

微生物多糖/葡聚糖体系氢氧化铁生物矿化的实验研究

黄江波¹ 孙振亚²

(1. 桂林矿产地质研究院, 广西 桂林 541004; 2. 武汉理工大学 材料研究与测试中心, 湖北 武汉 430070)

摘要: 本文通过观察在尿素和 Stoke 培养基中生长的球衣菌细胞壁内及其周围氢氧化铁凝胶的矿化过程, 研究球衣菌分泌的多糖和蛋白质对氢氧化铁凝胶矿化结晶行为的调控作用。采用 TEM、UV 和 FTIR 对两种矿化体系微生物矿化产物进行了观察和分析, 同时对比以纯葡聚糖为有机基质作用下氢氧化铁凝胶的矿化过程, 结果表明微生物多糖和葡聚糖均能控制水溶液中铁离子及氢氧化铁凝胶的成核机制、结晶相和晶体的生长速度, 主要矿化产物为纳米级四方纤铁矿(β -FeOOH)。

关键词: 球衣菌 培养基 葡聚糖 生物矿化 β -FeOOH

中图分类号: P578.4⁺97; P579

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2007)05-0467-07

An experimental study of the mineralization of iron hydroxide modulated by microbial polysaccharide and dextran

HUANG Jiang-bo¹ and SUN Zhen-ya²

(1. Guilin Research Institute of Geology for Mineral Resources, Guilin 541004, China; 2. Center for Materials Research & Analysis of Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China)

Abstract: To study the modulating effect of polysaccharide and protein secreted by *Sphaerotilus* upon the mineralization behaviors of Fe(OH)₃ gel, the authors investigated the nucleation and crystallization processes of Fe(OH)₃ gel inside and around the *Sphaerotilus* cells which were growing in the mineralization systems with urea and Stoke substrate. The minerals were characterized by TEM, UV and FTIR spectrometry. A comparison of the mineralization processes of Fe(OH)₃ gel functioned by pure dextran shows that both microbial polysaccharide and dextran could control the nucleation mechanisms, nuclei phases and the growth rate of ferric ions and Fe(OH)₃ gel in the solution. The major mineral seems to be nanometric size akaganeite (β -FeOOH).

Key words: *Sphaerotilus*; substrate; dextran; biomineralization; β -FeOOH

自然界中广泛存在的细菌本身对铁具有富集作用, 并可使各种含铁物质发生氧化还原和溶解沉淀作用, 形成不同的铁矿物, 例如在趋磁细菌细胞中含有以磁铁矿为主的磁小体链(潘永信等, 2004), 嘉利翁氏菌属和纤发菌属细菌的天然矿物常以纳米针铁矿(α -FeOOH)为主(孙振亚等, 2001), 而 Chan 等(2004)还在嘉利翁氏菌属和纤发菌属细菌细胞表面

发现了四方纤铁矿(β -FeOOH), 眼虫属细菌细胞能诱导形成纤铁矿(γ -FeOOH)(Konhauser, 1998)等。这些铁矿物并非单纯的无机矿物, 而是伴存有有机质。Konhauser(1997)研究发现水体沉积物中存在大量铁细菌体外代谢聚积的纳米铁(氧)氢氧化铁。生物细胞分泌的有机基质主要为多糖和蛋白质, 如 Gorstjens 和 Vrind(1992)就曾从一种铁细菌 *L. Dis-*

收稿日期: 2007-01-09; 修订日期: 2007-03-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40372028)

作者简介: 黄江波(1980-)男, 硕士, 助理工程师, 从事环境矿物学研究。

cophora SS-1 中分离出一种蛋白质(分子量约为 150 ku) 鉴定为铁的氧化活性因子。因此, 这些有机基质被认为在调制铁的矿化过程中起着关键作用, 但调制的机理仍不清楚。在自然体系中, 细菌与铁矿物的相互作用是普遍存在的, 而且对于所处环境的地球化学特征有较大的影响, 因而关于铁生物矿化作用机理的研究备受关注。

球衣菌属是鞘杆菌科的一属。绝大多数球衣菌能将水中可溶性的二价铁氧化为不溶性的三价铁, 并沉积在鞘外。Ghiorso(1984) 发现在自然界中球衣菌的鞘上往往沉积有大量的氢氧化铁, 而且球衣菌在实验室的生长条件与自然环境中基本相同, 易于培养, 因此本文选择它进行铁生物矿化模拟实验。

本文通过模拟矿化实验分别研究了两组不同培养基条件下球衣菌中氢氧化铁凝胶的矿化过程及一组在以纯多糖(葡聚糖)为有机基质的矿化作用体系中葡聚糖对氢氧化铁凝胶矿化结晶行为的影响, 初步探讨了微生物多糖及纯多糖对氢氧化铁矿化结晶行为的调控作用, 为进一步了解自然界中广泛存在的铁生物矿化作用机理提供了重要依据。

1 实验部分

1.1 球衣菌的培养

1.1.1 培养基

尿素培养基中各成分的质量浓度($\rho/g \cdot L^{-1}$)为: 尿素 0.5, 葡萄糖 1.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05, K_2HPO_4 0.1, pH 自然(5.6~6.0)。

Stoke 培养基中各成分的质量浓度($\rho/g \cdot L^{-1}$)为: 葡萄糖 1.0, 蛋白胨 1.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2, $CaCl_2$ 0.05, $FeCl_3$ 0.01, pH 7.0。

1.1.2 球衣菌的培养

菌种采自于武汉市周家大湾污水处理厂的二沉池出水。球衣菌的富集、分离纯化及鉴定方法见参考文献(翁稣颖, 1980; 许旭萍等, 2003)。

1.2 含有球衣菌的模拟矿化实验

重新配制尿素、Stoke 培养基各 800 mL, 置于 1L 锥形瓶中灭菌 0.5 h, 冷却至室温。加入培养好的球衣菌种, 用稀 NaOH(0.3M) 调整溶液 pH 值至 7~8。溶液于空浴震荡器中恒温(28℃) 震荡 72 h 后加入 6 g $Fe_2(SO_4)_3$ 固体粉末迅速搅拌使其完全溶解, 然后逐滴加入浓 NaOH(3M) 溶液调节混合溶液 pH 值至 7, 每次滴入碱液需迅速搅拌均匀。样品置于生化培

养箱中恒温(28℃) 静置陈化 150 d 后取混合溶液下层沉淀进行分析。样品经离心分离(8 000 r/min) 后, 所得沉淀分别用二次蒸馏水洗涤数次, 无水乙醇洗涤 1 次, 在 60℃ 恒温下干燥 48 h, 样品研碎后用傅立叶红外光谱仪(FTIR) 进行物相分析。用于透射电镜(TEM) 分析的样品直接从混合液中取样, 滴于电镜铜网上, 红外烘干后即可上机观察。

1.3 以葡聚糖为有机基质的模拟矿化实验

将 2 g 葡聚糖(分子量 20 ku) 固体粉末溶于 100 mL 二次蒸馏水中, 在 60℃ 下超声震荡 20 min 使其完全溶解, 冷却至室温, 再将 150 mL $Fe_2(SO_4)_3$ 溶液(0.05 M) 迅速加入准备好的葡聚糖溶液中, 超声震荡 10 min 使 $Fe_2(SO_4)_3$ 与葡聚糖混合均匀, 然后逐滴加入 NaOH(0.3 M) 溶液, 调节 pH 值至 7, 混合溶液搅拌均匀。此时有凝胶状 $Fe(OH)_3$ 形成。待溶液稳定后, 在 25℃ 恒温下静置陈化 150 d 后取溶液下层沉淀进行分析。样品经离心分离(8 000 r/min) 后, 所得沉淀分别用二次蒸馏水洗涤数次, 无水乙醇洗涤 1 次, 在 60℃ 恒温下干燥 48 h, 样品研碎后用 FTIR 进行物相分析。TEM 制样方法如 1.2 所述。不含有机质的矿化作用参照体系实验方法同上。

1.4 实验仪器

球衣菌于生化培养箱(哈尔滨东联电子技术公司 HPS-280 型) 中培养。分离纯化得到的球衣菌经光学显微镜(YS2 型 Nikon China) 观察其形貌(如图 1a 所示)。矿化体系水溶液中细菌和氢氧化铁矿化产物用透射电镜(日本 HITACHI 公司 H-600 STEM/EDX PV9100 型) 分析, 其物相与成分采用 FTIR(美国尼高公司 NICOLET 60 SXB 型傅立叶变换红外光谱仪, 分辨率 4 cm^{-1}) 分析。另取矿化作用体系上层溶液于 400~190 nm 进行紫外扫描(U-nico 公司 UV-2101PC 型) 测定溶液中的有机质。

2 结果与讨论

2.1 球衣菌形态特征

从污水处理厂二沉池出水中采集的菌种经分离培养后用于尿素和 Stoke 培养基模拟矿化作用体系。图 1a 为光学显微镜观察的经分离纯化得到的球衣菌的形态。图 1b 为 TEM 观察的在 Stoke 培养基铁矿化模拟实验中球衣菌的特征, 结果表明矿化模拟体系中球衣菌发育良好。

2.2 尿素培养基中球衣菌对氢氧化铁矿化结晶的影响

图2是TEM观察到的尿素培养基铁矿化模拟实验中球衣菌的形貌。由图2a可见,在球衣菌细胞壁内及其表面都发现有氢氧化铁凝胶矿化形成的铁(氧)氢氧化物晶粒团。在球衣菌细胞壁内形成的是大小均匀的方形小颗粒,大小约为30 nm,对该选区进行电子衍射分析,经计算得到的 d 值见表1,结果表明其结构介于水合针铁矿(ferrihydrite)和 β -FeOOH之间(Emma *et al.*, 1995)与JCPDS卡片(NO.22-353)对应

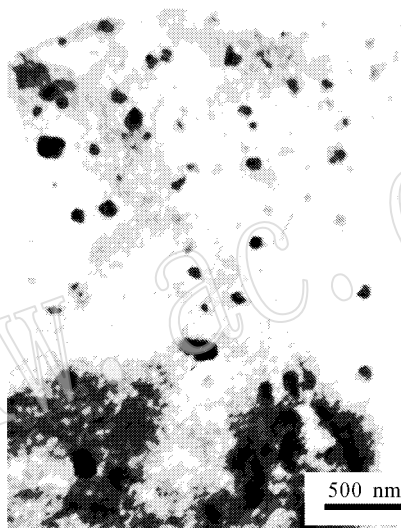
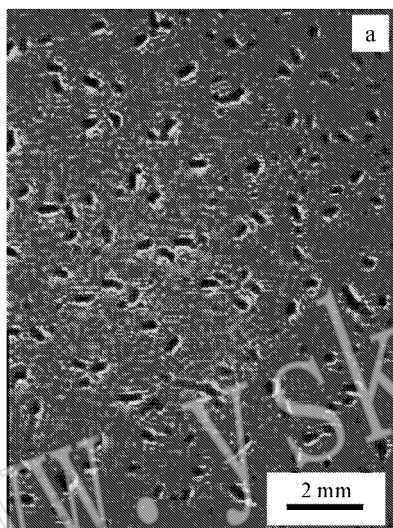


图1 分离纯化的球衣菌(a)与矿化模拟体系中球衣菌(b)的显微照片对比

Fig. 1 Comparison between optical microscope images of *Sphaerotilus* after purification(a) and TEM images of *Sphaerotilus* in the mineralization systems(b)

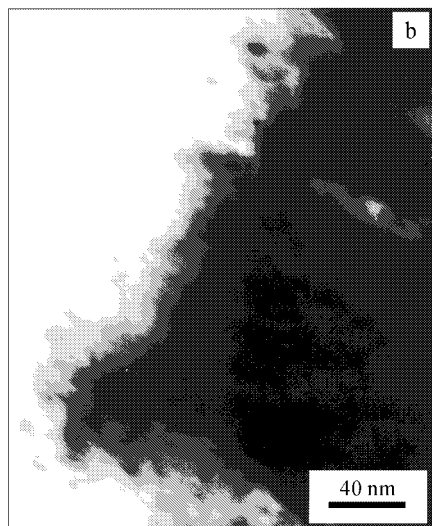
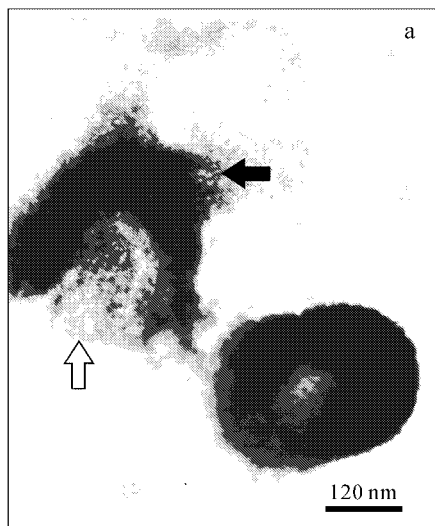


图2 尿素培养基体系中球衣菌细胞内部(a)及其周围(b)氢氧化铁凝胶矿化情况的透射电镜照片

Fig. 2 TEM images of minerals formed from $\text{Fe}(\text{OH})_3$ gel inside(white arrow) and around(black arrow) the *Sphaerotilus* cell in the mineralization system with urea substrate

的铁蛋白铁核(ferritin iron core)结构非常吻合。在球衣菌表面分布有由细胞壁向外定向生长的似针状的弱结晶 β -FeOOH,长轴径约为40 nm(图2b),说明球衣菌对在其细胞壁内和表面生长的铁矿物具有调控作用,在胞外氢氧化铁凝胶的结晶速度较快。

2.3 Stoke培养基中球衣菌对氢氧化铁矿化结晶的影响

图3为TEM观察到的Stoke培养基铁矿化模拟实验中球衣菌的形貌。由图3a可见,球衣菌被一层致密的铁(氧)氢氧化物所包围,TEM放大观察发现

这些铁氧氢氧化物主要为短棒状的晶粒,长轴径在 50~70 nm 之间(图 3b) 随机在该区域挑选一部分进行电子衍射分析(表 1) 结果表明其主要是 β -FeOOH, 同时还有一些 α -Fe₂O₃ 颗粒。在球衣菌内部则可见到结晶更细小的针状 β -FeOOH, 大小约为 25 nm, 说明 Fe³⁺ 可以进入胞内, 在多糖和蛋白质分子诱导下矿化结晶, 可能由于胞内 Fe³⁺ 浓度较之菌体外低得多, 因而其结晶速率慢, 结晶粒度较小。

图 4 是上述两个矿化体系中矿化产物的红外谱图。图中 705 cm⁻¹ 为 β -FeOOH 特征吸收峰, 600、470 cm⁻¹ 附近的吸收峰归属于 Fe—O 的伸缩振动, 这些吸收峰的强度在图 4b 明显大于图 4a, 说明在 Stoke 培养

基体系中形成的铁矿物的结晶度较高。1 650、1 540 cm⁻¹ 附近是由蛋白质的 C=O 和 N—H 吸收峰与—OH 弯曲振动吸收峰的叠合而成的多重吸收峰(Chua-anusorn and Webb, 2000), 1 420 cm⁻¹ 附近为糖类 C—H 的伸缩振动吸收峰, 1 050~1 150 cm⁻¹ 则对应于多糖的 C—O 键(霍光华等, 2002), 说明非晶态的氢氧化铁凝胶转化为弱结晶的铁氧氢氧化物(ferrihydrite 或 β -FeOOH), 同时铁氧氢氧化物表面还结合有蛋白质和糖类物质, 它们是由球衣菌分泌出来的蛋白质和多糖。与不含有机质的矿化作用体系很快形成结晶良好的 α -FeOOH(图 5b) 不同, 在球衣菌周围及其细胞壁内氢氧化铁的成核、生长速率明显减慢而

表 1 不同矿化作用体系矿化产物电子衍射计算 d 值与标准 d 值对照表

Table 1 Comparison between the lattice spacings obtained from electron diffraction patterns for the samples from different mineralization systems and the standard d values

尿素培养基体系 胞内矿化产物	Stoke 培养基体系 胞外矿化产物	纯葡聚糖体系 矿化产物	空白对照体系 矿化产物	标准 α -FeOOH*	标准 β -FeOOH*	标准 α -Fe ₂ O ₃ *
0.280 8	0.525 0	0.274 8	0.525 0	0.418 3	0.525 0	0.270 3
0.215 3	0.329 5	0.135 9	0.323 1	0.267 0	0.331 1	0.135 1
0.161 4	0.280 8	0.116 4	0.268 1	0.217 9	0.261 6	0.116 5
	0.186 1	0.104 2	0.229 1	0.187 3	0.228 5	0.104 0
	0.176 4	0.092 3	0.165 8	0.165 1	0.163 5	0.092 1
			0.153 7	0.151 2	0.151 5	
			0.129 9	0.146 3		
			0.110 5	0.140 1	0.139 4	

* 分别对应 JCPDS 卡中 NO. 29-713、NO. 13-157 和 NO. 24-72A。

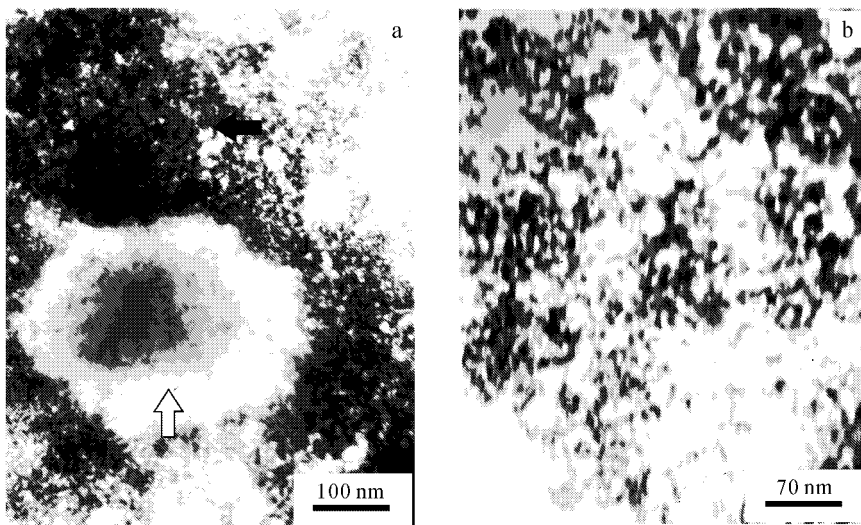


图 3 Stoke 培养基体系中球衣菌细胞周围氢氧化铁凝胶矿化情况的透射电镜照片

Fig. 3 TEM images of minerals formed from Fe(OH)₃ gel around (black arrow) the Sphaerotilus cell in the mineralization system with Stoke substrate

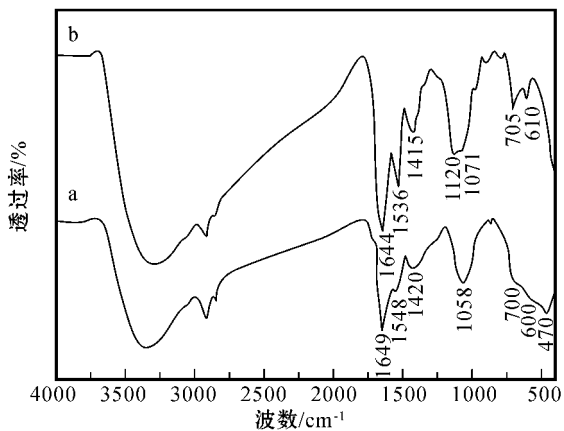


图 4 两种培养基体系中矿化物的红外谱图对比

Fig. 4 Comparison between the FTIR spectra of products of the mineralization systems and different substrates

a—尿素培养基体系 b—Stoke 培养基体系

a—the system with urea substrate b—the system with Stoke substrate

且矿化形成的铁氧氢氧化物的形貌和结构类型也不相同,说明球衣菌分泌的蛋白质和多糖对氢氧化铁凝胶的矿化结晶行为具有调控作用。

不同培养基条件下球衣菌中形成的铁氧氢氧化物也有区别,在 Stoke 培养基体系中 FeCOOH 的矿化结晶速率较快,结晶度高,形成短棒状的 $\beta\text{-FeCOOH}$ 颗粒较大,在 IR 谱图中 $\beta\text{-FeCOOH}$ 的特征吸收峰 700cm^{-1}

强度大,并向高波数位移,说明氢氧化铁凝胶的矿化过程还受细菌的生长环境的影响。这可能与两种培养基为球衣菌提供的营养介质和浓度不同有关。尿素培养基的营养浓度比 Stoke 培养基略低(许旭萍等, 2003)因此在含有尿素培养基的矿化作用体系中,球衣菌的浓度低,分泌的有机质含量也相对较低。由紫外光谱扫描结果发现(图 6),在尿素培养基矿化体系中,仅在 196nm 处出现一个较强的多糖紫外吸收峰(Vicente *et al.*, 1991),说明该体系中有有机质主要为多糖,蛋白质的含量很少;而在 Stoke 培养基矿化体系中,多糖的吸收峰(200nm 左右)已经超出仪器的量程,同时在 288nm 和 322nm 处出现两个新的弱吸收峰,它们分别为蛋白质和核酸类物质的紫外吸收峰(曹书霞等, 2004; 赵元黎等, 2004)。红外谱图同样显示分别对应于多糖和蛋白质的吸收峰($1536\sim 1415\text{cm}^{-1}$)的强度在图 4b 均强于图 4a,表明在 Stoke 培养基矿化体系中多糖和蛋白质浓度相对较高,除多糖分子外,其他蛋白质类生物分子对 FeCOOH 的矿化结晶作用也具有明显的影响。

2.4 葡聚糖对氢氧化铁矿化结晶的影响

为进一步了解生物分子尤其是多糖对氢氧化铁凝胶矿化结晶的调控作用,本文选择了水溶性好的葡聚糖为有机基质进行模拟生物矿化实验。葡聚糖是多羟基亲水性天然多糖,在自然界中广泛存在,具

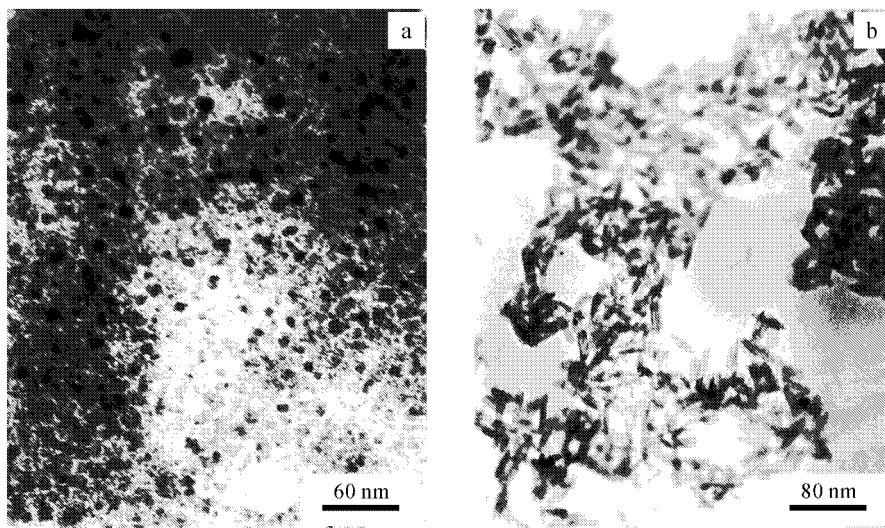


图 5 氢氧化铁在含有葡聚糖的体系(a)和不含有有机质的体系(b)中的矿化结晶情况的透射电镜照片

Fig. 5 TEM images of minerals formed from $\text{Fe}(\text{OH})_3$ gel in different mineralization systems with dextran(a) and without organic matrix(b)

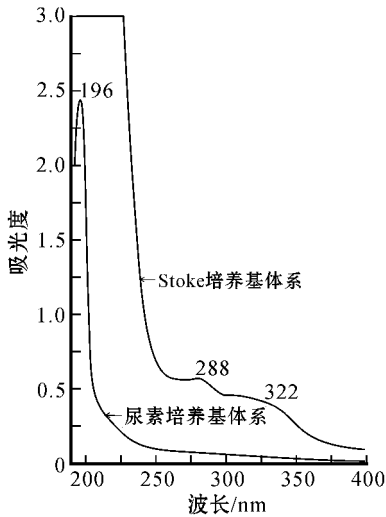


图6 两种培养基体系中上层溶液的紫外谱图对比

Fig. 6 Comparison between UV spectra of the upper solution of different mineralization systems and urea substrate and Stoke substrate

有很强的生物效应,常被用于合成仿生复合材料。模拟实验结果表明,在葡聚糖存在的条件下,氢氧化铁凝胶陈化150 d后形成的是大小均匀的方形小晶粒,粒度约为20 nm,这与Webb等(1999)观察到的铁蛋白铁核非常相似。电子衍射结果表明其具有 β -FeOOH的结构,结晶度不高(图5a),这与在尿素培养基中球衣菌胞内矿化产物的形态和结晶度均很相似,其IR谱图中对应于 β -FeOOH的特征吸收峰(700、640 cm^{-1})也与尿素培养基FeOOH的IR谱图接近,如图7所示。1156、1015、910 cm^{-1} 属于葡聚糖的特征吸收峰,表明铁氧氢氧化物颗粒表面结合了葡聚糖分子。与图5相比,图7a没有蛋白质分子的特征峰,从另一侧面也反映了多糖分子对FeOOH调控的重要作用。与纯葡聚糖红外谱图相比,当葡聚糖分子与Fe(III)结合后,3421、1365 cm^{-1} 分别对应于葡聚糖分子的一OH和仲羟基的吸收峰发生了较大的位移(分别移至3354和1344 cm^{-1}),说明葡聚糖分子中的羟基与Fe(III)发生了较强的配位作用。因此葡聚糖分子的羟基与Fe(III)的配位作用促进了FeOOH在葡聚糖分子中成核,通过有机分子的自组装作用,FeOOH逐步矿化结晶为 β -FeOOH相,其结晶形态和大小除受矿化时间的影响外,还受到有机质浓度及其结构等影响。与不含有机物的体系中氢氧化铁的矿化过程不同,在含有葡聚糖的矿化作用体系中氢氧化铁矿化结晶速度明显减慢,而且矿化形成的铁氧氢氧化物的形貌和结构类型也有不同,前者主要为长针状针铁矿(α -FeOOH),

长轴径约为80 nm。这进一步证实微生物产生的多糖和蛋白质能在局域环境富集水体中的 Fe^{3+} 并调控氢氧化铁的矿化结晶行为。

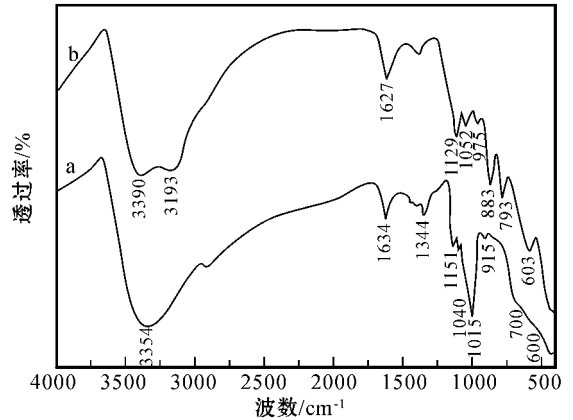


图7 含有葡聚糖体系和不含有机质体系的矿化产物红外谱图

Fig. 7 FTIR spectra of minerals formed from $\text{Fe}(\text{OH})_3$ gel in different mineralization systems with dextran and without organic matrix

a—含葡聚糖体系的矿化产物 b—不含葡聚糖的矿化产物
a—the system with dextran ; b—the system without organic matrix

葡聚糖分子对氢氧化铁矿化结晶行为的调控作用可能通过下述方式进行。首先,葡聚糖含有大量的羟基作为成核位点吸引Fe(III)与之配位而在葡聚糖分子中形成一个空间分离的铁核。然后铁核生长形成水合针铁矿,进一步转化为类似铁蛋白铁核的铁氧氢氧化物,葡聚糖吸附包裹在其表面阻止了铁氧氢氧化物之间的团聚和从溶液中获得其他无机成分,最终形成纳米级的 β 型铁氧氢氧化物晶粒。晶粒的形状和大小除了由葡聚糖的结构决定外还受溶液的水质影响(如pH、浓度、温度等)。在葡聚糖/ Fe^{3+} 水溶液体系早期矿化过程的研究中,还发现在陈化3~7 d时存在 α - Fe_2O_3 相。受实验条件的影响,类似铁蛋白铁核的FeOOH可能转化为 α - Fe_2O_3 或 β -FeOOH,多糖浓度过低或过高均不利于FeOOH成核结晶生长(孙振亚等,2006)。总之,葡聚糖的浓度、分子结构、溶液性质等决定了氢氧化铁凝胶的成核机制以及形成铁氧氢氧化物的结构类型,同时减缓了晶体生长的速度。

参照纯葡聚糖模拟实验体系的结果,在球衣菌生物矿化体系中,相对于Stoke培养基矿化体系,尿素培养基矿化体系的多糖和蛋白质浓度可能偏低(图6),因此FeOOH结晶速率较Stoke培养基矿化体系低。因此葡聚糖/ Fe^{3+} 的矿化实验进一步说明

了实验条件下球衣菌等微生物在铁的氢氧化物矿化过程中的有机基质调控作用。

3 结论

在球衣菌周围和细胞内部均能发生氢氧化铁凝胶的矿化现象,形成与无机条件下矿化形成结晶度高的针铁矿完全不同的铁氧氢氧化物(四方纤铁矿, β -FeOOH),其结晶度较低,晶粒表面结合有球衣菌分泌的多糖和蛋白质,说明球衣菌分泌的多糖和蛋白质对氢氧化铁凝胶的矿化结晶行为具有调控作用。在不同的培养基条件下,水溶液中 Fe^{3+} 浓度相同时,由于球衣菌胞外分泌的有机质成分和浓度不同,由氢氧化铁凝胶矿化形成的铁氧氢氧化物的形貌和结构存在差异,说明氢氧化铁凝胶的矿化过程还与细菌的生长环境有关。以纯葡聚糖为有机基质模拟生物矿化实验结果进一步证明多糖分子以其活性官能团(如羟基、羧基等)为成核位点,吸引 $Fe(III)$ 在多糖分子中成核、生长。多糖分子的结构决定了氢氧化铁凝胶的成核机制以及形成铁氧氢氧化物的形貌和结构类型,同时减缓了晶体的生长速度,形成纳米级的铁矿物。

References

Cao Shuxia and Zhao Yufen. 2004. Application of Molecular Absorption Spectrophotometric Method to the Determination of Biologic Macromolecular Structures [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 24 (10): 197-201 (in Chinese).

Chan C S, Stasio G D, Welch S A, et al. 2004. Microbial polysaccharides template assembly of nanocrystal fibers [J]. Science, 303 (12): 1656-1658.

Chua-anusorn W and Webb J. 2000. Infrared spectroscopic studies of nanoscale iron oxide deposits isolated from human thalassemic tissues [J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 79: 303-309.

Emma M C, Robert D B and William T M. 1995. An Investigation into the size of an iron dextran complex [J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 60: 149-153.

Ghiorse W C. 1984. Biology of iron- and manganese-depositing bacteria [J]. Annu. Rev. Microbiol., 38: 515-550.

Gorstjens P and Vrind J. 1992. Enzymatic iron oxidation by Leptothrix. Discophora [J]. Appl. Environ. microbial., 58: 450-454.

Huo Guanghua, Li Laisheng and Gao Yinyu. 2002. Application of Spectrometry Method to the Determination of Polysaccharide Structures [J].

Chemistry of Life 22 (2): 194-196 (in Chinese).

Konhauser K O. 1997. Bacterial iron biomineralisation in nature [J]. FEMS Microbiology Reviews 20: 315-326.

Konhauser K O. 1998. Diversity of bacterial iron mineralization [J]. Earth-Science Reviews 43: 91-121.

Pan Yongxin, Deng Chenglong, Liu Qingsong, et al. 2004. Research progresses of biomineralization and magnetism nature of magnetosomes in magnetotactic bacteria [J]. Chinese Science Bulletin, 49 (24): 2505-2510 (in Chinese).

Sun Zhenya, Che Yao, Peng Changqi, et al. 2001. Mineralization of iron hydroxide in sediments of seeping water from Fushui Reservoir [J]. Acta Petrologica et Mineralogica, 20 (4): 405-408 (in Chinese).

Sun Zhenya and Huang Jiangbo. 2006. Effect of dextran on the crystallization of ferric hydroxide [J]. Acta Physico-chimica Sinica 22 (2): 172-177 (in Chinese).

Vicente C, Mateos J L, Pedrosa M M, et al. 1991. High-performance liquid chromatographic determination of sugars and polyols in extracts of lichens and sugarcane juice [J]. Journal of Chromatography A 553 (16): 271-283.

Webb J, Macey D J, Chua-anusorn W, et al. 1999. Iron biominerals in medicine and the environment [J]. Coordination Chemistry Reviews, 192: 199-215.

Weng Suying. 1980. Study of the Sphaerotilus Natans Isolation, Identification and Culture Preservation of the S. Natan [J]. Acta Microbiologica Sinica, 20 (4): 351-355 (in Chinese).

Xu Xuping, She Chenxing, Lin Yuexin, et al. 2003. Isolation, Identification and Preservation of Iron-oxidizing Sheathed Bacteria From Water [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology 9 (3): 313-317 (in Chinese).

Zhao Yuanli, Zhang Fengqiu, Ge Xianghong, et al. 2004. The Study of Absorption Spectrum for Cell Substrate [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 24 (8): 907-910 (in Chinese).

附中文参考文献

曹书霞, 赵玉芬. 2004. 分子吸收光谱在生物大分子研究中的应用 [J]. 光谱学与光谱分析, 24 (10): 197-201.

霍光华, 李来生, 高荫榆. 2002. 波谱在多糖结构分析上的应用 [J]. 生命的化学 22 (2): 194-196.

潘永信, 邓成龙, 刘青松, 等. 2004. 趋磁细菌磁小体的生物矿化作用和磁学性质研究进展 [J]. 科学通报, 49 (24): 2505-2510.

孙振亚, 车遥, 彭长琪, 等. 2001. 水库渗漏水中氢氧化铁的矿化特征 [J]. 岩石矿物学杂志, 20 (4): 405-408.

孙振亚, 黄江波. 2006. 葡聚糖对氢氧化铁凝胶矿化的调制作用 [J]. 物理化学学报, 22 (2): 172-177.

翁稣颖. 1980. 球衣菌的研究——球衣菌的纯种分离、鉴定和保藏 [J]. 微生物学报, 20 (4): 351-355.

许旭萍, 余晨兴, 林跃鑫, 等. 2003. 水体中氧化铁鞘细菌的分离鉴定及保藏 [J]. 应用与环境生物学报, 9 (3): 313-317.

赵元黎, 张风秋, 葛向红, 等. 2004. 细胞培养基的吸收光谱研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 24 (8): 907-910.