



# 生物淋洗修复钒污染土壤的性能与机理研究

李敏, 陈思铭\*, 王长远, 史新悦, 张宝刚

中国地质大学(北京)水资源与环境学院, 北京 100083

李敏, 陈思铭, 王长远, 史新悦, 张宝刚. 生物淋洗修复钒污染土壤的性能与机理研究[J]. 微生物学报, 2023, 63(6): 2204-2219.

LI Min, CHEN Siming, WANG Changyuan, SHI Xinyue, ZHANG Baogang. Performance and mechanism of bioleaching remediation of vanadium contaminated soil[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(6): 2204-2219.

**摘要:** 【目的】土壤重金属污染问题日益受到关注, 其中钒污染逐渐成为研究热点。淋洗是土壤修复的重要手段, 但存在污染大、成本高的缺点。生物淋洗技术因其经济高效且环保的特点能够应用于土壤的修复, 但其对钒污染土壤的修复, 认识仍非常有限。【方法】本研究采用嗜酸性氧化亚铁硫杆菌对钒污染土壤进行了生物淋洗试验, 通过影响因素试验探究了钒的最佳浸出条件, 并应用扫描电子显微镜-能量色散 X 射线谱分析了钒在淋洗过程中的变化, 最后对代谢产物进行了解析。【结果】微生物次生代谢产物能促进土壤中钒的溶出。氧化亚铁硫杆菌对土壤钒的浸出效率较高, 生物淋洗 20 d 后土壤中钒的浸出率达到 27.4%, 进一步的影响因素试验表明, 在固体浓度为 3%、接种体积为 10%、初始 pH 值为 1.8、初始  $\text{Fe}^{2+}$  的浓度为 3.0 g/L 的条件下, 土壤中钒的浸出效果最佳。SEM-EDS 分析证实生物淋洗后土壤中钒含量减少, 其中以非残渣态形式存在的钒更容易被浸出。代谢组学分析显示氧化亚铁硫杆菌在浸出过程中产生了大量代谢产物来应对重金属胁迫。【结论】生物淋洗技术能够有效地实现土壤钒污染的修复, 本研究为钒污染土壤提供了一种环境友好的修复方式。

**关键词:** 嗜酸性氧化亚铁硫杆菌; 生物淋洗; 钒

资助项目: 国家自然科学基金(U21A2033)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (U21A2033).

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-10-82321081, E-mail: simingc@cugb.edu.cn

Received: 2023-04-09; Accepted: 2023-05-29; Published online: 2023-06-01

# Performance and mechanism of bioleaching remediation of vanadium contaminated soil

LI Min, CHEN Siming\*, WANG Changyuan, SHI Xinyue, ZHANG Baogang

School of Water Resources and Environment, China University of Geosciences Beijing, Beijing 100083, China

**Abstract:** [Objective] Soil contamination by heavy metal is a growing concern, of which vanadium is gradually becoming a research hotspot. Although leaching is an important tool for soil remediation, it can cause severe pollution and incur high cost. Bioleaching can be applied as an efficient soil remediation process because of its cost-effective and environmental-friendliness. However, current understanding of remediation of vanadium-contaminated soil is still limited. [Methods] In this study, we applied *Acidithiobacillus ferrooxidans* in the bioleaching of vanadium-contaminated soil. The optimal leaching conditions were investigated by changing the influencing factors. The scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy were applied to analyze the changes of vanadium during the bioleaching process. The microbial metabolites were characterized. [Results] The microbial secondary metabolites could promote the leaching of vanadium from the soil. The leaching efficiency of vanadium from soil by *Acidithiobacillus ferrooxidans* was high, and the leaching rate of vanadium from soil reached 27.4% after 20 days. Further experiments on the influencing factors showed that the best leaching of vanadium from soil was achieved at a solid concentration of 3%, an inoculum volume of 10%, an initial pH of 1.8 and an initial  $\text{Fe}^{2+}$  concentration of 3.0 g/L. SEM-EDS analysis confirmed the reduction of vanadium content in the soil after leaching, and analysis of the vanadium morphology in the soil indicated that the vanadium present in the non-residue form in the soil was more easily leached. Metabolomic analyses showed that *Acidithiobacillus ferrooxidans* produced a large number of metabolites during the leaching process to cope with the high concentration of heavy metals in the environment. [Conclusion] The bioleaching technology can effectively remediate vanadium-contaminated soil. This study provides an environmentally friendly remediation approach for the restoration of vanadium-contaminated soil.

**Keywords:** *Acidithiobacillus ferrooxidans*; bioleaching; vanadium

钒(vanadium, V)是地壳中普遍存在的元素,在天然土壤中以各种矿物形态存在,包括钒铅矿、赤铁矿、绿硫钒石和钒钾铀矿,其含量分布范围各不相同(3–10 mg/kg)<sup>[1]</sup>。钒被广泛应用于合金钢、钒液流电池和催化剂等诸多领域<sup>[2]</sup>。各

领域对钒日益增多的需求量,导致钒冶炼活动增加<sup>[3-4]</sup>,进而导致环境中的钒含量不断增加<sup>[5]</sup>。在中国,钒的土壤背景值约为 82 mg/kg<sup>[6-7]</sup>,但各类地质环境中普遍存在土壤钒污染现象,据报道湖南部分地区及四川攀枝花钒冶炼厂周围土壤中钒

的浓度分别高达 4 794 mg/kg 和 1 538 mg/kg<sup>[8-9]</sup>。钒污染土壤修复通过借助物理、化学或生物技术,将土壤中钒的浓度降到安全阈值内,或将高毒性的钒转化为低毒性的钒形态,常用的方法主要有改土法、固化稳定化、化学淋洗、微生物修复和植物修复等方法<sup>[10-13]</sup>。此外,由于原油和煤炭中富含钒,燃料燃烧、钒产品的制造等人为活动导致环境中钒含量不断增加,污染生态环境<sup>[6-7,14-15]</sup>。长时间接触无机钒化合物会对人体健康产生极大影响,损害中枢神经、肾脏等,可能引发神经毒性损伤或癌症等疾病<sup>[5,16-17]</sup>,因此钒污染亟待解决。

淋洗是一种有效去除土壤中钒的方式,从而实现钒污染土壤的修复<sup>[18]</sup>。传统化学淋洗技术成本高、二次污染严重<sup>[19-22]</sup>。生物淋洗技术主要是利用微生物(如细菌、真菌)的自身代谢能力从固体废物中提取金属<sup>[23-24]</sup>,与传统化学淋洗相比,经济、高效、对环境友好<sup>[22-23,25-26]</sup>,具有发展前景,被广泛用于固体废物、矿物及粪便中金属的溶解和提取<sup>[20,27-29]</sup>。生物淋洗常用的细菌为氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*)等嗜酸性细菌,其可以淋洗多种固体废物,如燃油灰渣、钢渣、含钒矿物和含钒催化剂等,从而引起了广大研究者的关注<sup>[4,18,28,30-31]</sup>。氧化亚铁硫杆菌是一种以 CO<sub>2</sub> 为碳源的化学自养型嗜酸性需氧菌<sup>[32-33]</sup>,Gómez 等<sup>[34]</sup>的试验表明,氧化亚铁硫杆菌可以从土壤样品中完全提取重金属。然而,利用氧化亚铁硫杆菌从土壤中移除钒的研究尚未见报道。

本研究采用嗜酸性氧化亚铁硫杆菌对攀枝花钒冶炼厂附近钒污染土壤进行了生物淋洗修复。研究通过探究环境因素(固体浓度、接种量、pH 和初始 Fe<sup>2+</sup>浓度)的影响规律,确定了氧化亚铁硫杆菌生物淋洗浸出土壤钒的最佳条件。同时对试验前后土壤中钒的形态结构、元素组成等进

行了表征,并解析了氧化亚铁硫杆菌在生物淋洗过程中产生的代谢产物和途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验土壤

试验使用的土壤来自中国四川省攀枝花市某钒冶炼厂附近,经自然风干后除去树枝和石头,研磨后过 100 目筛分备用。另一部分土壤是经过化学淋洗后的土壤,其中残渣态钒的比例在 90%以上,这部分土壤同样经过风干研磨后过 100 目筛分备用。

### 1.2 细菌的培养

试验使用的嗜酸性氧化亚铁硫杆菌由东华理工大学水资源与环境工程学院核资源与环境国家重点实验室提供。研究通过采用 9K 培养基培养氧化亚铁硫杆菌,该培养基由溶液 A、B 两部分组成,其中 A 组分含有 3 g/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1 g/L KCl, 0.5 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.01 g/L Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 和 0.5 g/L MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, B 组分含有 15 g/L FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O。配制溶液经 0.22 μm 的滤膜过滤后备用<sup>[22]</sup>。两种溶液组分的 pH 值调至 1.8 后,经高压蒸汽灭菌锅在 121 °C 下灭菌 20 min,冷却至室温后将两者混合得到 9K 培养基。

将 10 mL 细菌菌液接种到一个装有 90 mL 9K 培养基的 250 mL 的锥形瓶中,放置在 (30±0.5) °C、150 r/min 的立式全温振荡器中培养。细菌的生长曲线如图 1 所示,前 24 h 内细菌处于生长延缓期,合成代谢活动十分明显<sup>[35]</sup>。进入到对数生长期后,细菌繁殖速度最快,数量呈指数增加。在 48–72 h 之间,细菌的生长已经进入稳定阶段,由于 24–48 h 内细菌活性最强生长繁殖最旺盛,因此本研究在此时期内进行传代培养或进行试验。当 Fe<sup>2+</sup>浓度小于 0.5 g/L 时,该菌株用于继代培养,经过 3–5 次传代,生长曲线稳定后进行浸出试验。

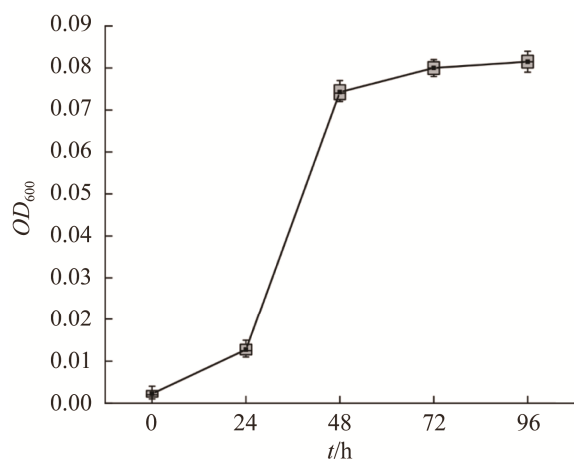


图 1 氧化亚铁硫杆菌 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) 生长曲线

Figure 1 Growth curve of *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

### 1.3 微生物淋洗试验

研究分别采用一步法和两步法进行淋洗试验。一步法先对嗜酸性氧化亚铁硫杆菌进行传代驯化培养, 然后将菌液接种到培养基中, 加入土壤样品后进行淋洗试验。细菌的驯化是将培养液中加入 1 g 的土样, 当菌液中  $\text{Fe}^{2+}$  浓度小于 0.5 g/L 时, 提取 10% 菌液接种到加入 2 g 土样的培养基中, 继续进行驯化, 当  $\text{Fe}^{2+}$  浓度小于 0.5 g/L 时, 即可用于后续浸出试验。两步法将细菌进行传代驯化培养后, 悬浮液经 0.22  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤, 将含有嗜酸性氧化亚铁硫杆菌代谢产物的滤液用于后续浸出试验。

试验反应容器选用 250 mL 锥形瓶, 分别加入 2 g 土壤样品和 100 mL 9K 培养基, 初始  $\text{Fe}^{2+}$  的浓度为 3.0 g/L, 其中一步法接种 10 mL 嗜酸性氧化亚铁硫杆菌, 两步法接种 10 mL 嗜酸性氧化亚铁硫杆菌的代谢产物, 此外用含有  $\text{Fe}^{2+}$  的培养基作为空白对照组。将反应器放置在 (30±0.5) °C、150 r/min 的立式全温振荡器中培养 20 d。每隔 2 d 采用注射器吸取等量样品, 经 0.22  $\mu\text{m}$  的滤膜过滤后, 分别测定 pH、Eh、 $\text{Fe}^{2+}$

浓度、 $\text{Fe}^{3+}$  浓度和可溶性钒浓度, 并对试验前后的土壤形态、土壤中钒的形态变化以及微生物的代谢产物进行分析。

为了探究最佳的生物浸出条件, 研究开展了影响因素试验, 探究了不同的固体浓度、接种体积、初始 pH 和初始  $\text{Fe}^{2+}$  浓度对生物浸出效率的影响, 确定了最佳的浸出条件。其中固体浓度分别为 1%、2%、3% 和 4%; 接种体积分别为 5%、10%、15% 和 20%; 初始 pH 值分别为 1.5、1.8、2.1 和 2.4; 初始  $\text{Fe}^{2+}$  浓度分别为 1、3、5 和 7 g/L。

### 1.4 分析方法

研究采用紫外分光光度法测定  $\text{Fe}^{2+}$  和总铁浓度<sup>[36]</sup>,  $\text{Fe}^{3+}$  浓度为总铁浓度和  $\text{Fe}^{2+}$  浓度的差值。通过多功能仪 (SevenExcellenceS400) 测定 pH。采用改进的 BCR 分布提取法测定试验前后土壤中钒形态<sup>[37-38]</sup>。使用电感耦合等离子体发射光谱仪测定 (inductively coupled plasma optical emission spectrometer) (ICP-OES; Thermo Fisher; X series) 测定可溶性钒浓度, 重金属钒的浸出率采用公式(1)进行计算。

$$\rho = \frac{C_i V_i + \sum_{i=2}^n C_{i-1} V_{i-1}}{m} \quad \text{公式(1)}$$

式中:  $C_i$  是  $i$  时浸出液中钒的浓度 (mg/L);  $V_i$  是  $i$  时浸出液的体积 (mL);  $C_{i-1}$  是  $i-1$  时从反应器中收集样品的钒浓度 (mg/L);  $V_{i-1}$  是  $i-1$  时从反应器中收集样品的体积 (mL);  $m$  是浸出前样品中钒的重量 (g)。

研究采用 JEOL JAX-840 型扫描电子显微镜 (SEM) 对试验前后土壤样品的形貌变化进行表征。使用 SEM-EDS (X-Act, Oxford) 测定试验前后元素组分变化。试验结束后, 上清液经 6 000 r/min 离心 10 min 后, 采用 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后冷冻干燥获得上清液粉末, 并送至上海美吉生物科技公司进行代谢组学分析。具体步骤为, 上清液样品采用液相色谱-质谱联用非靶向代谢组学进行分析, 检测后的数据使用 Progenesis Q1 (Water

Corporation, Milford)软件进行峰提取、对齐和鉴定等,用于后期处理及生信分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 生物淋洗性能

在生物淋洗试验中, Test 1 组反应器接种了 10 mL 嗜酸性氧化亚铁硫杆菌(*A. ferrooxidans*), Test 2 组加入了 10 mL 嗜酸性氧化亚铁硫杆菌的代谢产物,空白对照为含有  $\text{Fe}^{2+}$  培养基的空白对照组。接种 *A. ferrooxidans* 的试验组有效浸出土壤中的钒(图 2), 一个周期后原始土壤中重金属钒的浸出率为  $(27.4 \pm 2.0)\%$ , 显著高于空白对照组 ( $P < 0.05$ )。空白对照组土壤中钒也有一定的浸出效果, 说明酸性培养基也能够通过化学作用浸出一部分土壤中的钒, 虽然浸出效率低于接种 *A. ferrooxidans* 的试验组。加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验组的浸出效果稍强于空白对照组, 表明氧化亚铁硫杆菌的次生代谢产物也能够促进土壤中钒的溶出<sup>[39]</sup>, 因此微生物次生代谢产物可以用于改善土壤环境, 具有一定的经济效益<sup>[40]</sup>。一方面, 生物淋洗的效率受到材料本身性质的影响, 研究报道钒钛磁铁矿、钢渣、页岩和燃料灰分中钒的生物浸出效率从 12.0% 到 82.0%<sup>[22,28,30]</sup>; 另一方面, 对生物淋洗材料的预处理也会影响生物淋洗效率, Guo 等<sup>[4]</sup>采用乙酸预处理冶炼灰进而浸出了 41.5% 的钒。虽然 Li 等<sup>[41]</sup>发现加入碳酸钠, 并在 600–750 °C 焙烧可以将钒的浸出效率提高到 90% 以上, 但是生物浸矿能耗更低、二次污染更少, 因此更具有应用前景。

在接种 *A. ferrooxidans* 的试验组中钒浸出可能有以下几种途径: (1) 氧化亚铁硫杆菌可通过吸附于土壤中直接催化其氧化反应从而直接浸出土壤中的钒<sup>[42-43]</sup>。(2) 氧化亚铁硫杆菌通过代谢作用产生  $\text{H}^+$  和  $\text{Fe}^{3+}$ , 它们能够作为浸出剂将土壤中的重金属离子溶解出来<sup>[44-45]</sup>。同时,  $\text{Fe}^{3+}$

也能够通过氧化作用将土壤中的重金属氧化, 从而促进溶出<sup>[46]</sup>。

图 3 为氧化亚铁硫杆菌在淋洗过程中  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Fe}^{3+}$  的变化。如图 3A 所示, 在前 2 d 由于氧化亚铁硫杆菌快速繁殖, 迅速消耗了大量的  $\text{Fe}^{2+}$ , 接种 *A. ferrooxidans* 的试验组中  $\text{Fe}^{2+}$  的浓度在第 2 天降低到了接近零。而加入 *A. ferrooxidans* 代谢产物试验组中  $\text{Fe}^{2+}$  的浓度下降速度较为缓慢, 试验周期结束时,  $\text{Fe}^{2+}$  降至 0.4 g/L。虽然空白对照组中发生了部分化学反应, 但是  $\text{Fe}^{2+}$  的浓度较为稳定, 试验周期结束时  $\text{Fe}^{2+}$  降至 2.3 g/L。

如方程式(2)所示, 在生物淋洗的过程中, 氧化亚铁硫杆菌会将  $\text{Fe}^{2+}$  氧化成  $\text{Fe}^{3+}$ <sup>[47]</sup>。接种 *A. ferrooxidans* 的试验组中  $\text{Fe}^{3+}$  的浓度在前 2 d 迅速增加, 之后又缓慢降低。出现这种现象是由于溶液中  $\text{Fe}^{3+}$  浓度的增加, 部分  $\text{Fe}^{3+}$  会发生水解反应生成  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  沉淀(方程式 3), 同时随着 pH 的升高, 部分  $\text{Fe}^{3+}$  可能生成黄钾铁矾沉淀(方程

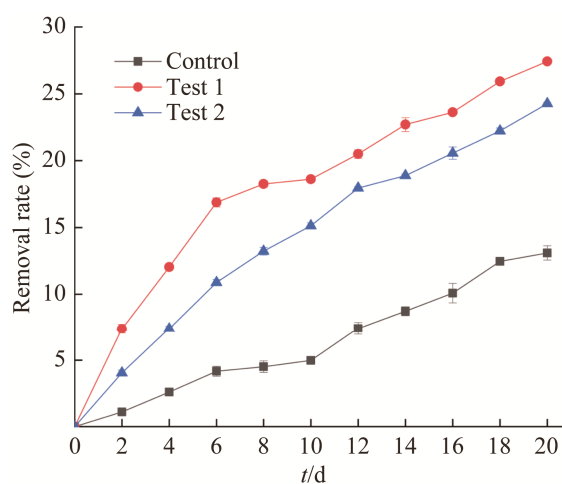


图 2 生物淋洗过程中钒的去除率随时间变化特征  
Figure 2 Characteristics of vanadium removal rate with time during bioleaching process. Control: Abiotic reactor; Test 1: Reactor inoculated with 10 mL of *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Test 2: Reactor with 10 mL of metabolites of *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

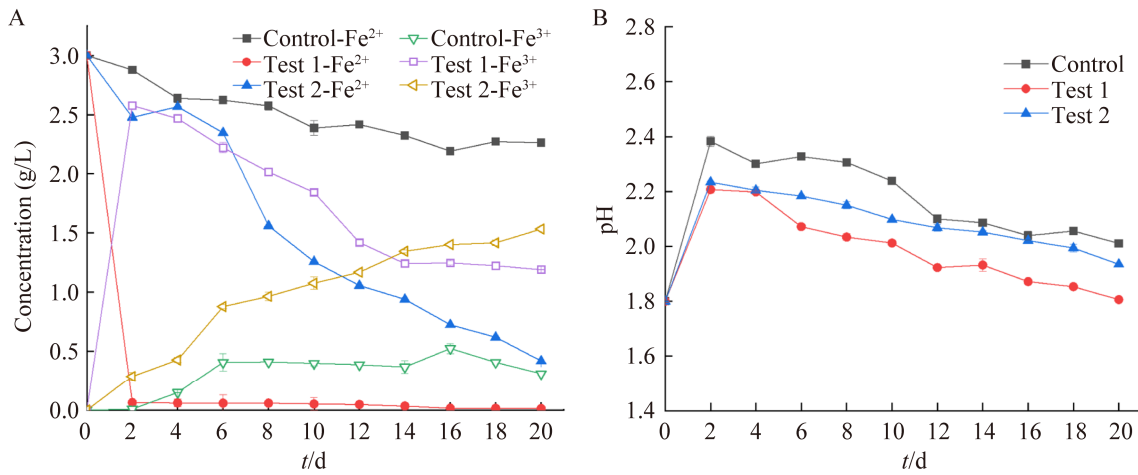


图3 生物淋洗过程中土壤中的铁离子浓度变化(A)土壤的 pH 变化(B)

Figure 3 Changes of iron ion concentration (A) pH of the soil during bioleaching (B). Control: Abiotic reactor; Test 1: Reactor inoculated with 10 mL of *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Test 2: Reactor with 10 mL of metabolites of *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

式 4), 黏附在锥形瓶的内壁上, 从而导致  $\text{Fe}^{3+}$  浓度的下降<sup>[48]</sup>。生物淋洗过程中产生的黄钾铁矾沉淀对溶液吸光度的影响非常大, 因此未监测淋洗过程中的溶液  $\text{OD}_{600}$ 。由于试验是在好氧条件下进行的, 溶液中的部分  $\text{Fe}^{2+}$  会被空气氧化成  $\text{Fe}^{3+}$ , 从而导致空白对照组和接种 *A. ferrooxidans* 的试验组(Test 1)中的  $\text{Fe}^{3+}$  浓度逐渐升高。

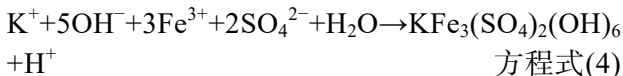
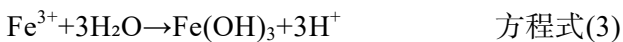
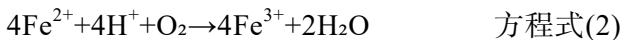


图 3B 显示了生物淋洗过程中 pH 的变化情况, 在 48 h 内 pH 逐渐升高, 随后又逐渐下降。出现这种现象的原因可能是: (1) 溶液中的  $\text{Fe}^{2+}$  被细菌氧化成  $\text{Fe}^{3+}$ , 部分  $\text{Fe}^{3+}$  会水解生成  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  沉淀, 消耗了  $\text{OH}^-$ , 产生  $\text{H}^+$ , 导致溶液中 pH 降低。(2) 生物浸出过程中会产生一定量的硫酸。(3) 随着重金属的溶出, 土壤中的酸性物质也会被溶解, 从而增强了溶液的酸性。基于此, 浸出过程中接种 *A. ferrooxidans* 的试验组 pH 下降速度最快, 加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验组 pH 下降

速度次之, 而空白对照体系中 pH 有轻微的波动。

## 2.2 影响因素分析

生物淋洗过程受到多种因素的影响, 其中固体浓度、接种物体积、pH 和初始二价铁浓度等是主要影响因素<sup>[18]</sup>。如图 4A 所示, 不同固体浓度下氧化亚铁硫杆菌对土壤中重金属钒的去除率有较大的差别。在 3% 的固体浓度下, 钒的去除率最高, 20 d 后能达到 27.4%, 去除率显著高于在 1% 和 4% 的固体浓度下的样本 ( $P < 0.05$ )。在 2% 的固体浓度下去除效率次之, 为 27.0%, 而固体浓度为 1% 时去除效率为 12.2%。当固体浓度为 4% 时, 钒的去除效率最低仅为 9.8%。这是由于较高的土壤质量导致溶出的物质较多, 增强了污染土壤对微生物的毒性作用, 从而抑制了氧化亚铁硫杆菌的正常生长, 降低了浸出效率<sup>[49]</sup>。因此 3% 的固体浓度是浸出的最适浓度。

研究探索了不同接种体积的氧化亚铁硫杆菌对生物淋洗的影响。如图 4B 所示, 当接种体积为 5% 时, 钒的浸出率较低, 仅为 14.8%, 而当接种体积为 15% 时钒的浸出效率最高为 31.3%。随着接种体积的增加, 钒的去除率也逐

渐增加。但当接种体积为 20% 时, 钒的去除率却低于在接种体积为 15% 时的去除率。这是由于接种体积较高时, 在细菌生长的过程中产生种内竞争作用, 从而抑制细菌的生长, 导致去除率下降。因为接种体积过多时经济效益低, 而接种体积过少时钒浸出率低<sup>[50]</sup>, 接种体积为 10%、15% 和 20% 时钒的浸出率较相近, 所以研究确定了 10% 作为最佳接种条件。

在不同 pH 时, 钒的浸出效率如图 4C 所示。在 pH 值为 1.8 时, 钒的去除率最高, 达到 27.3%, 显著高于 pH 值为 2.4 时的样本 ( $P < 0.05$ ), 而 pH

值为 1.5 时土壤钒的去除效果稍差一些。虽然较低的 pH 能够提供更多的  $H^+$ , 有利于土壤中重金属钒的浸出, 但 pH 值为 1.8 时的去除率高于 pH 值为 1.5, 表明过低的 pH 可能不利于氧化亚铁硫杆菌的生长, 减弱其氧化  $Fe^{2+}$  的能力<sup>[42]</sup>。pH 值为 2.1 和 2.4 时, 钒的去除率较低, 这可能是由于 pH 较高时, 溶液中可能会形成黄钾铁矾沉淀包裹住土壤, 抑制土壤中钒的溶出, 从而导致钒的去除率较低。因此, pH 值为 1.8 时既能为氧化亚铁硫杆菌的生长提供良好的生存条件, 又能够减少黄钾铁矾的产生, 提高浸出效率。

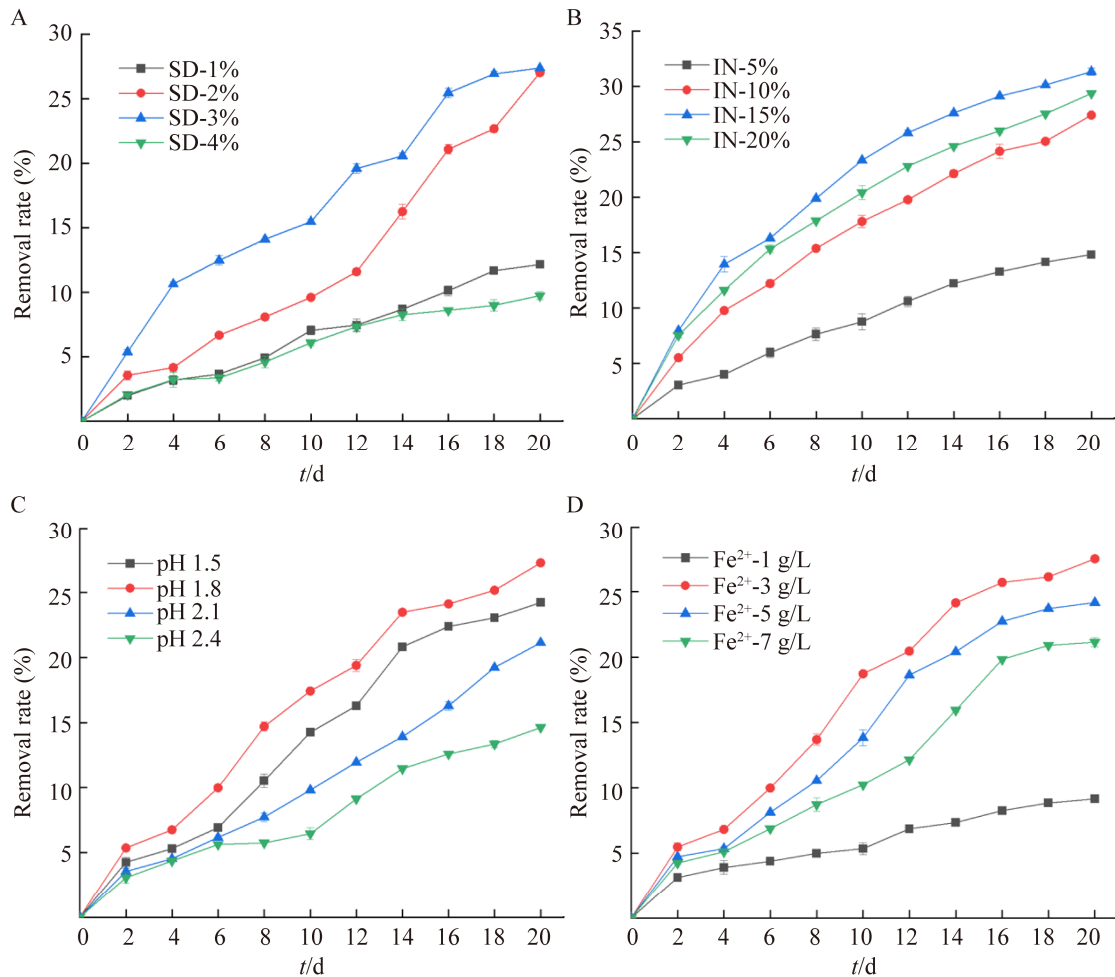


图 4 不同影响因素下钒的去除率

Figure 4 Removal of vanadium at different influencing factors. A: Solid concentration. B: Inoculum volume. C: pH. D: Initial  $Fe^{2+}$  concentration.

图 4D 显示了在不同初始  $\text{Fe}^{2+}$  浓度下土壤中钒的去除情况, 当初始  $\text{Fe}^{2+}$  浓度为 3 g/L 时浸出效率最高, 20 d 后浸出率达到 27.5%, 显著高于  $\text{Fe}^{2+}$  浓度为 1 g/L 时的样本 ( $P < 0.05$ )。当初始  $\text{Fe}^{2+}$  浓度为 1 g/L 时, 浸出效果最差, 这可能是由于在生物淋洗的过程中氧化亚铁硫杆菌的能源物质  $\text{Fe}^{2+}$  浓度较低, 无法满足其代谢需求, 抑制了细菌的生长和代谢<sup>[51]</sup>。当初始  $\text{Fe}^{2+}$  浓度为 5 g/L 和 7 g/L 时, 氧化亚铁硫杆菌的浸出效率低于初始  $\text{Fe}^{2+}$  浓度为 3 g/L 时的浸出效率, 这可能是由于初始  $\text{Fe}^{2+}$  浓度太高, 导致溶液中 ORP 过低, 溶液呈

还原态, 不利于土壤中重金属钒的溶出<sup>[52]</sup>。

### 2.3 淋洗前后土壤物化特征变化

土壤淋洗试验前后的形貌特征如图 5 所示, 原始土壤相对致密(图 5A), 浸出试验后土壤表面形成大量结构松软的絮状物(图 5B)。虽然氧化亚铁硫杆菌本身已被证实不直接参与土壤中钒的浸出过程<sup>[53]</sup>, 但是生物淋洗可以通过氧化亚铁硫杆菌的氧化还原过程实现, 微生物的生长期间产生的细胞外多聚体和某些代谢物对土壤产生影响。氧化亚铁硫杆菌在浸出过程中将  $\text{Fe}^{2+}$  氧化为  $\text{Fe}^{3+}$ <sup>[47]</sup>, 通过提高  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  比值为整个环

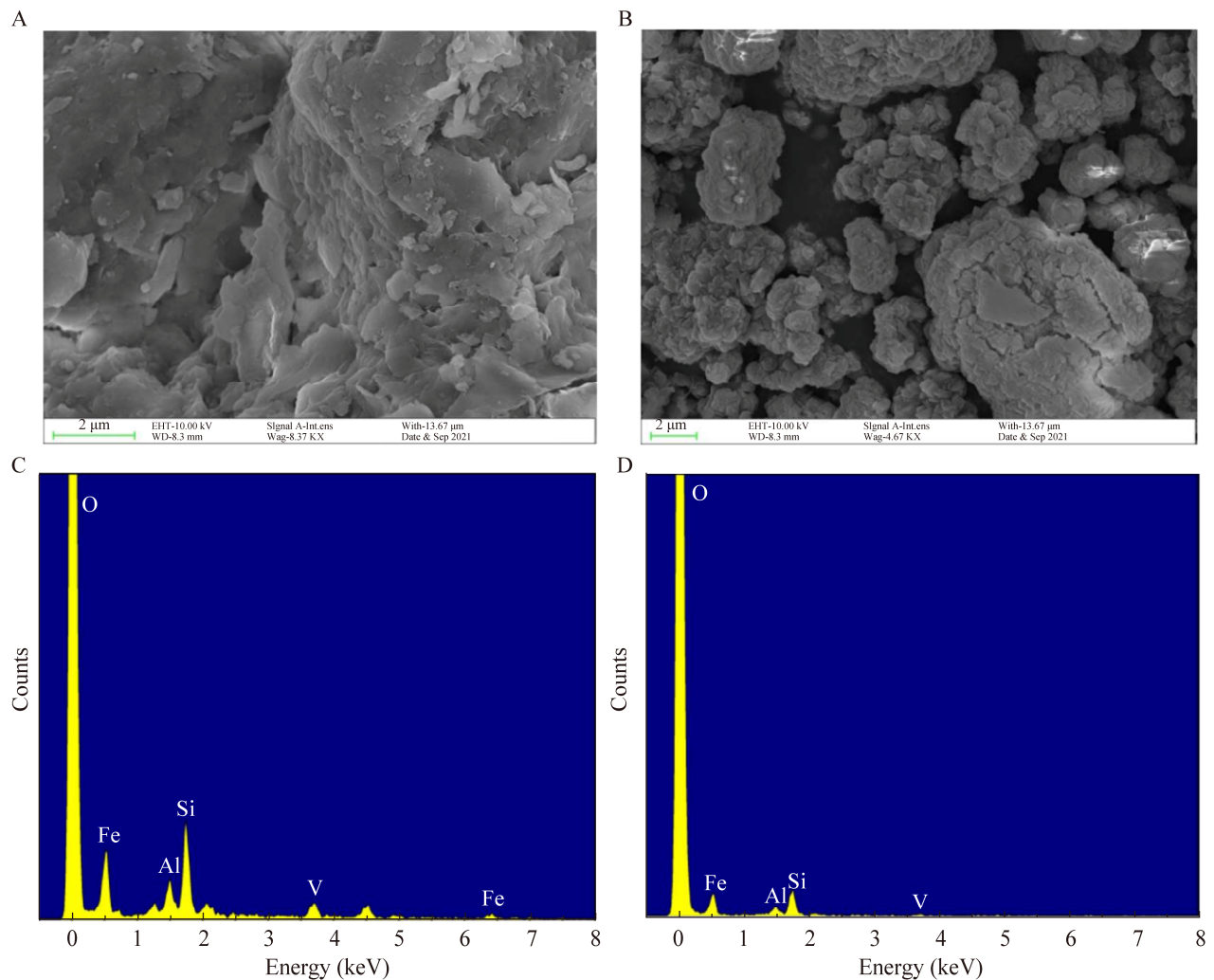


图 5 原始土壤(A、C)与淋洗后土壤(B、D)的 SEM、EDS 分析

Figure 5 SEM and EDS analysis of the pristine soil (A, C) and soil after bioleaching (B, D).



境营造氧化环境。氧化后的  $\text{Fe}^{3+}$  能够作为浸出剂, 促进土壤中重金属的浸出。土壤浸出前后元素组成发生显著变化, 原始土壤中的元素主要包括 O、Fe、Al、Si 和 V (图 5C), 生物淋洗后钒的浓度有所降低(图 5D), 说明生物淋洗能将土壤中的钒有效去除。

研究采用改进 BCR 分步提取法分析了试验前后土样中钒元素的形态变化。如图 6 所示, 浸出前原始土壤中的钒主要为残渣态和可还原态, 经氧化亚铁硫杆菌生物浸出后, 土壤中残渣态比例明显升高, 而另外 3 种形态比例都有所减少, 说明生物淋洗主要浸出了土壤中非残渣态钒。

#### 2.4 生物淋洗过程的代谢产物变化

研究开展了代谢组学分析, 通过 LC-MS 测定了接种 *A. ferrooxidans* 的试验组、加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验组和空白对照组(CK) 中上清液的代谢产物, 代谢产物的单因素方差分析如图 7 所示。1-羟基-2-甲基-2-丁烯-4-基-4-二磷酸[(E)-C-HDMAPP]、鞘氨醇(C17 sphinganine)、(2-羟基乙氧基)磺酸[(2-hydroxyethoxy) sulfonic

acid]、5-氨基戊醛(5-aminopentanal)和对氯苯丙氨酸(p-chlorophenylalanine)在空白对照组中相对丰度较低, 而在接种 *A. ferrooxidans* 的试验组和加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验组中相对丰度较高, 表明在钒的胁迫下氧化亚铁硫杆菌产生了差异性代谢。此外, 主成分分析法(principal component analysis, PCA)结果显示(图 8)接种 *A. ferrooxidans* 的试验组和加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验组上清液中阳离子和阴离子的代谢物表达较为相似, 而与空白对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ )。

接种 *A. ferrooxidans* 的试验组、加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验组和空白对照组两两比较的火山图如图 9 所示。接种 *A. ferrooxidans* 的试验组和空白对照组相比, 差异代谢产物共有 55 个, 其中有 34 个上调、21 个下调、103 个无显著变化。加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验组和 CK 相比, 差异代谢产物共有 56 个, 其中有 37 个上调、19 个下调、104 个无显著变化。加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验组和接种 *A. ferrooxidans* 的试验组相比, 差异代谢产物共有 12 个, 其中有 10 个上调、2 个下调、92 个无显著变化。以上结果说明接种 *A. ferrooxidans* 的试验组和加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验组上清液中存在更多的代谢产物, 且两者间代谢产物相当。

研究进一步解析了代谢途径, 并用表达的代谢物表示, 结果如图 10 所示。在图 10A 中, 接种 *A. ferrooxidans* 的试验组经氧化亚铁硫杆菌生物淋洗 20 d 后变化明显的代谢途径包括: 甘油磷酸酯代谢、类固醇降解、醚脂质代谢、糖醇解/糖质新生、 $\alpha$ -亚麻酸代谢、丙酸代谢、果糖和甘露糖代谢、嘧啶代谢、色氨酸代谢, 以及氨基苯甲酸酯降解等 10 条代谢途径。在图 10B 中, 加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验

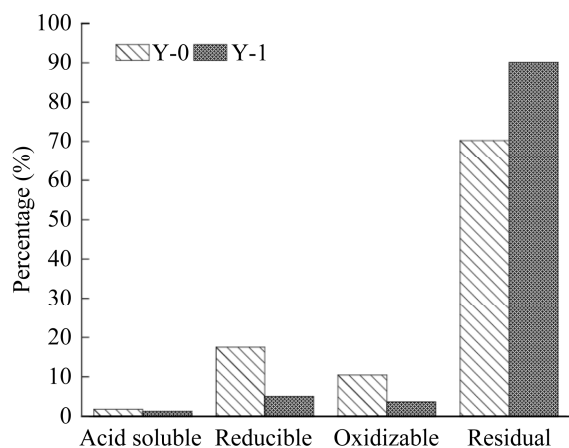


图 6 生物浸出前后钒形态的变化

Figure 6 Changes of vanadium morphology before and after bioleaching. Y-0: Soil before bioleaching; Y-1: Soil after bioleaching.

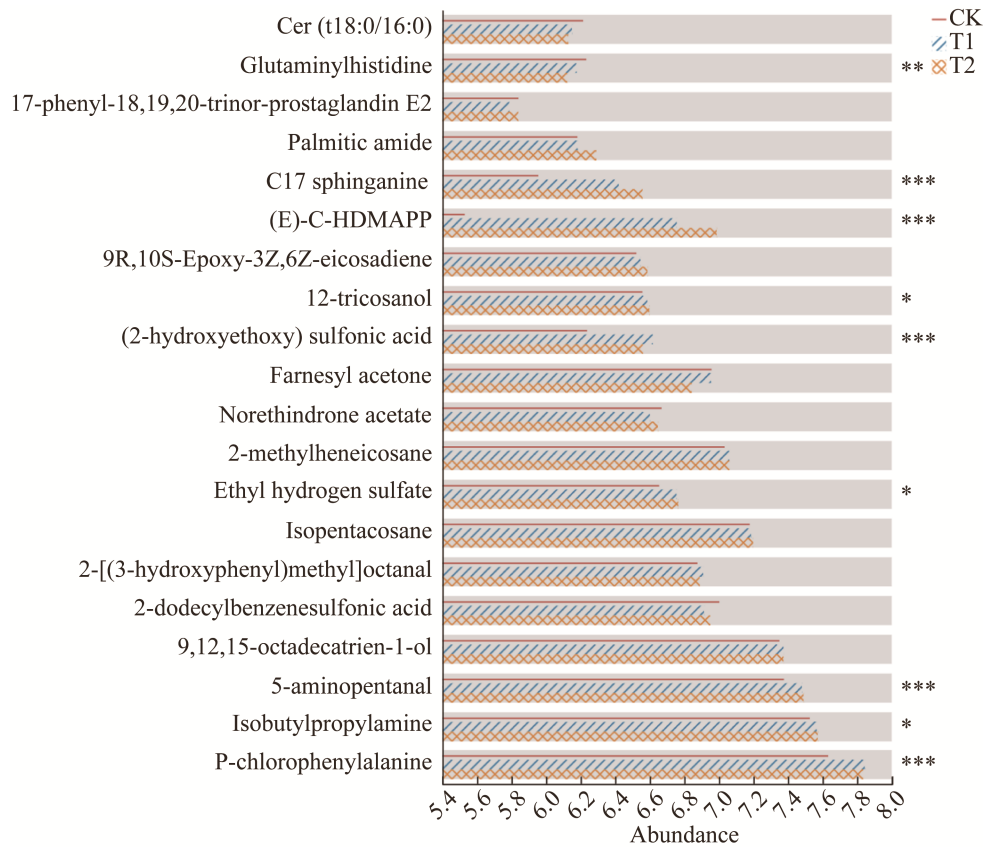


图 7 单因素方差分析

Figure 7 One-way ANOVA. The Y-axis in the figure denotes the metabolite, and the X-axis represents the relative abundance of metabolites in different groups; The rightmost is the P-value, \* indicates  $0.01 < P \leq 0.05$ , \*\* indicates  $0.001 < P \leq 0.01$ , and \*\*\* indicates  $P \leq 0.001$ . CK: Abiotic reactor; Test 1: Reactor inoculated with 10 mL of *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Test 2: Reactor with 10 mL of metabolites of *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

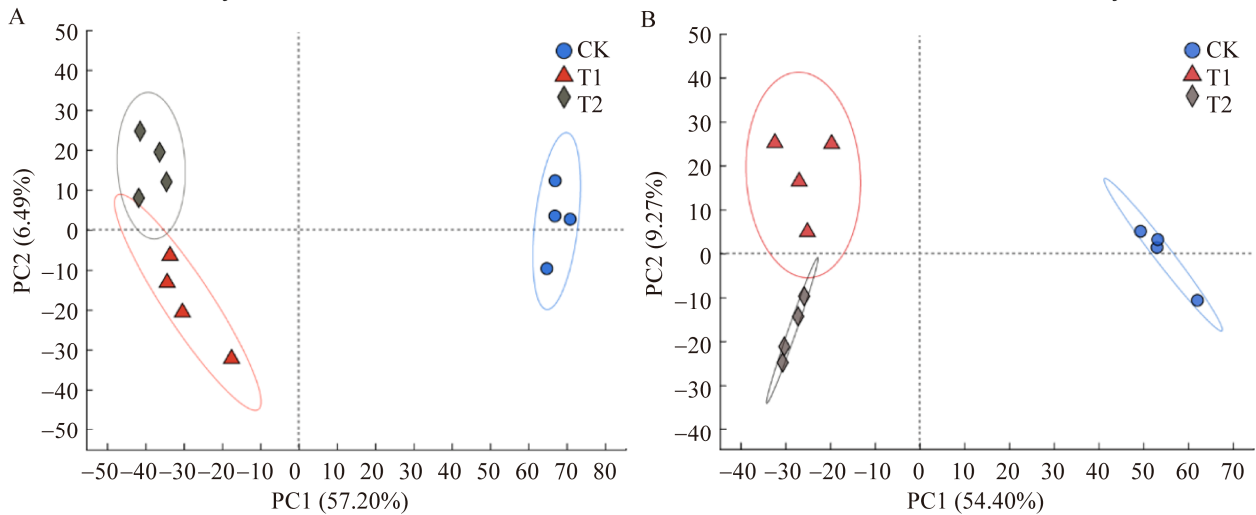


图 8 上清液中阳离子(A)和阴离子(B)的主成分分析图

Figure 8 Principal component analysis of cations (A) and anions (B) in the supernatant. CK: Abiotic reactor; Test 1: Reactor inoculated with 10 mL of *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Test 2: Reactor with 10 mL of metabolites of *Acidithiobacillus ferrooxidans*.

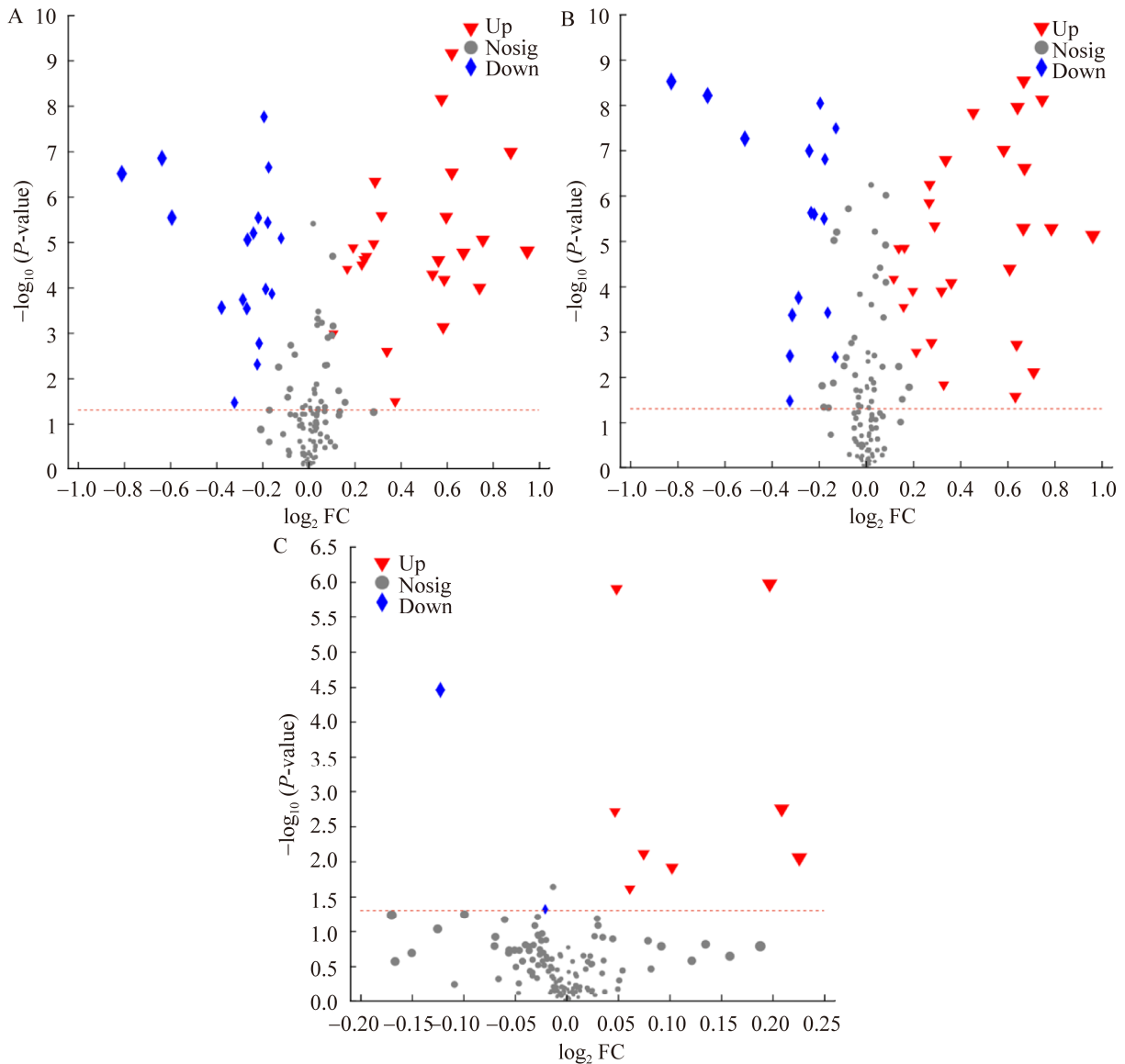


图9 差异火山图

Figure 9 Difference volcano plot. A: Test 1 vs. CK. B: Test 2 vs. CK. C: Test 2 vs. Test 1. CK: Abiotic reactor; Test 1: Reactor inoculated with 10 mL of *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Test 2: Reactor with 10 mL of metabolites of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Each point represents a metabolite. The horizontal axis represents the fold change in the difference of expression between two groups of metabolites, i.e.  $\log_2$  FC; The vertical axis is a statistical test for variation in metabolite expression, i.e.  $-\log_{10}(P\text{-value})$ , with higher values indicating greater differences.

组中次生代谢产物的代谢途径主要包括: 甘油磷酸酯代谢、氨基苯甲酸酯降解、类固醇降解、醚脂质代谢、双酚 a 降解、糖酵解/糖质新生、 $\alpha$ -亚麻酸代谢、甲苯降解、丙酸代谢、果糖和甘露糖代谢、叶酸生物合成、嘧啶代谢、苯甲酸降解、色氨酸代谢、泛素酮和其他萘类醌的生物合成。

在图 10C 中, 加入 *A. ferrooxidans* 代谢物的试验组与接种 *A. ferrooxidans* 的试验组相比主要代谢途径包括: 双酚 a 降解、糖酵解/糖质新生、甲苯降解、甘油磷酸酯代谢、药物代谢酶类、叶酸生物合成、苯甲酸降解、氨基苯甲酸酯降解、泛素酮和其他萘类醌的生物合成。

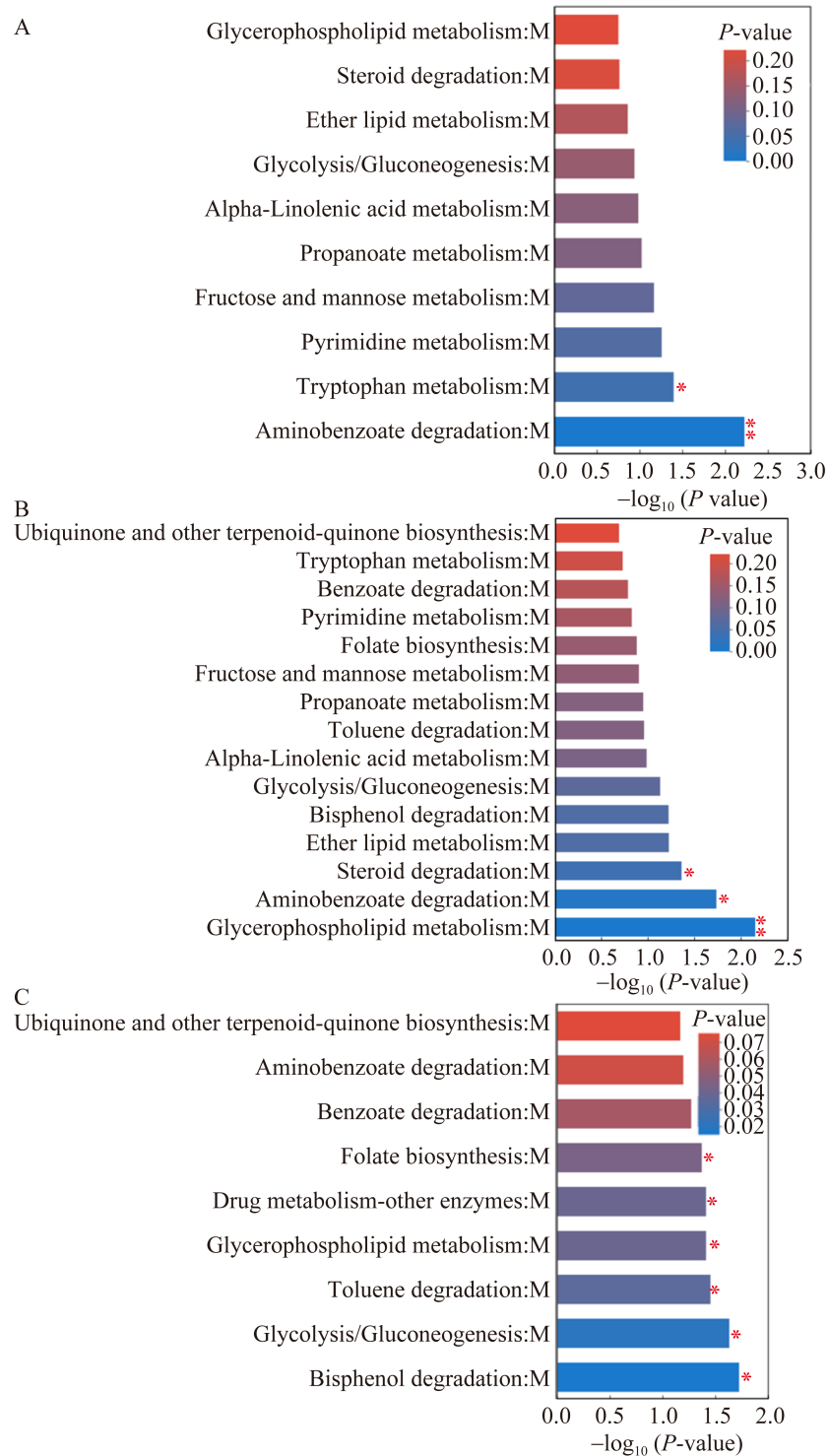


图 10 上清液中 KEGG 富集分析图

Figure 10 Plot of KEGG enrichment analysis in the supernatant. A: Test 1 vs. CK. B: Test 2 vs. CK. C: Test 2 vs. Test 1. CK: Abiotic reactor; Test 1: Reactor inoculated with 10 mL of *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Test 2: Reactor with 10 mL of metabolites of *Acidithiobacillus ferrooxidans*. The horizontal coordinate is the enrichment significance  $P$ -value. Generally,  $P$ -value less than 0.05 is considered as a significant enrichment term for this function; The vertical coordinate is the KEGG pathway. The size of the bubble represents the amount of metabolite.

某些化合物,如糖和亚麻酸、丙酸、色氨酸等氨基酸的代谢是氧化亚铁硫杆菌摄取、消耗和排泄的结果<sup>[54]</sup>。Fischer 等<sup>[55]</sup>认为,甘油磷酸酯和醚脂质等脂质的代谢可能会阻止细菌生物膜中有毒金属离子的吸收。因此一方面,氧化亚铁硫杆菌通过自身代谢产生的各种产物来应对高浓度重金属环境,以维持正常繁殖和发育;另一方面,氧化亚铁硫杆菌产生的各种代谢产物也可以促进土壤中重金属钒的浸出。

### 3 结论

本研究主要应用嗜酸性氧化亚铁硫杆菌淋洗土壤中的重金属钒,结果表明氧化亚铁硫杆菌可有效浸出土壤中的钒,20 d 后钒浸出率达(27.4±2)%,显著高于空白对照组( $P<0.05$ )。影响因素试验研究显示,3%的固体浓度,10%的接种体积、1.8 的初始 pH 值和 3 g/L 的初始  $\text{Fe}^{2+}$  浓度为生物淋洗的最佳条件。SEM-EDS 分析表明生物淋洗后土壤中的钒含量减少,土壤中以非残渣态形式存在的钒被浸出。代谢组学分析表明,氧化亚铁硫杆菌在生物淋洗过程中产生了鞘氨醇、(2-羟基乙氧基)磺酸、5-氨基戊醛和对氯苯丙氨酸等代谢物来应对高浓度的重金属环境。此过程中,氧化亚铁硫杆菌主要代谢途径为甘油磷酸酯代谢、类固醇降解、醚脂质代谢等氨基酸和脂质的代谢。基于此,本研究利用嗜酸性氧化亚铁硫杆菌对钒污染土壤进行了生物淋洗,为微生物法治理修复钒污染土壤提供了新的见解。

### 参考文献

- [1] IMTIAZ M, MUSHTAQ MA, NAWAZ MA, ASHRAF M, RIZWAN MS, MEHMOOD S, AZIZ O, RIZWAN M, VIRK MS, SHAKEEL Q, IJAZ R, ANDROUTSOPOULOS VP, TSATSAKIS AM, COLEMAN MD. Physiological and anthocyanin biosynthesis genes response induced by vanadium stress in mustard genotypes with distinct photosynthetic activity[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2018, 62: 20-29.
- [2] CHEN B, BAO SX, ZHANG YM. Synergetic strengthening mechanism of ultrasound combined with calcium fluoride towards vanadium extraction from low-grade vanadium-bearing shale[J]. *International Journal of Mining Science and Technology*, 2021, 31(6): 1095-1106.
- [3] ZHANG BG, QIU R, LU L, CHEN X, HE C, LU JP, REN ZJ. Autotrophic vanadium (V) bioreduction in groundwater by elemental sulfur and zerovalent iron[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(13): 7434-7442.
- [4] GUO XX, CHEN SM, HAN YW, HAO CB, FENG XJ, ZHANG BG. Bioleaching performance of vanadium-bearing smelting ash by *Acidithiobacillus ferrooxidans* for vanadium recovery[J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 336: 117615.
- [5] ZHANG BG, LI YN, FEI YM, CHENG YT. Novel pathway for vanadium (V) bio-detoxification by gram-positive *Lactococcus raffinolactis*[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(3): 2121-2131.
- [6] HUANG JH, HUANG F, EVANS L, GLASAUER S. Vanadium: global (bio)geochemistry[J]. *Chemical Geology*, 2015, 417: 68-89.
- [7] ZHANG BG, WANG S, DIAO MH, FU J, XIE MM, SHI JX, LIU ZQ, JIANG YF, CAO XL, BORTHWICK AGL. Microbial community responses to vanadium distributions in mining geological environments and bioremediation assessment[J]. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 2019, 124(3): 601-615.
- [8] 王云, 魏复盛. 土壤环境元素化学[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1995: 231-237.  
WANG Y, WEI FS. *Elemental Chemistry of Soil Environment*[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1995: 231-237 (in Chinese).
- [9] XIAO XY, YANG M, GUO ZH, JIANG ZC, LIU YN, CAO X. Soil vanadium pollution and microbial response characteristics from stone coal smelting district[J]. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2015, 25(4): 1271-1278.
- [10] BOLAN N, KUNHIKRISHNAN A, THANGARAJAN R, KUMPIENE J, PARK J, MAKINO T, KIRKHAM MB, SCHECKEL K. Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils-to mobilize or to

- immobilize?[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 266: 141-166.
- [11] 曹学龙. 攀枝花矿区土壤钒分布与异位修复研究[D]. 北京: 中国地质大学(北京)硕士学位论文, 2017. CAO XL. Study on distribution and ex-situ remediation of vanadium in soils of Panzhihua mine area[D]. Beijing: Master's thesis of China University of Geosciences Beijing, 2017 (in Chinese).
- [12] STURGES SG, MCBETH P, PRATT RC. Performance of soil flushing and groundwater extraction at the United Chrome Superfund site[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 1991, 29(1): 59-78.
- [13] 许光辉, 李振高. 微生物生态学[M]. 南京: 东南大学出版社, 1991: 214-297. XU GH, LI ZG. *Microbial Ecology*[M]. Nanjing: Southeast University Press, 1991: 214-297 (in Chinese).
- [14] TENG YG, YANG J, SUN ZJ, WANG JS, ZUO R, ZHENG JQ. Environmental vanadium distribution, mobility and bioaccumulation in different land-use Districts in Panzhihua Region, SW China[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2011, 176(1): 605-620.
- [15] ZHANG BG, FENG CP, NI JR, ZHANG J, HUANG WL. Simultaneous reduction of vanadium (V) and chromium (VI) with enhanced energy recovery based on microbial fuel cell technology[J]. *Journal of Power Sources*, 2012, 204: 34-39.
- [16] CAO XL, DIAO MH, ZHANG BG, LIU H, WANG S, YANG M. Spatial distribution of vanadium and microbial community responses in surface soil of Panzhihua mining and smelting area, China[J]. *Chemosphere*, 2017, 183: 9-17.
- [17] WANG ZL, ZHANG BG, HE C, SHI JX, WU MX, GUO JH. Sulfur-based mixotrophic vanadium (V) bio-reduction towards lower organic requirement and sulfate accumulation[J]. *Water Research*, 2021, 189: 116655.
- [18] BREDBERG K, KARLSSON HT, HOLST O. Reduction of vanadium (V) with *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*[J]. *Bioresource Technology*, 2004, 92(1): 93-96.
- [19] YANG X, PANG HJ, ZHANG JH, LIUBINAS A, DUKE M. Sustainable waste water deammonification by vacuum membrane distillation without pH adjustment: role of water chemistry[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 328: 884-893.
- [20] WANG SH, XIE YL, YAN WF, WU XE, WANG CT, ZHAO F. Leaching of vanadium from waste  $V_2O_5$ - $WO_3$ / $TiO_2$  catalyst catalyzed by functional microorganisms[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 639: 497-503.
- [21] DU GC, FAN CL, YANG HT, ZHU QS. Selective extraction of vanadium from pre-oxidized vanadium slag by carbochlorination in fluidized bed reactor[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2019, 237: 117765.
- [22] LI JX, ZHANG BG, YANG M, LIN H. Bioleaching of vanadium by *Acidithiobacillus ferrooxidans* from vanadium-bearing resources: performance and mechanisms[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 416: 125843.
- [23] BAHALOO-HOREH N, MOUSAVI SM, BANIASADI M. Use of adapted metal tolerant *Aspergillus niger* to enhance bioleaching efficiency of valuable metals from spent lithium-ion mobile phone batteries[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 197: 1546-1557.
- [24] GOLZAR-AHMADI M, MOUSAVI SM. Extraction of valuable metals from discarded AMOLED displays in smartphones using *Bacillus foraminis* as an alkali-tolerant strain[J]. *Waste Management*, 2021, 131: 226-236.
- [25] YE GH, HU YB, TONG X, LU L. Extraction of vanadium from direct acid leaching solution of clay vanadium ore using solvent extraction with N235[J]. *Hydrometallurgy*, 2018, 177: 27-33.
- [26] WU CC, HU XY, WANG HZ, LIN Q, SHEN CF, LOU LP. Exploring key physicochemical sediment properties influencing bioleaching of heavy metals[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 445: 130506.
- [27] XIANG Y, WU PX, ZHU NW, ZHANG T, LIU W, WU JH, LI P. Bioleaching of copper from waste printed circuit boards by bacterial consortium enriched from acid mine drainage[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 184(1-3): 812-818.
- [28] WEI DP, LIU T, ZHANG YM, CAI ZL, HE JT, XU CB. Vanadium bioleaching behavior by *Acidithiobacillus ferrooxidans* from a vanadium-bearing shale[J]. *Minerals*, 2018, 8(1): 24.
- [29] HUANG T, WEI X, ZHANG SH. Bioleaching of copper sulfide minerals assisted by microbial fuel cells[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 288: 121561.
- [30] RASTEGAR SO, MOUSAVI SM, SHOJAOSADATI SA, SARRAF MAMOORY R. Bioleaching of V, Ni, and Cu from residual produced in oil fired furnaces using *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. *Hydrometallurgy*, 2015, 157: 50-59.

- [31] PRADHAN D, MISHRA D, KIM DJ, AHN JG, CHAUDHURY GR, LEE SW. Bioleaching kinetics and multivariate analysis of spent petroleum catalyst dissolution using two acidophiles[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 175(1/2/3): 267-273.
- [32] YAN L, YIN HH, ZHANG S, LENG FF, NAN WB, LI HY. Biosorption of inorganic and organic arsenic from aqueous solution by *Acidithiobacillus ferrooxidans* BY-3[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 178(1-3): 209-217.
- [33] TEMPLE KL, COLMER AR. The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium, *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1951, 62(5): 605-611.
- [34] Gómez C, BOSECKER K. Leaching heavy metals from contaminated soil by using *Thiobacillus ferrooxidans* or *Thiobacillus thiooxidans*[J]. *Geomicrobiology Journal*, 1999, 16(3): 233-244.
- [35] 周德庆. 微生物学教程[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2002: 154-155.  
ZHOU DQ. Essential Microbiology[M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2002: 154-155 (in Chinese).
- [36] SUGIO T, TAHA TM, TAKEUCHI F. Ferrous iron production mediated by tetrathionate hydrolase in tetrathionate-, sulfur-, and iron-grown *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270 cells[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2009, 73(6): 1381-1386.
- [37] RAURET G, F LÃ³PEZ-SÃ¡NCHEZ J, SAHUQUILLO A, RUBIO R, DAVIDSON C, URE A, QUEVAUVILLER P. Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 1999, 1(1): 57-61.
- [38] NEMAT K, ABU BAKAR NK, ABAS MR, SOBHANZADEH E. Speciation of heavy metals by modified BCR sequential extraction procedure in different depths of sediments from Sungai Buloh, Selangor, Malaysia[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 192(1): 402-410.
- [39] SCHINNER F, BURGSTALLER W. Extraction of zinc from industrial waste by a *Penicillium* sp.[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1989, 55(5): 1153-1156.
- [40] BROMBACHER C, BACHOFEN R, BRANDL H. Biohydrometallurgical processing of solids: a patent review[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1997, 48(5): 577-587.
- [41] LI XS, XIE B, WANG GE, LI XJ. Oxidation process of low-grade vanadium slag in presence of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>[J]. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2011, 21(8): 1860-1867.
- [42] 王淀佐, 李宏煦, 阮仁满. 硫化矿的生物冶金及其研究进展[J]. *矿冶*, 2002, 11(B07): 8-12, 59.  
WANG DZ, LI HX, RUAN RM. Biometallurgy of sulfide ores and its research progress[J]. *Mining & Metallurgy*, 2002, 11(B07): 8-12, 59 (in Chinese).
- [43] 胡纯, 龚文琪, 黄腾, 鲍光明, 李育彪, 辛桢凯. 微生物湿法冶金技术的研究与发展[J]. *湖北农业科学*, 2010, 49(3): 736-739, 744  
HU C, GONG WQ, HUANG T, BAO GM, LI YB, XIN ZK. Research and development on microbial hydrometallurgical technology[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2010, 49(3): 736-739, 744 (in Chinese).
- [44] 廖美霞. 含钒石煤中钒的微生物浸出工艺研究[D]. 湘潭: 湘潭大学硕士学位论文, 2015.  
LIAO MX. Study on bioleaching conditions of vanadium from vanadium-bearing stone coal[D]. Xiangtan: Master's thesis of Xiangtan University, 2015 (in Chinese).
- [45] 叶国华, 何伟, 童雄, 吴宁. 粘土钒矿不磨不焙烧直接酸浸提钒的研究[J]. *稀有金属*, 2013, 37(4): 621-627.  
YE GH, HE W, TONG X, WU N. Extracting vanadium from argillaceous vanadium ore by direct acid leaching without grinding and roasting[J]. *Chinese Journal of Rare Metals*, 2013, 37(4): 621-627 (in Chinese).
- [46] DEVECI H, AKCIL A, ALP I. Bioleaching of complex zinc sulphides using mesophilic and thermophilic bacteria: comparative importance of pH and iron[J]. *Hydrometallurgy*, 2004, 73(3/4): 293-303.
- [47] MARRERO J, COTO O, GOLDMANN S, GRAUPNER T, SCHIPPERS A. Recovery of nickel and cobalt from laterite tailings by reductive dissolution under aerobic conditions using *Acidithiobacillus* species[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(11): 6674-6682.
- [48] WANG X, LIN H, DONG YB, LI GY. Bioleaching of vanadium from barren stone coal and its effect on the transition of vanadium speciation and mineral phase[J]. *International Journal of Minerals, Metallurgy, and Materials*, 2018, 25(3): 253-261.
- [49] 彭浩, 伍锡斌, 郑雄攀, 郭静, 黄辉胜, 李兵. 生物炭还原五价钒的行为研究[J]. *钢铁钒钛*, 2021, 42(4): 12-17.

- PENG H, WU XB, ZHENG XP, GUO J, HUANG HS, LI B. Reduction behaviors of pentavalent vanadium with biochar[J]. *Iron Steel Vanadium Titanium*, 2021, 42(4): 12-17 (in Chinese).
- [50] PANDA S, SANJAY K, SUKLA LB, PRADHAN N, SUBBAIAH T, MISHRA BK, PRASAD MSR, RAY SK. Insights into heap bioleaching of low grade chalcopyrite ores—a pilot scale study[J]. *Hydrometallurgy*, 2012, 125-126: 157-165.
- [51] 袁博文. 生物滴滤塔脱除 SO<sub>2</sub> 降解菌的筛选及降解工艺的研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学硕士学位论文, 2010.
- YUAN BW. Removal of SO<sub>2</sub> biotrickling filter degrading bacteria and degradation process of screening[D]. Xi'an: Master's thesis of Xi'an University of Architecture and Technology, 2010 (in Chinese).
- [52] 梁志蓉. 含铜尾矿无害化技术研究[D]. 重庆: 重庆大学硕士学位论文, 2010.
- LIANG ZR. Study of copper tailings harmless technology[D]. Chongqing: Master's Thesis from Chongqing University, 2010 (in Chinese).
- [53] MOSIER AC, JUSTICE NB, BOWEN BP, BARAN R, THOMAS BC, NORTHEN TR, BANFIELD JF. Metabolites associated with adaptation of microorganisms to an acidophilic, metal-rich environment identified by stable-isotope-enabled metabolomics[J]. *mBio*, 2013, 4(2): e00484-12.
- [54] 胡婉月, 张焕祯, 祝红, 王智丽, 郭伟. 表面活性剂淋洗修复氯代烃污染土壤技术进展[C]//环境工程. 北京: 中国环境科学出版社, 2019: 586-589, 595.
- HU WY, ZHANG HZ, ZHU H, WANG ZL, GUO W. Remediation of chlorinated hydrocarbons contaminated soils by surfactant-enhanced washing[C]//Environmental Engineering. Beijing: China Environmental Science Press, 2019: 586-589, 595 (in Chinese).
- [55] FISCHER CR, WILMES P, BOWEN BP, NORTHEN TR, BANFIELD JF. Deuterium-exchange metabolomics identifies *N*-methyl *lys*o phosphatidylethanolamines as abundant lipids in acidophilic mixed microbial communities[J]. *Metabolomics*, 2012, 8(4): 566-578.

**陈思铭**, 中国地质大学(北京)水资源与环境学院讲师。获中国矿业大学环境工程学士学位, 南加州大学环境工程专业硕士和博士学位, 并在明尼苏达大学双城分校从事博士后研究。科学研究主要关注环境工程微生物过程和技术, 包括微生物电化学、微生物包埋技术和厌氧发酵等, 从事重金属污染土壤和地下水治理与修复、工业废水处理和市政污水处理等方面的工作, 在 *Water Research*、*Environmental Science: Water Science & Technology*、*Chemical Engineering Journal* 等期刊发表第一/通讯作者论文 10 余篇, 担任 *Water Research*、*Scientific Report* 和 *Water Environment Federation Conference* 等期刊和学术会议审稿人。课程教学涵盖环境生物工程、环境生态学和环境管理等。

