE L, MENG X G, JING C Y. Influence of sulfur on the mobility of arsenic and antimony during oxic-anoxic cycles: Differences and competition[J]. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2020, 288: 51-67.
- [13] 生态环境部, 国家市场监督管理总局. 土壤环境质量建设用土壤污染风险管控标准(试行) GB 36600-2018 [S]. 北京: 中国环境出版社, 2018.
- [14] SHI Z, CAO Z, QIN D, et al. Correlation models between environmental factors and bacterial resistance to antimony and copper[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10).
- [15] 杜辉辉, 刘新, 陶洁, 等. 3种耐镉土壤细菌的筛选及对镉的吸附研究[J]. *环境科学学报*, 2020, 40(6): 2205-2211.
- [16] KEON N E, SWARTZ C H, BRABANDER D J, et al. Validation of an arsenic sequential extraction method for evaluating mobility in sediments[J]. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35(16): 3396.
- [17] 胡春辉, 徐青, 孙璇, 等. 几种典型扫描电镜生物样本制备[J]. *湖北农业科学*, 2016, 55(20): 5389-5392.
- [18] LIU W, WANG H, DU J, et al. Raman microspectroscopy of nucleus and cytoplasm for human colon cancer diagnosis[J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, 97: 70-74.
- [19] VAN KHANH N, LEE J U. Antimony-Oxidizing Bacteria Isolated from Antimony-Contaminated Sediment - A Phylogenetic Study[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2015, 32(1): 50-58.
- [20] LEUZ A K, MONCH H, JOHNSON C A. Sorption of Sb(III) and Sb(V) to goethite: Influence on Sb(III) oxidation and mobilization[J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40(23): 7277-7282.
- [21] ZHANG L, YE L, YIN Z, et al. Mechanistic study of antimionate reduction by *Escherichia coli* W3110[J]. *Environmental Pollution*, 2021: 118258.
- [22] 张林, 卢金锁. *Pantoea* sp. IMH介导土壤中砷的形态转化[J]. *环境科学*, 2017, 38(9): 3937-3943.
- [23] 杨宾, 罗会龙, 刘士清, 等. 淹水对土壤重金属浸出行为的影响及机理[J]. *环境工程学报*, 2019, 13(4): 936-943.
- [24] BELZILE N, CHEN Y W, WANG Z J. Oxidation of antimony (III) by amorphous iron and manganese oxyhydroxides[J]. *Chemical Geology*, 2001, 174(4): 379-387.
- [25] SUN Q, LIU C, ALVES M E, et al. The oxidation and sorption mechanism of Sb on delta-MnO<sub>2</sub>[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 342: 429-437.
- [26] 徐伟, 刘锐平, 曲久辉, 等. 铁锰复合氧化物吸附去除五价砷性能研究[J]. *环境科学学报*, 2012, 32(2): 270-275.
- [27] DU H H, QU C C, LIU J, et al. Molecular investigation on the binding of Cd(II) by the binary mixtures of montmorillonite with two bacterial species[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 229: 871-878.
- [28] TARASSOV M, MIHAILOVA B, TARASSOVA E, et al. Chemical composition and vibrational spectra of tungsten-bearing goethite and

- hematite from Western Rhodopes, Bulgaria[J]. *European Journal of Mineralogy*, 2002, 14(5): 977-986.
- [29] NIEUWOUDT M K, COMINS J D, CUKROWSKI I. The growth of the passive film on iron in 0.05 M NaOH studied in situ by Raman micro-spectroscopy and electrochemical polarisation. Part I: near-resonance enhancement of the Raman spectra of iron oxide and oxyhydroxide compounds[J]. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2011, 42(6): 1335-1339.
- [30] YANG X H, YAN B, LIU Y, et al. Gamma-FeOOH based hierarchically porous zeolite monoliths for As(V) removal: Characterisation, adsorption and response surface methodology[J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2020: 308.
- [31] FARIA M C S, ROSEMBERG R S, BOMFETI C A, et al. Arsenic removal from contaminated water by ultrafine delta-FeOOH adsorbents[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2014, 237: 47-54.

(责任编辑: 金曙光)

## Isolation and identification of a high efficiency antimony oxidizing bacterium and its effect on the migration and transformation of antimony in soil

LI Shanying<sup>1</sup>, ZHANG Lixin<sup>2</sup>, LI Mei<sup>1,\*</sup>

1. School of municipal and environmental engineering, Shandong Jianzhu University, Jinan 250101, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

\*Corresponding author, E-mail: limei@sjzu.edu.cn

**Abstract** The purpose of this study was to isolate a highly efficient antimonite oxidizing strain and explore the mechanism of this strain's the migration and transformation of antimony in soil. The taxonomic status of strain was determined by the morphological, physiological and biochemical identification, and 16S rDNA sequence analysis. The strain was incubated with Sb-contaminated soil to explore its effect on Sb mobility. The result suggested that the strain belonged to genus *Pseudomonas*, named *Pseudomonas* sp. ZLX16. It could tolerate  $2 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  Sb(III) and  $10 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  Sb(V). The oxidation experiment results showed that strain oxidized almost  $100 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-3}$  Sb(III) to Sb(V) for 3 d. Soil incubation experiment suggested that strain ZLX16 decreased the Sb release from solid to liquid phase by 63.5%. Strain oxidized adsorbed Sb(III) on the surface of soil and promoted the fixation of Sb(V) in soil in the form of strongly adsorbed Sb. Strain ZLX16 had a high oxidation rate of Sb and could significantly inhibit Sb release from soil to water. The results of this study can provide a reference for understanding the migration and transformation mechanism of microorganisms affecting pollutants in soil.

**Keywords** Sb(III)-oxidizing bacteria; isolation and identification; transformation and mobilization; antimony contaminated soil