

功能菌群耦合黄铁矿浸出软锰矿的研究

马晶梅^{1,2} 韩一凡² 路福平¹ 张小霞² 温丹² 刘勇金³
白利明³ 胡影³ 黄志勇^{2*}

- (1. 天津市工业微生物重点实验室 工业发酵微生物教育部重点实验室
天津科技大学 生物工程学院 天津 300457)
- (2. 天津市工业生物系统与过程工程重点实验室 中国科学院天津工业
生物技术研究所 天津 300308)
- (3. 河北恒基锰业有限公司 河北 唐山 064300)

摘要: 【目的】将 3 种不同来源的环境样品混合后接种至含 1% 黄铁矿和 1% 软锰矿的培养基中进行富集培养, 初步得到有一定浸矿功能的混合微生物菌群。【方法】菌群继续用于黄铁矿和低品位软锰矿共同浸出, 设置未接种的体系作为对照。【结果】对浸出过程中菌群结构的变化、pH、锰浸出率和浸出残渣的成分进行分析, 结果发现接种过微生物菌群的浸出体系在反应 15 d 后, 锰浸出率达到 92.48%, 远高于未接菌对照组的 40.34%; 菌群中 *Thiomonas* sp. 所占比例从最初的 2% 上升到浸出结束时的 93%。实验组的 pH 从最初的 4.0 下降到 2.5; X 射线衍射(XRD)分析发现, 通过生物作用浸出的残渣中含有黄钾铁矾, 说明生物代谢产生了大量的硫酸。【结论】证明微生物在两矿浸出过程中通过促进黄铁矿解离, 维持体系低 pH 等作用加速反应的进行。结果为进一步研究微生物浸矿的作用机制和开发低品位锰矿的生物浸出工艺打下了基础。

关键词: 混合功能菌群, 黄铁矿, 软锰矿, 细菌浸出, 16S rRNA 基因文库

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2012AA021203); 财政部战略生物资源科技支撑运行专项项目(No. KSCX2-YW-Z-1016); 唐山市科学技术研究与发展计划课题基金项目(No. 08110207A-2)

*通讯作者: Tel: 86-22-84861931; 邮箱: huang_zy@tib.cas.cn

收稿日期: 2012-02-12; 接受日期: 2012-04-26

Study of coupled pyrite leached pyrolusite by functional microflora

MA Xiao-Mei^{1,2} HAN Yi-Fan² LU Fu-Ping¹ ZHANG Xiao-Xia² WEN Dan²
LIU Yong-Jin³ BAI Li-Ming³ HU Ying³ HUANG Zhi-Yong^{2*}

(1. Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology Ministry of Education, College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

(2. Tianjin Key Laboratory for Industrial Biological Systems and Bioprocessing Engineering, Tianjin Institute of Industry Biotechnology, CAS, Tianjin 300308, China)

(3. Hebei Hengji Manganese Industry Limited Company, Tangshan, Hebei 064300, China)

Abstract: [Objective] Three different environmental samples were mixed and inoculated into 100 mL fresh medium containing 1% pyrolusite and 1% pyrite. After enrichment we got bioleaching microflora. [Methods] Obtained microorganism consortia were used to leach pyrite and low-grade pyrolusite. Non-inoculation system was conducted as control group. [Results] Series of parameter were monitored during the process, including dynamic of consortia construction, pH value, leaching ratio of manganese, and XRD analyze of leaching residual. Leaching ratio of manganese was 92.48% after 15 days cultivation. And it was much higher than control group (40.34%). Within microbial consortia, *Thiomonas* sp. was the dominant species and its proportion increased from 2% to 93% of the consortia. Value of pH was declined from 4.0 to 2.5 in experimental group. Jarosite was observed in bioleaching residual. [Conclusion] Decrease of pH value and formation of jarosite indicated abundant sulfuric acid produced by bacterial metabolism. Result suggested that increasing bioleaching ratio of pyrite and pyrolusite due to dissociation of pyrite and decline of pH value by bacterial activity. This study could provide the basis for the further research of bioleaching mechanism and improvement of industrial art of low-manganese ore mineral resource.

Keywords: Microorganism consortia, Pyrite, Pyrolusite, Bioleaching, 16S rRNA clone library

锰是一种重要的战略资源,我国蕴藏储量极为丰富,但是随着现代化进程的加快,矿产资源的开采利用量增大,富矿资源日趋贫乏,目前低品位矿藏(全国平均品位 21.4%)占总量的 95%以上。锰矿资源作为难选冶矿石以贫、细、杂为突出特点^[1],传统的锰矿冶炼技术由于回收率低、资源损耗大、生产成本低、对环境污染严重等问题已不适应我国当前社会经济可持续发展要求,

利用微生物代谢功能发展起来的生物冶金技术以其工艺简单、成本低、污染轻、资源消耗量小以及能够处理低品位矿等诸多优点,已经成为当前矿产资源利用领域的前沿研究课题,促进冶金技术的不断进步^[2-3]。

目前生物冶金技术主要用于回收矿业固体中的有价金属,如铜、铀、金、镍、钴、锰、银、锌、铂、钛等金属,其中对铜、金等金属的研究

报道较为多见^[4]。例如, 氧化亚铁硫杆菌 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*)、氧化硫杆菌 (*Acidithiobacillus thiooxidans*)、氧化亚铁钩端螺杆菌 (*Leptospirillum ferrooxidans*)、硫化叶菌属 (*Sulfolobus* sp.) 和硫化芽孢杆菌属 (*Sulfobacillus* sp.), 均为常用的浸矿微生物^[5]。

美国科学家最早在 20 世纪 50 年代开始研究利用芽孢杆菌对软锰矿进行浸出, 随后日本、前苏联和印度的科学家也相继开展了生物法浸出软锰矿的研究^[6]。结果发现, 微生物浸锰过程中不同类型的微生物作用机制亦不相同, 参与生物浸锰的微生物包括黑曲霉、铁氧化菌、硫氧化菌、锰还原菌等^[7-9]。尽管目前利用微生物与黄铁矿浸出软锰矿制备硫酸锰的研究较多^[10-11], 但直接利用锰含量低于 30% 的低品位软锰矿制备硫酸锰鲜有报道。此外浸矿中利用混合微生物菌群的研究也比较少, 尽管有研究结果表明, 构成浸矿体系的微生物群落是相互依赖、相辅相成的, 混合菌群的矿物浸出率明显高于单一菌种^[12], 但对混合

菌的研究无论是浸矿机理还是生化机制都还处于初级阶段, 远不及单菌浸矿研究得深入。

本研究利用多个环境样品, 在含有黄铁矿和软锰矿的酸性无机盐培养基中进行微生物菌群的富集, 将获得的微生物菌群用于两矿的共同浸出, 并对反应过程中菌群结构的变化和锰浸出情况进行分析, 为进一步揭示微生物两矿浸出的作用机制和开发低品位软锰矿的生物冶金工艺打下基础。

1 材料与方法

1.1 样品来源及矿石成分分析

用于浸矿菌群富集的样品分别选自云南腾冲热泉的两组样品 RH10 和 RH18 以及河北省迁西县软锰矿山土样 HJQJY (表 1)。实验中使用的黄铁矿和锰矿石分别取自辽宁葫芦岛硫酸厂和唐山迁西县秦家峪矿山, 其主要成分如表 2 所示, 锰矿为低品位软锰矿, 锰的含量仅为 15%, 黄铁矿中铁的含量约为 30%。

表 1 环境样品信息

Table 1 Information of the environment samples

样品 Samples	地理位置 Location	海拔 Elevation (m)	温度 Temperature (°C)	pH	备注 Note
RH10	24°57.066N/98°26.186E	1456	47.1	3.05	怀胎井旁
RH18	24°57.072N/98°26.161E	1452	42.0	3.39	珍珠泉流出下游处
HJQJY	40°09.45N/118°17.15E	842	30.2	7.18	秦家峪矿山

表 2 矿石主要化学成分

Table 2 Chemistry of composition of the ore

成分 Element	软锰矿 Pyrolusite (%)	黄铁矿 Pyrite (%)	成分 Element	软锰矿 Pyrolusite (%)	黄铁矿 Pyrite (%)
Mn	15.010	2.450	Zn	0	0.008
Si	23.350	20.790	Ni	0.006	
Fe	4.720	29.440	K	0.091	0.300
Ca	3.160	5.360	Na	0.089	0.148
P	0.079	0.044	Pb	1.430×10^{-6}	1.950×10^{-6}
Al	5.080	0.760	Cd	2.625×10^{-7}	2.360×10^{-6}
Mg	1.518	2.298	Ti	0.118	0.023
Cu	0	0.008	S	0.004	35.650

1.2 培养基成分及培养条件

以 9K 培养基^[13]为基础设计浸出培养基, 调节 pH 至 3.0, 定容至 1 L, 不添加 FeSO_4 , 1×10^5 Pa 灭菌 20 min 备用。将黄铁矿和软锰矿研磨至 100 目, 黄铁矿充氮灭菌, 软锰矿直接在 1×10^5 Pa 灭菌 20 min, 灭菌后两种矿石分别以 10 g/L 的终浓度加入到体系中。

1.3 浸矿菌群的富集培养

3 种土样各取 1 g 混合后作为接种物添加到 100 mL 浸出培养基中, 在 35 °C、180 r/min 进行富集培养。用血球计数板对体系中微生物的数量进行测定, 菌量达到 10^8 时, 取 10% 转接入新鲜浸出培养基传代。

1.4 浸出体系中各参数评价

经过多次传代后, 将接种菌液的浸矿体系, 与自然浸出体系对照, 研究细菌在浸矿过程中的作用, 每天检测两种体系的 pH 变化, 高碘酸钾分光光度法测定锰的浸出情况^[14], 以及 X 射线衍射分析浸出残渣中构成成分(XRD, 日本理学的 Rigaku D/max 2500v/pc)。

1.5 浸出体系中菌群结构变化的分析

细菌浸出过程中分别选取浸出初始阶段(0 d)、浸出初期(5 d)、浸出中期(12 d)和浸出末期(18 d)的样品各 10 mL, 以酚-氯仿法^[15]提取细菌总 DNA。利用细菌通用引物 27F (5'-AGRGTTCG ATCMTGGCTCAG-3')和 1387R (5'-GGGCGW GTGTACAAGGC-3')扩增细菌 16S rRNA 基因, 并构建克隆文库^[15]。使用 Fermentas 公司的限制性内切酶 *Hha* I 和 *Msp* I 对细菌 16S rRNA 基因进行酶切分析, 依据酶切图谱选取不同的克隆进行测序。测序结果将用 BLAST 软件在 GenBank 进行相似性分析(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)。用 ClustalX 程序比对, 并用 MEGA 程序中的邻接法(Neighbor-Joining method)构建系统进化树, 拓扑分析为 1 000 次重复取样结果。采用丰富度指数 S_{Chao1} 、多样性指数 Shannon diversity 及均匀度指

数 Evenness 对文库的细菌类群多样性进行分析。

2 结果与讨论

2.1 浸出体系中各参数评价

研究发现接种微生物菌群的浸出体系是一个有利于锰浸出的反应过程, 初期锰浸出率增长较快; 中期锰浸出率虽有波动, 但仍有高速增长, 锰浸出率最高可达到 92.48%; 在培养末期, 锰的浸出率略有下降比较稳定, 约为 87%。而无菌对照体系的反应过程始终在缓慢增长, 在反应末期, 锰浸出效率最高, 仅为 46.19%。如图 1 所示, 其中微生物菌群浸出体系的浸出效果远高于无菌对照体系。对比两个体系的 pH 变化, 无菌对照体系的 pH 几乎没有变化, 基本稳定在 5.0 左右, 而接种体系的 pH 随着浸出时间的延伸而呈现明显的下降趋势, 并最终稳定在 2.5 (图 2)。

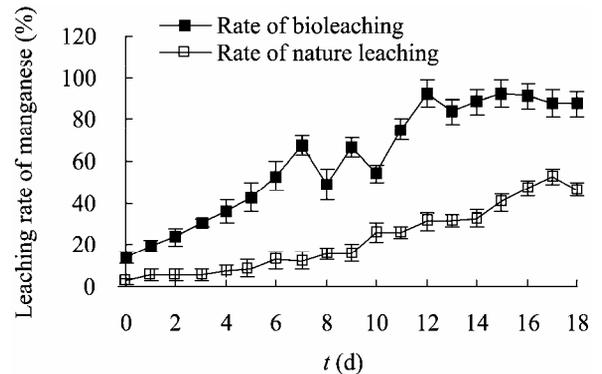


图 1 细菌浸出和无菌浸出锰的浸出率

Fig. 1 Rate of manganese of leaching by bacterial or not

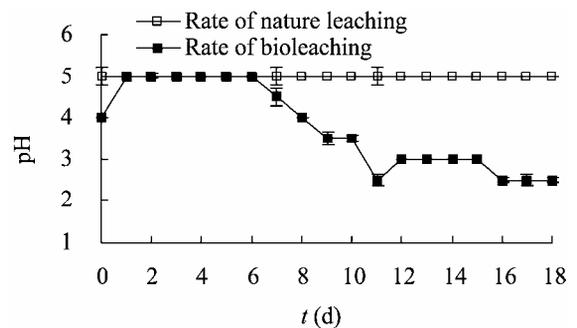


图 2 细菌浸出和无菌浸出 pH 变化

Fig. 2 Variation of pH by bacterial or not in the leaching process

2.2 XRD 分析

对浸出体系的残渣进一步分析, 图 3 为分析得到的 XRD 图谱, 图 3A 为有细菌参与的浸矿体系, 通过与数据库比对得知, 发现其中有黄钾铁矾晶体 $[\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6]$, 而自然浸出体系中不存在黄钾铁矾, 其残渣中还残余黄铁矿(图 3B)。

2.3 不同浸出时期菌群组成变化

从浸出 4 个时期(第 0、5、12、18 天)的样品中提取 DNA, 分别建立 16S rRNA 基因克隆文

库。通过分析比较限制性内切酶的酶切图谱和细菌 16S rRNA 基因测序结果, 将相似度大于 97% 的阳性克隆作为一个分类单元(OTU)。将测序得到的 16S rRNA 基因序列上传至 GenBank, 获得序列号(JQ650527-JQ650544), 并建立系统发育树, 结果如图 4 所示。

浸矿体系中 4 个时期微生物群落分别为 18 个 OTU, 3 个 OTU, 4 个 OTU, 4 个 OTU, 初始反应体系中的微生物种群数量明显高于其他 3 个反

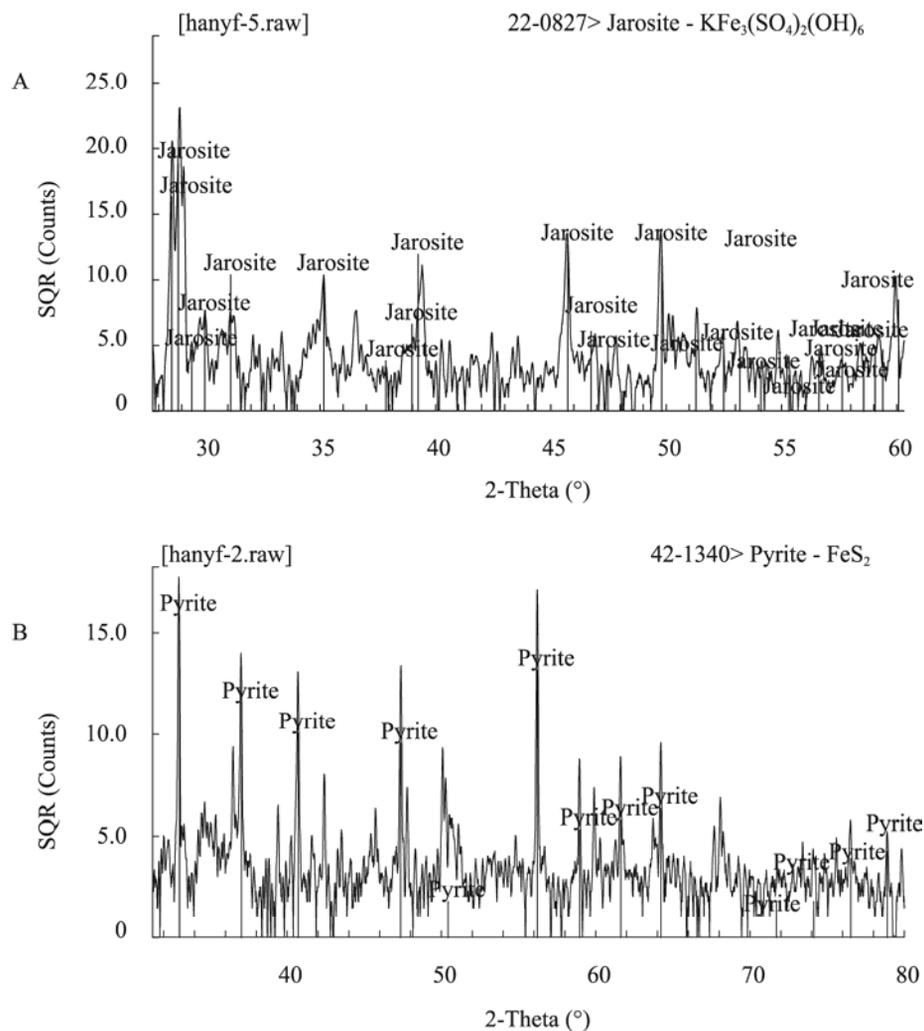


图 3 XRD 分析浸出液残渣组分

Fig. 3 Residual constituent of leaching solution by XRD

注: 2-Theta 称衍射角为横坐标. A: 细菌浸出液-黄钾铁矾(Jarosite); B: 自然浸出液-黄铁矿(Pyrite).

Note: The abscissa (2-Theta) on behalf of angle of diffraction. A: Jarosite in bioleaching solution; B: Pyrite in leaching nature solution.

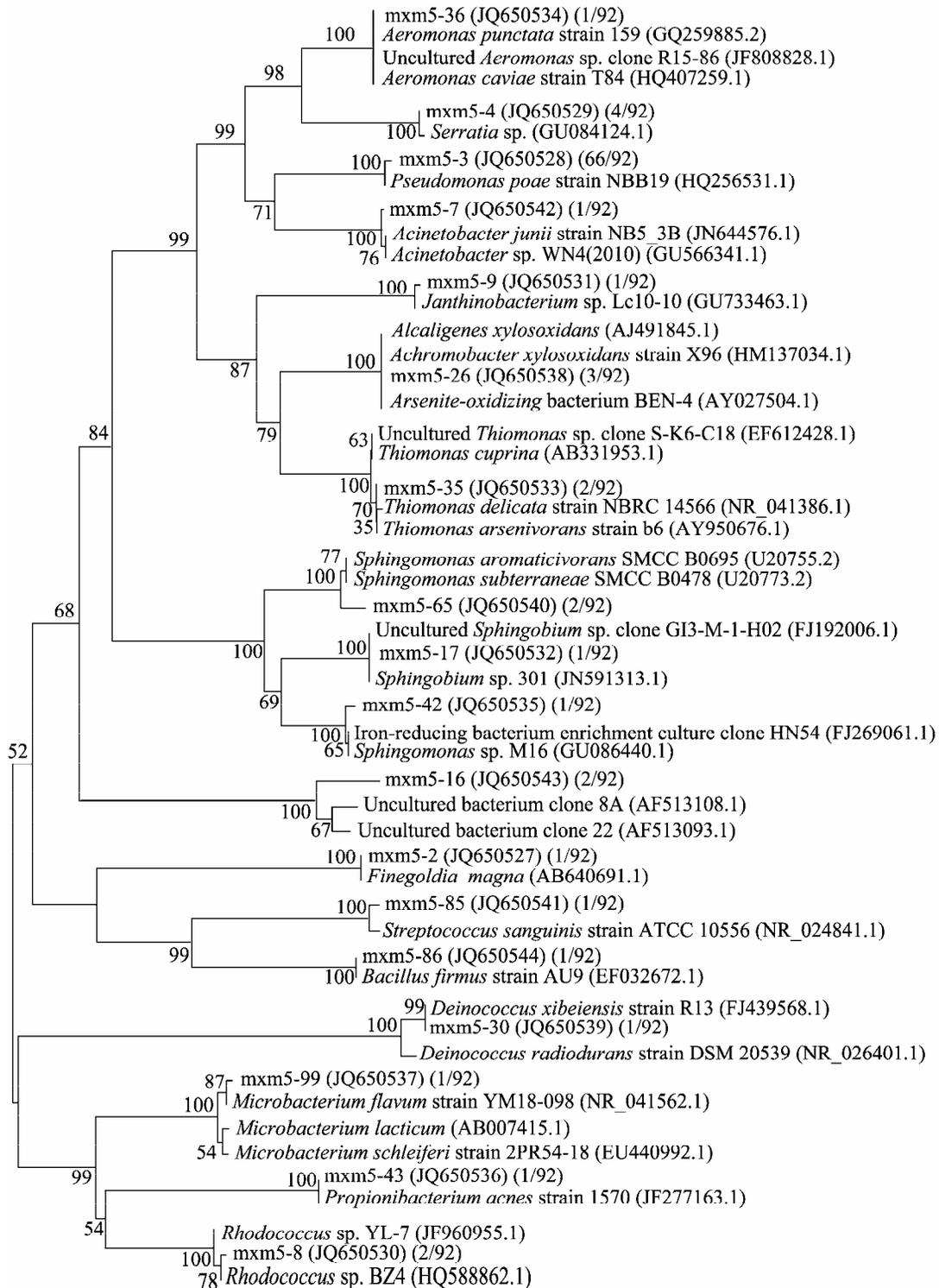


图 4 富集体系微生物系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of microflora enrichment system

注: 前后两个括号中数字分别为菌株序列号和该菌在文库中所占比例; 分支上数字表示可信度; 标尺表示序列间差异。

Note: The numbers in the brackets are accession numbers and proportion in the clone library. The numbers at the nodes are bootstrap values. Distance scale represents the number of differences between sequences.

应时期; 不仅如此, 浸矿反应进行到 5 d 之后, 体系中的微生物种群数量大量减少, 维持一个比较稳定的状态(表 3)。

图 5 显示浸矿 4 个时期菌群组成, 初始(0 d)检测到 *Pseudomonas*、*Thiomonas*、*Rhodococcus*、*Aeromonas* 等细菌, 其中 *Pseudomonas* 为优势菌, 占全部的 72%。浸出反应 5 d 后, 初期存在的大部分菌种均已消失, 仅仅检测到 Gamma proteobacteria 占全部的 4%, *Ferritrophicum radiculicola* 所占比例为 15%, 优势菌为 *Thiomonas* 占全部的 81%; 第 12 天, Gamma proteobacteria 的比例增加较多, 占全部的 18%, *Ferritrophicum radiculicola* 所占比例下降到 6%, *Thiomonas* 的比例下降到 70%; 第 18 天, Gamma proteobacteria 和 *Ferritrophicum radiculicola* 均没有检测到, 与之相反, *Thiomonas* 的比例增加了 20%, 占全部的 93%。

生物多样性指数分析的结果(表 3)也显示, 在浸矿初始, 微生物群落种群多, 结构复杂, 其辛普森指数、多样性指数、平均指数和丰度指数分别为 0.41、1.63、0.56、29.0, 远远高于浸矿反应的中后期。

2.4 讨论

结合锰的浸出率和细菌 16S rRNA 基因文库多样性分析, 由于土样中存在大量的有机物, 可以发现在富集阶段生长较快的 *Pseudomonas* sp. 形成了优势菌群, *Thiomonas* sp. 由于生长条件不适宜而无法形成有力的竞争, 此时锰的浸出率也能达到 80% 以上, 这是由于已有报道证明, *Pseudomonas* sp. 可以产生有机酸, 从而实现锰的浸出^[16]。浸矿 5 d 后随着转接至新的培养体系中, 有机物的含量极大地减少, 导致了 *Pseudomonas* sp. 下降到无法检出, 而黄铁矿的存在使得能够利

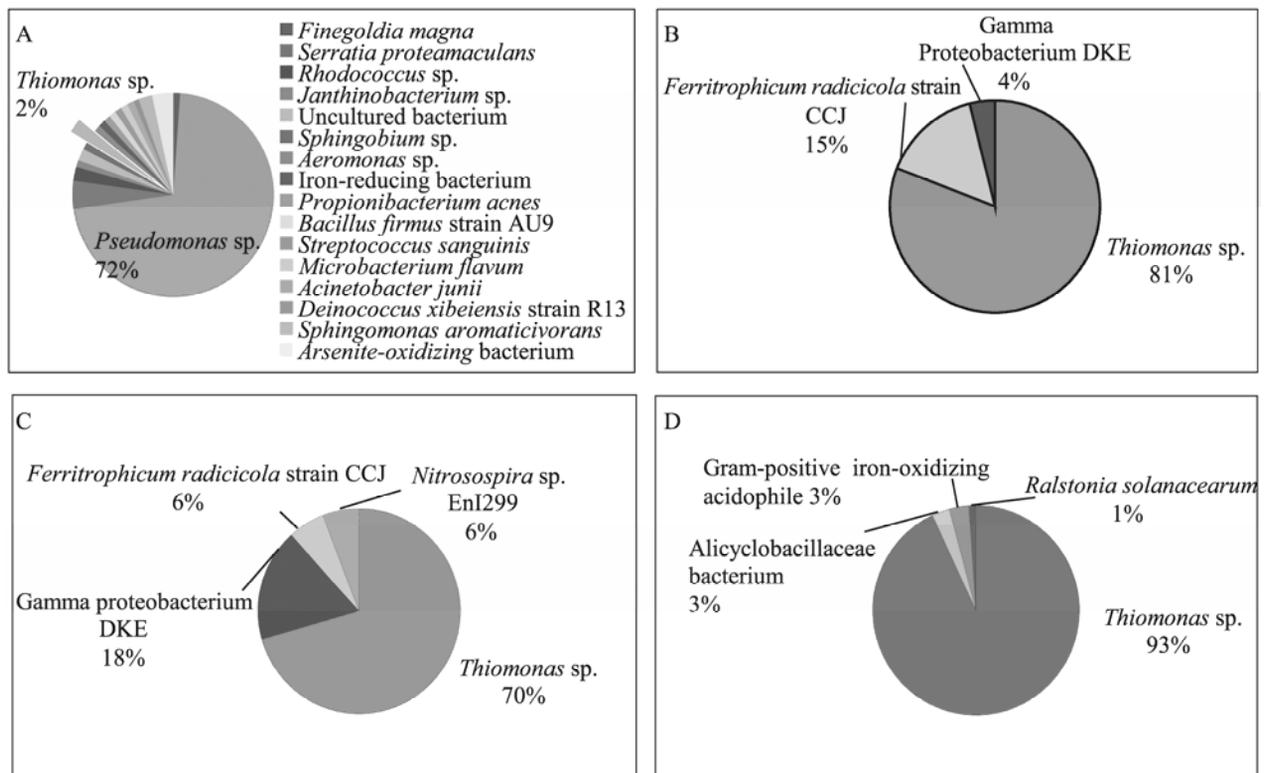


图 5 浸出各时期培养体系中菌种的比例关系图

Fig. 5 Microflora proportionate relationships in the 4 phase of leaching process

Note: A: 0 d; B: 5 d; C: 12 d; D: 18 d.

表3 浸矿过程中微生物群落多样性分析
Table 3 Analyses of the community diversity in bioleaching process

时期 Time (d)	OTUs	优势菌 Dominant species	Simpson (<i>D</i>)	Shannon (<i>H</i>)	Evenness	Chao 1
0	18	<i>Pseudomonas</i> sp. (72%)	0.410 0	1.630 8	0.56	29.0
5	3	<i>Thiomonas</i> sp. (81%)	0.664 6	0.585 8	0.53	3.0
12	4	<i>Thiomonas</i> sp. (70%)	0.507 4	0.885 3	0.64	5.0
18	4	<i>Thiomonas</i> sp. (93%)	0.855 8	0.342 6	0.25	4.0

注: 克隆文库的 OTUs 使用 DOTUR 软件得到, 并根据 OTUs 计算出 Simpson (*D*)、Shannon (*H*)、evenness and Chao1.

Note: OTUs of the clone library were determined using the DOTUR program. Simpson (*D*), Shannon (*H*), evenness and Chao1 indices estimators were calculate using the OTUs data.

用硫化矿物的 *Thiomonas* sp. 最终获得了统治地位, 所占比例从浸出初始的 2% 增长到 81%。此时体系中存在的铁氧化细菌 *Ferritrophicum radicola*, 与 *Thiomonas* sp. 共同推动黄铁矿的降解, 期间产生的 Fe^{2+} 和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 供给 4 价 Mn 还原浸出为 Mn^{2+} 。此过程会产生大量的硫酸, 促使体系 pH 的降低, 环境的这种剧烈变化使得 *Thiomonas* 属中的适中性生长的菌种如 *T. delicata* 无法继续生长, 再加上软锰矿与黄铁矿的直接氧化还原作用逐渐占据优势, 体系中的黄铁矿会更多地与软锰矿反应, 而不是供给微生物生长所需, 从而导致浸出第 12 天 *Thiomonas* sp. 和 *F. radicola* 所占比例呈现显著减少。

随着反应的快速进行, 在浸出 12 d 后, 软锰矿的浸出 80% 达以上, 而研究使用的黄铁矿是绝对过量的, 锰的浸出率不再明显上升, 而 *Thiomonas* sp. 所占比例仍在上升, 这是由于实验采用的黄铁矿和软锰矿的配比中黄铁矿是过剩的, 在锰的浸出达到体系上限后, 剩余的黄铁矿可以继续为 *Thiomonas* sp. 的生长提供能量, 因此在浸出第 18 天, *Thiomonas* sp. 的比例明显恢复。而 *Ferritrophicum radicola* 是具有亚铁氧化功能的细菌^[17], 根据 Schippers 等^[18-19]的研究, 黄铁矿的在酸性环境中生物降解通过硫代硫酸盐途径会生成 Fe^{3+} 和 SO_4^{2-} , Fe^{3+} 与酸性体系中的

SO_4^{2-} 、 NH_4^+ 、 OH^- 等形成黄钾铁矾等化合物, 消耗了 Fe^{3+} , *F. radicola* 缺少了生长的必要元素, 从而导致 *F. radicola* 数量的急剧降低, 再加上浸矿末期体系中有有机物质的积累最终导致消失。而末期检测存在 *Alicyclobacillus* sp., 这是一类嗜酸微生物, 其大部分种都是异养的。

3 结论

黄铁矿和软锰矿均不溶于冷的稀酸中, 因此在工业上有利用大量浓硫酸, 在 90 °C 的条件下, 实现黄铁矿和软锰矿的共同浸出。但这种工艺酸耗和耗能都很高, 不适用于低品位软锰矿的浸取。通过本次研究可以直观地看出在软锰矿与黄铁矿的常温常压共浸出过程中, 尤其是低品位的软锰矿, 体系的 pH 是一个至关重要的因素。实验利用富集得到混合菌群的自身代谢特性, 氧化硫化矿物产生硫酸来保证体系 pH 维持在一个较低的水平, 实现了黄铁矿和低品位软锰矿的共同浸出, 减少了日后的工业生产上的硫酸用量, 进而简化了生产工艺。

本文经过初步富集筛选得到具有浸矿功能的混合菌群, 其耦合黄铁矿对低品位软锰矿进行浸出过程中至第 15 天锰的浸出率达到 92.48%。16S rRNA 基因文库研究发现, 体系中的优势菌为 *Thiomonas* sp.。*Thiomonas* 属是 1997 年由 David

Moreira 和 Ricardo Amils 首次确定的^[20]。有文献报道其可以利用有机物作为碳源和电子供体,但在一定条件下也可以自养生长,可以氧化硫代硫酸盐、亚硫酸盐、硫化氢、单质硫或硫化矿物,具有耐酸、耐重金属的能力^[21],但尚未见其应用于软锰矿的浸出报道。本研究为开发利用以 *Thiomonas* sp. 为主的混合菌群的浸矿应用打下了基础,成为继 *A. ferrooxidans* 等铁、硫氧化杆菌之外的生物浸矿研究新对象。

致谢: 感谢天津大学分析测试中心对本次 XRD 实验提供的技术支持。

参 考 文 献

- [1] 邱俊, 吕宪俊, 王桂芳. 中国锰矿资源的分布及矿物学特征[J]. 现代矿业, 2009, 9(9): 6-7.
- [2] 崔益顺, 唐荣, 黄胜, 等. 软锰矿制备硫酸锰的工艺现状[J]. 中国井矿盐, 2010, 41(2): 18-20.
- [3] 方兆珩. 细菌冶金过程原理[A]//陈家镛. 湿法冶金手册[M]. 北京: 冶金工业出版社, 2005: 764.
- [4] 李雅琴. 嗜酸菌及其应用[J]. 微生物学通报, 1998, 25(3): 170-172.
- [5] 杨宏, 钟洁, 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): 143-145.
- [6] 马荣骏. 细菌浸矿及其对锰矿浸出的研究进展[J]. 中国锰业, 2008, 26(1): 1-6.
- [7] Acharya C, Kar RN, Sukla LB. Studies on reaction mechanism of bioleaching of manganese ore[J]. Minerals Engineering, 2003, 16(10): 1027-1030.
- [8] Porro S, Donati E, Tedesco PH. Bioleaching of manganese (IV) oxide and application to its recovery from ores[J]. Biotechnology Letters, 1990, 12(11): 847-852.
- [9] Lee EY, Noh SR, Cho KS, et al. Leaching of Mn, Co, and Ni from manganese nodules using an anaerobic bioleaching method[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2001, 92(4): 354-359.
- [10] 李浩然, 冯雅丽. 微生物浸出深海多金属结核中有价金属[J]. 有色金属, 2000, 52(4): 74-76.
- [11] 李浩然, 冯雅丽. 微生物催化还原浸出氧化锰矿物中锰的研究[J]. 有色金属, 2001, 53(3): 3-5.
- [12] 王建伟, 汪模辉, 袁源. 混合细菌浸矿研究进展[J]. 矿产综合利用, 2007, 10(5): 24-27.
- [13] Khalid AM, Bhatti TM, Umar M. An improved solid medium for isolation, enumeration and genetic investigations of autotrophic iron-and sulphur-oxidizing bacteria[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1993, 39(2): 259-263.
- [14] GB/T 11906-1989 水质-锰的测定: 高碘酸钾分光光度法[S].
- [15] 王远亮, 夏颖, 董海良, 等. 中国大陆科学钻探 (CCSD) 地下岩心样品中的细菌群落分析[J]. 岩石学报, 2005, 21(2): 533-539.
- [16] Bosecker K. Bioleaching of silicate manganese ores[J]. Geomicrobiology Journal, 1993, 11(3/4): 195-203.
- [17] Weiss JV, Rentz JA, Plaia T, et al. Characterization of neutrophilic Fe(II)-oxidizing bacteria isolated from the rhizosphere of wetland plants and description of *Ferritrophicum radicolica* gen. nov. sp. nov., and *Sideroxydans paludicola* sp. Nov.[J]. Geomicrobiology Journal, 2007, 24(7/8): 559-570.
- [18] Schippers A, Jozsa PG, Sand W. Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(9): 3424-3431.
- [19] Schippers A, Sand W. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(1): 319-321.
- [20] Katayama Y, Uchino Y, Wood AP, et al. Confirmation of *Thiomonas delicata* (formerly *Thiobacillus delicatus*) as a distinct species of the genus *Thiomonas* Moreira and Amils 1997 with comments on some species currently assigned to the genus[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, 56(11): 2553-2557.
- [21] Arsène-Ploetze F, Koechler S, Marchal M, et al. Structure, function, and evolution of the *Thiomonas* spp. genome[J]. PLoS Genetics, 2010, 6(2): 1-13.