

王茂林, 吴世军, 杨永强, 等. 微生物诱导碳酸盐沉淀及其在固定重金属领域的应用进展[J]. 环境科学研究, 2018, 31(2): 206-214.

WANG Maolin, WU Shijun, YANG Yongqiang, et al. Microbial induced carbonate precipitation and its application for immobilization of heavy metals: a review [J]. Research of Environmental Sciences, 2018, 31(2): 206-214.

## 微生物诱导碳酸盐沉淀及其在固定重金属领域的应用进展

王茂林<sup>1,2,3</sup>, 吴世军<sup>1,2\*</sup>, 杨永强<sup>1,2</sup>, 陈繁荣<sup>1,2</sup>

1. 中国科学院广州地球化学研究所, 中国科学院矿物学与成矿学重点实验室, 广东 广州 510640

2. 广东省矿物物理与材料研究开发重点实验室, 广东 广州 510640

3. 中国科学院大学, 北京 100049

**摘要:** 生物矿化已受到化学、物理、生物、材料、医学、生命及环境等多学科的广泛关注, 其中, 以尿素为底物的 MICP (微生物诱导碳酸盐沉淀) 技术是生物矿化领域的研究热点之一. 在分析 MICP 过程中的酶解机理和生物大分子在微生物矿化过程中的作用基础上, 通过对重金属离子的矿化产物和碳酸盐矿化菌的成矿因素分析, 揭示 MICP 矿化产物的特征及形成条件. 碳酸盐矿化菌主要产生脲酶分解尿素, 增加土壤  $\text{CO}_3^{2-}$  饱和度, 其代谢产生的胞外聚合物具有多种功能团组合和键能连接, 起着调控生物矿化的作用. MICP 技术可用于固定土壤和水体中的 Cu、Pb、Zn、Cd、Cr、As 等重金属, 重金属主要以共沉淀的形式被固定, 阴离子型重金属以类质同象置换方式分别占据方解石中的  $\text{CO}_3^{2-}$  位和  $\text{Ca}^{2+}$  位, 从而促使污染土壤中的可交换态重金属向碳酸盐结合态转移. 但是, MICP 技术主要针对减少重金属的生物可利用性, 不能满足以全量来计算的现行土壤环境质量标准, 且 MICP 技术在长期有效性、生物安全性和土壤理化性质等方面存在诸多隐患. 因此, 由试验条件转向实际应用具有一定挑战. 建议寻找更稳定的方法以阻止碳酸盐矿物中的重金属溶出, 且有必要将开发高效的土著微生物复合菌剂作为未来 MICP 研究的方向之一.

**关键词:** 微生物矿化; 重金属; 碳酸盐沉淀; 脲酶

中图分类号: X53

文章编号: 1001-6929(2018)02-0206-09

文献标志码: A

DOI: 10.13198/j.issn.1001-6929.2017.03.55

## Microbial Induced Carbonate Precipitation and Its Application for Immobilization of Heavy Metals: a Review

WANG Maolin<sup>1,2,3</sup>, WU Shijun<sup>1,2\*</sup>, YANG Yongqiang<sup>1,2</sup>, CHEN Fanrong<sup>1,2</sup>

1. CAS Key Laboratory of Mineralogy and Metallogeny, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China

2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Mineral Physics and Materials, Guangzhou 510640, China

3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** Biomineralization has attracted much attention from chemistry, physics, biology, material, medicine, life and environment sciences. Microbial induced carbonate precipitation (MICP) using urea as the substrate is one of the hot topics. Herein, we reviewed the enzymatic mechanism of MICP and the function of biomacromolecule in the progress of biomineralization. Previous studies showed that the concentration of soil carbonate increases due to the decomposition of urea which can be enhanced in the presence of urease produced by ureolytic bacteria. Meanwhile, the extracellular polymer substance (EPS) secreted by the bacteria, possessing varied functional groups and chemical bonding, can regulate the biomineralization. The results demonstrated that MICP can remediate heavy metals pollution, such as Cu, Pb, Zn, Cd, Cr and As both in soil and solution. Co-precipitation is the dominant mechanism for the heavy metals immobilization, via cation  $\rightarrow$   $\text{Ca}^{2+}$  / anion  $\rightarrow$   $\text{CO}_3^{2-}$  substitution, resulting in carbonate-bound heavy metals. Therefore, MICP is useful to reduce the bioavailability of heavy metals. However, it does not change the soil quality according to the current standards which base on the total concentration of heavy metals. Furthermore, there are potential risks on several topics, such as long-term validity, biological safety and

收稿日期: 2017-07-10 修订日期: 2017-09-28

作者简介: 王茂林 (1992-), 男, 甘肃白银人, zkywangmaolin@163.com.

\* 责任作者, 吴世军 (1981-), 男, 四川仁寿人, 副研究员, 博士, 主要从事环境污染治理理论与技术研究, wus@gig.ac.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No.41373106, 41573098); 广州市科技计划项目 (No.201504010007)

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 41373106, 41573098); Science and Technology Program of Guangzhou, China (No.201504010007)

change of physical or chemical properties, which challenge the application of MICP to immobilize heavy metals in soil. The technique should be further developed to re-immobilize the released heavy metals due to the dissolution of carbonate minerals. Meanwhile, multiple native microbial communities should be developed to insure the effectiveness of MICP in varied environments.

**Keywords:** microbial mineralization; heavy metals; carbonate precipitation; urease

城市化、工业化、采矿业以及农业集约化进程加剧了重金属向环境的释放,越来越多的重金属通过土壤、水体、大气等介质直接或间接地危害人类的健康,甚至引发地区性的粮食危机。近年来,重金属污染问题日益严重,引起全社会的广泛关注。目前,我国土壤总点位超标率高达 16.1%,其中无机污染点位占 82.8%<sup>[1]</sup>,主要污染物为镉、汞、砷、铜、铅、铬、锌、镍等重金属。多地出现“镉米”“铅米”等事件,全国年均粮食减产约  $1\ 200 \times 10^4$  t,经济损失超过  $200 \times 10^8$  元<sup>[2]</sup>。因此,治理土壤重金属污染刻不容缓。土壤重金属修复主要是通过清除或固定污染物,减少其迁移性和生物可利用性,传统的修复方法包括:①以客土、翻土、去表土为主的工程治理方法;②以磷酸盐类、黏土矿物类、有机类的沉淀、吸附、络合、氧化还原等为主的化学固定技术;③以植物提取、固定、挥发、过滤为主的生物修复<sup>[3-5]</sup>。这些方法中,工程方法对土壤重金属的去除率较低;化学钝化简单易行、效果显著,但是钝化剂本身可能含有重金属、对土壤结构和理化性质造成显著影响,妨碍农作物对微量营养元素的吸收;而生物修复虽然对土壤改性温和,但是容易造成重金属在植物体内的富集,植物根系积累的重金属在一定条件下又可以释放到周边土壤中。针对这些问题,研究者逐渐开发了一些新方法,如基于地球化学的原位成矿、生态-物理修复技术、农业技术调控和固定技术联用等<sup>[6-7]</sup>。

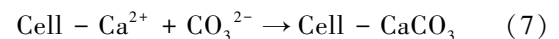
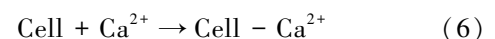
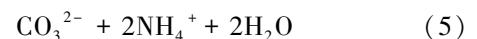
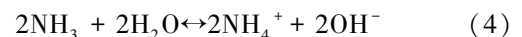
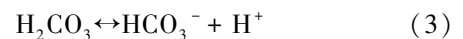
MICP(微生物诱导碳酸盐沉淀)是微生物诱导成矿(BIM)的延伸,指在环境中存在  $\text{Ca}^{2+}$  等金属离子以及其他底物存在时,微生物通过自身代谢调节体系环境,形成以方解石为主的碳酸盐晶体,是联系宏观矿物质与生命现象的重要桥梁,是地质微生物学领域重要的研究方向之一<sup>[8-9]</sup>。近年来, MICP 的机理以及利用其固定环境中重金属的研究已经有了很大的发展,目前 MICP 技术主要有尿素水解、反硝化作用、三价铁还原和硫酸盐还原作用等<sup>[10]</sup>,其中尿素水解方法简单、过程控制容易、短时间内就能产生大量的碳酸盐类沉淀,研究较为广泛。笔者主要介绍产脲酶的 MICP 机制及其在固定重金属领域的应用。

## 1 基于脲酶水解的 MICP 机理

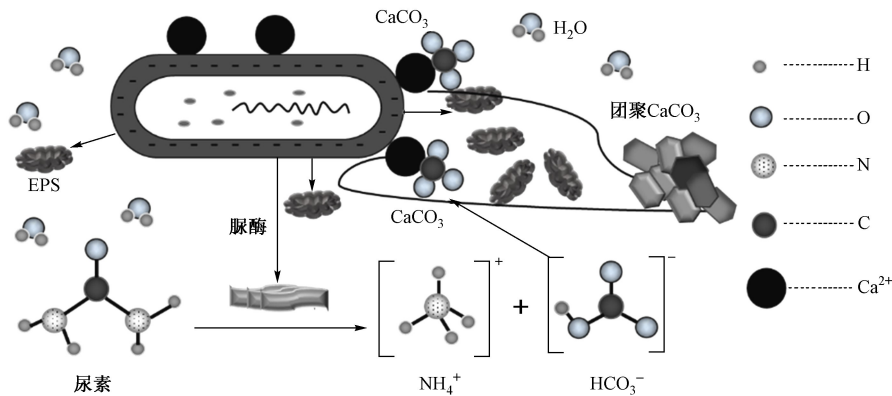
尿素水解的 MICP 是基于高产脲酶菌的一系列

生物化学反应,其中微生物的主要作用是提供脲酶和晶核。产脲酶微生物在环境中广泛存在,嗜碱性,能以土壤或水体中的尿素为氮源,通过自身新陈代谢产生高活性的脲酶,进而促进尿素水解。脲酶催化作用的本质是脲酶破坏尿素的共价键,其活性中心与尿素底物分子之间通过氢键、离子键、疏水键等短程非共价力作用,形成 E-S(脲酶-尿素)反应中间物<sup>[11-13]</sup>。

微生物生长过程中会产生大量的 EPS(胞外聚合物),其主要成分是多糖、糖醛酸及蛋白质等,可作为某些矿化产物成核的附着面,即有机质和无机物质相互作用的界面。这些胞外聚合物具有大量带负电的官能团如羧基( $-\text{COOH}$ )、羟基( $-\text{OH}$ )、羰基( $\text{C}=\text{O}$ ),可吸附溶液中  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  等阳离子。此时,细菌和带有阳离子的 EPS 成为  $\text{CaCO}_3$  沉淀及生长的有效位点,  $\text{CaCO}_3$  在其表面形成晶核并逐渐长大,形成矿物结晶。随着  $\text{CaCO}_3$  结晶数量的不断增多,细胞被完全包裹,细胞代谢活动所需的营养物质难以得到供应,导致细胞逐渐死亡<sup>[14]</sup>,微生物参与成核过程如图 1 所示,整个反应的化学过程见式(1)~(7)<sup>[10,14-15]</sup>。



EPS 对矿化产物的控制是微生物矿化的关键,这种控制主要涉及两个方面:①EPS 包含的键能对矿化产物的控制;②大分子的结构和表面能对矿化位置和形态的控制。EPS 具有多种高低不同的键能和由肽链组成的多级蛋白结构,控制着环境体系 pH 的变化及无机-有机的键能链接;生物体中存在高能的共价键,键能相对较低的氢键、离子键、范德华键等,各种键的形成与断裂处在动态平衡的状态<sup>[17]</sup>。EPS 包含诸多疏水性大分子结构构架和充当矿物成核面的酸性大分子,二者共同组装形成有机基体,起着机械支撑的结构构架作用,能与无机矿物进行复杂组装,其



注:根据文献[16]修改.

图1 微生物诱导碳酸盐成矿的过程

Fig. 1 The process of microbial induced carbonate mineralization

矿化产物具有良好的生物相容性和优异的机械性能,能够抵抗存在于生物环境中的拉应力、压应力和弯曲力<sup>[18]</sup>. 如大凤螺的螺壳是参有一定比例有机成分的碳酸钙晶体复合材料,呈交错层纹状,具有50 GPa的弹性系数和100 MPa的抗弯强度,其壳珍珠层的断裂能高达 $1.3 \times 10^4 \text{ J/m}^2$ ,高于普通文石3~4个数量级<sup>[19]</sup>;鹿角材料可以在300 MPa的应力作用下持续延伸而不断裂<sup>[20]</sup>;鲍鱼壳等海洋贝类有机模板的核心部分是丝心蛋白穿过表层与内部的层状纤维缔合,其在一定的物理化学条件下控制溶液中的离子向固相转变<sup>[21-22]</sup>.

## 2 MICP在固定重金属领域的应用

基于脲酶菌的MICP技术具有能耗小、种类多、资源丰富、环境友好等优点,被广泛地应用于建筑行业 and 生态修复. 采用涂抹、灌浆、注射等工艺,通过微环境的供给加速混凝土和水泥基表面原位矿化形成碳酸钙防护层,对于石质文物和建筑材料缺陷修复具有重要意义. 此外,碳酸盐在沉淀过程中,可以捕获部分重金属或放射性元素,这些元素一般以类质同象置换方式占据 $\text{CaCO}_3$ 中的 $\text{Ca}^{2+}$ 或 $\text{CO}_3^{2-}$ 位置. 因此,人们希望MICP技术能在重金属和部分放射性元素污染修复方面发挥作用并进行了积极的探索,国外已经有大量学者开展相关方面的机理研究,国内开展相关研究的学者较少. 目前,将MICP技术应用于重金属污染治理方面的工作还主要集中于实验室模拟阶段,近几年部分MICP固定重金属的研究汇总如表1所示.

### 2.1 阳离子型重金属

#### 2.1.1 Cu

Achal等<sup>[23]</sup>筛选出一株对铜具有较强耐受能力的革兰氏阳性菌——*Kocuria flava* CR1,其脲酶产率高,可去除培养基中97% ( $ic = 1000 \text{ mg/L}$ ,  $ic$ 指重金

属初始浓度)的 $\text{Cu}^{2+}$ ,将其应用于 $\text{Cu}^{2+}$ 污染严重的土壤,生物修复率达95%,产物主要是方解石和文石. Kang等<sup>[25]</sup>从重金属污染的土壤中分离出5种能诱导形成方解石的芽孢八叠球菌*Sporosarcina*,其中*Sporosarcina soli* B-22在酵母膏-硫酸铵培养基上接种72 h,能够去除61.8% ( $ic = 128 \text{ mg/L}$ )的 $\text{CuCl}_2$ ,形成 $\text{CuCO}_3$ 和 $\text{CaCO}_3$ 沉淀,其中以 $\text{CaCO}_3$ 为主. 另外,土壤农杆菌、巴氏葡萄球菌、沃氏葡萄球菌、短小芽孢杆菌等菌种对铜的耐受能力较强<sup>[41]</sup>,可作为MICP修复铜污染土壤的潜在菌种.

#### 2.1.2 Pb

Achal等<sup>[26]</sup>于2012年首次报道了利用MICP技术生物修复铅污染的土壤,接种细菌的土壤中可交换态Pb浓度减少了83.4% ( $ic = 100 \text{ mg/kg}$ ),碳酸盐结合态中的Pb含量增加83.2%,因此,*K. flava* CR1对可交换态Pb的去除主要以碳酸盐结合态的形式封存. 王新花等<sup>[29]</sup>从金矿尾矿中筛选出一种施氏假单胞菌并用于修复Pb污染土壤,当初始Pb浓度为0.01~0.05 mmol/L时,Pb去除率在97%以上,除生成少量 $\text{PbCO}_3$ 外,大部分Pb通过与微生物诱导形成的 $\text{CaCO}_3$ 共沉淀去除. 成艳等<sup>[30]</sup>从土壤中筛选出的一株耐受Pb的碳酸盐矿化菌株——*Bacillus cereus* Pb<sub>21</sub>,可在中性和碱性条件下快速生成 $\text{PbCO}_3$ ,溶液中Pb去除率可高达90%以上 ( $ic = 2 \text{ g/L}$ ). 相似地,尾矿区筛选得到的UR47、*Bacillus* sp. KK1、下水道肠杆菌等耐Pb的菌种均能利用 $\text{PbCl}_2$ 、 $\text{PbSiO}_3$ 、 $\text{PbS}$ 等多种含Pb化合物形成稳定态 $\text{PbCO}_3$ 以及含Pb的 $\text{CaCO}_3$ <sup>[27-28,42-43]</sup>,表明MICP技术对于环境中长期暴露的Pb污染修复具有较大的应用前景.

#### 2.1.3 Cd

Kumari等<sup>[31]</sup>利用从长江水分离出的微杆菌

表1 MICP 固定重金属研究实例

Table 1 The examples of MICP in immobilization of heavy metal

重金属	细菌	不同介质中重金属的生物修复率	数据来源
Cu	黄色考克氏菌( <i>Kocuria flava</i> CR1)	95% (ic = 340 mg/kg, 土壤)	文献[23]
	碳酸盐矿化菌剂	97% (ic = 1 000 mg/L, 溶液)	文献[23]
	土壤芽孢八叠球菌( <i>Sporosarcina soli</i> B-22)	74% (ic = 12.95 mg/kg, 土壤)	文献[24]
	朝鲜芽孢八叠球菌( <i>Sporosarcina koreensis</i> UR47)	61.8% (ic = 128 mg/L, 溶液)	文献[25]
Pb	朝鲜芽孢八叠球菌( <i>Sporosarcina koreensis</i> UR47)	93.2% (ic = 945 mg/L, 溶液)	文献[28]
	黄色考克氏菌( <i>Kocuria flava</i> )	83.4% (ic = 100 mg/kg, 土壤)	文献[26]
	阴沟肠杆菌( <i>Enterobacter cloacae</i> KJ-46)	68% (ic = 7.2 mg/L, 溶液)	文献[27]
	施氏假单胞菌( <i>Pseudomonas stutzeri</i> )	99% (ic = 1.49 g/L, 溶液)	文献[28]
	蜡状芽孢杆菌( <i>Bacillus cereus</i> Pb <sub>21</sub> )	97% (ic = 103.5 mg/L, 溶液)	文献[29]
Zn	碳酸盐矿化菌剂	75% (ic = 4.95 mg/kg, 土壤)	文献[24]
	芽孢八叠球菌( <i>Sporosarcina</i> sp. R-31323 UR31)	90% (ic = 2 g/L, 溶液)	文献[30]
Cd	芽孢八叠球菌( <i>Sporosarcina</i> sp. R-31323 UR31)	99% (ic = 0.96 g/L, 溶液)	文献[28]
	碳酸盐矿化菌剂	50% (ic = 33.46 mg/kg, 土壤)	文献[24]
	微杆菌( <i>Exiguobacterium undae</i> )	84% (ic = 100 mg/L, 溶液)	文献[31]
	球形芽孢杆菌( <i>Lysinibacillus sphaericus</i> )	90% (ic = 100 mg/kg, 土壤)	文献[31]
	肿大地杆菌( <i>Terrabacter tumescens</i> )	99.95% (ic = 0.82 g/L, 溶液)	文献[32]
Cr	碳酸盐矿化菌剂	99% (ic = 1.23 g/L, 溶液)	文献[28]
	芽孢杆菌 GZ-22( <i>Bacillus</i> sp. GZ-22)	52% (ic = 0.64 mg/kg, 土壤)	文献[24]
	芽孢杆菌( <i>Bacillus</i> sp. CS8)	60.72% (ic = 10 mg/L, 溶液)	文献[33]
As	蜡状芽孢杆菌( <i>Bacillus cereus</i> YR5)	>68% (ic = 124.8 mg/kg, 镉渣)	文献[34]
	芽孢八叠球菌( <i>Sporosarcina ginsengisoli</i> )	92% (ic = 100 mg/kg, 土壤)	文献[35]
Sr	芽孢八叠球菌( <i>Sporosarcina ginsengisoli</i> )	96% (ic = 10 mg/L, 溶液)	文献[36]
	碳酸盐矿化菌剂	99.8% (ic = 500 mg/kg, 土壤)	文献[36]
	盐单胞菌( <i>Halomonas</i> sp.)	83% (ic = 14.01 mg/kg, 土壤)	文献[24]
Sr	芽孢杆菌( <i>Bacillus pasteurii</i> )	86% (ic = 100 mg/kg, 石英砂)	文献[37]
	巴氏芽孢八叠球菌( <i>Sporosarcina pasteurii</i> )	95% (ic = 87.6 mg/L, 溶液)	文献[38]
	巴氏芽孢八叠球菌( <i>Sporosarcina pasteurii</i> WJ-2)	59% (ic = 210 mg/L, 多孔介质流)	文献[39]
		80% (ic = 7 mg/kg, 石英砂)	文献[40]

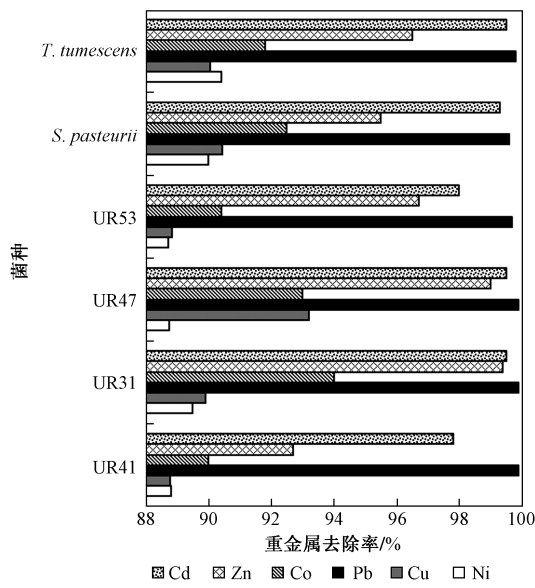
注:ic 指土壤或溶液中重金属的初始浓度。

*Exiguobacterium undae* YR10, 分别在 10 和 25 °C 条件下进行了 MICP 修复 Cd 污染土壤的试验。2 周后 90% (ic = 100 mg/kg) 以上的 Cd 转化为碳酸盐结合态, 首次证明 MICP 技术在低温条件下修复 Cd 污染土壤的巨大潜能。ZHAO 等<sup>[33]</sup> 比较了基于菌株 GZ-22 的 MICP 与生物吸收去除溶液中 Cd 的效率, 最适条件下 48 h 内 MICP 的去除率为 60.72% (ic = 10 mg/kg), 其产物为稳定的 CdCO<sub>3</sub>, 而生物吸收的去除率为 56.27%, 表明 MICP 是一种高效且环境友好的原位修复技术。生物矿化产物本身对重金属也有一定的去除效果<sup>[44]</sup>, 牡蛎壳是生物矿化的产物, 含有大量的 CaCO<sub>3</sub>, 向土壤中添加 5 mg/kg 的废牡蛎壳

后, 0.1 mol/L 盐酸可提取态 Cd 减少 69.5%<sup>[45]</sup>。

#### 2.1.4 其他重金属

Zn、Co、Ni 等阳离子型重金属也能通过 MICP 技术固定。LI 等<sup>[28]</sup> 利用 *Sporosarcina globispora* (UR53)、*Sporosarcina koreensis* (UR47)、*Sporosarcina* sp. R-31323 (UR31)、*Bacillus lentus* (UR41)、*S. pasteurii*、*T. tumescens* 等 6 种菌进行 MICP 试验, 如图 2 所示, 当溶液中加入初始浓度为 2 g/L 的 NiCl<sub>2</sub>、CuCl<sub>2</sub>、PbCl<sub>2</sub>、ZnCl<sub>2</sub>、CoCl<sub>2</sub>、CdCl<sub>2</sub> 时, Ni、Cu、Pb、Zn、Co、Cd 的去除率为 88%~100%, 其中 6 种菌对 Pb 的去除率都接近 100%。UR31、UR47、*S. pasteurii*、*T. tumescens* 对 Cd 的去除率较高, 超过 99%, UR31 对 Zn 和 Co 去



注: 根据文献[28]修改。

图2 不同微生物通过MICP对溶液中重金属的去除率

Fig. 2 The removal rates of various aqueous heavy metals by isolated bacterial strains through MICP

除率最高,分别超过99%和94%,肿大地杆菌 *T. tumescens* 对 Ni 的去除率较高,达到90%。

总之,碳酸盐矿化菌在生长繁殖的过程中通过生物催化酶的作用,将底物尿素分解形成  $\text{CO}_3^{2-}$ ,进而将周围环境中的  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  等金属离子以  $\text{CaCO}_3$  沉淀的形式固定下来,阻止其进一步向植物及食物链中迁移,有效地降低人类遭受重金属威胁的风险。表1中所列的菌种均是从当地污染土壤中筛选得到,属于土著菌种,不仅克服了普通细菌对高浓度重金属极度敏感的缺陷,而且其诱导形成的产物对重金属的固定率高,有效地降低了重金属的生物利用率,使其维持在动植物所需的微量元素水平成为可能。

## 2.2 阴离子型重金属 Cr 及类金属 As

### 2.2.1 Cr

我国每年生产铬渣 0.45 Mt,是世界上生产铬渣量最大的国家<sup>[46]</sup>。Cr(VI)迁移速率极快,可降低胞内抗氧化酶活性、ROS(促进活性氧化物)的合成,损伤DNA,导致细胞死亡及细胞癌变<sup>[47]</sup>。物理屏障能防止铬渣随暴雨蔓延,基于尿素水解的MICP技术能有效阻止游离态Cr迁移。*Bacillus* sp. CS8 诱导作用下制成的含铬渣的固态砖中Cr(VI)含量是渗沥液中的4倍,Cr(VI)进入到方解石的晶格中,化学性质相对稳定,有效降低了铬渣中Cr(VI)向周围环境迁移的可能性<sup>[34]</sup>。增加溶液中的Cr(VI)浓度可抑制方解

石的成核及生长,但能促进亚稳定的球霏石和文石形成<sup>[48]</sup>。同步辐射研究表明,CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>主要占据方解石中的CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>位置<sup>[49]</sup>。一些细菌,如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、中间苍白杆菌(*Pannonibacter phragmitetus*)、无色杆菌(*Achromobacter*)、*Pannonibacter phragmitetus*等能够将Cr(VI)还原为Cr(III)<sup>[50-53]</sup>,碳酸盐矿化菌和Cr(VI)还原型微生物的联用能够有效地将有毒的Cr(VI)变成无毒的Cr(III)并稳定地封存于碳酸盐矿物中。

### 2.2.2 As

As是一种具有毒性的类金属,且As(III)的毒性远大于As(V)。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>俗称砒霜,剧毒,可使细胞正常代谢发生障碍,导致细胞死亡,引起神经衰弱、多发性神经炎、皮肤癌以及黑角病等。Achal等<sup>[36]</sup>利用一种芽孢八叠球菌 *Sporosarcina ginsengisoli* CR5 修复As(III)污染的土壤,可将溶解态As(III)含量从500 mg/kg降至0.88 mg/kg。Juillot等<sup>[54]</sup>发现含砷尾矿渗滤液流经石灰岩层后形成了多种砷酸钙矿物,认为砷酸根可以替代方解石矿物中的碳酸根离子。Benedetto等<sup>[55]</sup>利用电子自回旋波谱法检测到在天然方解石晶格中As占据了C位点,表明含As方解石中存在AsO<sub>3</sub><sup>3-</sup> ↔ CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>,并指出当As不能通过被Fe/Mn氢氧化物吸附而固定时,亚砷酸根以类质同像置换方式被方解石捕获可能是一种有效降低As迁移性的途径。

目前针对Cr和As的微生物修复主要是将Cr(VI)和As(III)经过氧化还原反应转化为毒性较弱的Cr(III)和As(V),该过程易受土壤溶解氧、土壤pH-E<sub>h</sub>和土壤有机质等的影响。相比而言,利用微生物矿化作用将Cr(VI)和As(III)固定于方解石晶格中更能有效地阻止其迁移。但是方解石类矿物的容纳能力有限,在高浓度As污染的土壤中,可以考虑基于微生物矿化的原位成矿和其他修复方式的联合使用。

### 2.3 放射性元素

核能、核武器开发以及核事故将向环境排放<sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs、<sup>226</sup>Ra、<sup>241</sup>Am等放射性核素,它们长期暴露在环境中可能会对生物体产生严重危害。研究发现,U(IV)、U(VI)均可进入天然方解石结构,占据其中的Ca<sup>2+</sup>离子位置<sup>[56]</sup>,这为生物矿化处理放射性核素提供了一种思路。巴氏芽孢杆菌诱导产生的方解石球状聚集体能有效地胶结含铀粗矿渣,形成坚硬且具有一定强度的砂柱<sup>[57]</sup>。基于枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的热力学模型表明,细菌细胞壁表面可形成

$\text{UO}_2(\text{OH})_2$ 、 $\text{UO}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{CaUO}_2(\text{CO}_3)_2$  等稳定复合物,对于地表环境中铀的迁移具有较大的滞留效应<sup>[58]</sup>. Achal 等<sup>[37]</sup>利用高度耐受 Sr 的盐单胞菌固定含水层石英砂中的 Sr,可交换态 Sr 去除率达到 86%,XRD 结果显示产物主要为方解石,并含少量文石和球霏石. INEEL (爱达荷国家工程与环境实验室)利用 MICP 技术固定模拟蛇河平原含水层中的<sup>90</sup>Sr,巴氏芽孢杆菌诱导形成的方解石中 Sr 的平均分配系数(0.5)远高于天然方解石和合成方解石中的分配系数(0.02~0.4),二次离子质谱分析表明 Sr 在方解石晶体表面和内部均有分布<sup>[59]</sup>. 相似地,Lauchnor 等<sup>[39]</sup>在运用 MICP 技术处理模拟 Hanford 场址中的含<sup>90</sup>Sr 多孔介质时,发现溶液中超过 50% 以上的 Sr 可在流经沉积物柱时被截留,并以碳酸盐结合态存在.

#### 2.4 微生物钝化剂

微生物钝化剂主要是利用微生物诱导成矿的原理,采取一定的技术手段制备和保藏具有生物矿化能力的微生物. 常见的微生物矿化菌剂主要有碳酸盐矿化菌剂和磷酸盐矿化菌剂,笔者主要讨论碳酸盐微生物矿化菌剂. 制备微生物菌剂必须尽可能保持微生物的活性和减少外力对菌体造成的机械损伤,钱春香等<sup>[14]</sup>综合考虑微生物生长的各种条件经试验总结出碳酸盐矿化菌剂(主要是芽孢杆菌)的最佳离心转速为 6 000 r/min,离心时间为 10 min,理想冷冻干燥厚度为 5 mm,而低储存温度对菌粉长期保持较高活性更有效. 许燕波等<sup>[24]</sup>将制备好的革兰氏阳性菌剂作为微生物矿化修复制剂喷洒于 1 000 m<sup>2</sup> 的污染土壤,土壤中交换态重金属离子含量明显减少,As、Pb、Cd、Zn、Cu 的含量分别从 14.01、4.95、0.64、33.46、12.95 mg/kg 降至 2.37、1.25、0.31、16.67、3.42 mg/kg. 由于碳酸盐矿化菌剂固定重金属的效果受到重金属浓度、价态、土壤 pH、环境温度及湿度等条件的影响,不同的微生物对重金属和环境的敏感度不相同,因此,筛选环境耐受性高、对各种重金属固定能力强的菌种是 MICP 修复重金属污染土壤的关键.

### 3 MICP 固定重金属面临的挑战

MICP 可用于固定溶液和土壤中的重金属,具有良好应用前景. 但是,现有研究大部分尚处于实验室研究阶段,仅有少量小试或现场试验报道<sup>[24]</sup>. 如需采用 MICP 技术固定重金属特别是污染土壤中的重金属尚面临诸多挑战,主要包括评价标准不一致、长期有效性未知及生物安全、土壤环境恶化等潜在的副作用.

#### 3.1 评价标准

根据 MICP 固定重金属的原理可知,该方法既可归类微生物修复技术,也可归类于化学固定技术. 当将 MICP 技术用于土壤重金属修复治理时,土壤中部分可交换态重金属转化为碳酸结合态,但土壤中重金属的总量不变. 现行 GB 15618—1995《土壤环境质量标准》<sup>[60]</sup>及 GB 15618—201□《农用地土壤环境质量标准(三次征求意见稿)》<sup>[61]</sup>均规定了土壤中重金属总量限值,如果按照总量来评价 MICP 技术固定重金属的效果,经过 MICP 处理后仍难达标. 因此,对于 MICP 固定重金属的评价应该注重其生物可利用性. 以处理 As 和 Cu 污染的土壤为例,现有研究中土壤 As 和 Cu 最高含量分别为 500 mg/kg<sup>[36]</sup>和 340 mg/kg<sup>[23]</sup>,均高于 GB 15618—201□中规定的最高限值. 经过 MICP 处理后可交换态 As 含量从 25.85 mg/kg 降至 0.88 mg/kg,可交换态 Cu 含量从 67 mg/kg 降至 3.5 mg/kg,有效地降低了其生物可利用性. 如表 1 所述,现有研究中并非所有重金属初始浓度都高于土壤环境质量标准. 以 Cr 为例,其在研究土壤中的最高初始浓度仅为 100 mg/L<sup>[35]</sup>,低于 GB 15618—201□中规定的 150 mg/L 的最低限值. 而大部分污染土壤中重金属浓度可能会高于其规定标准的几倍甚至几十倍,当将 MICP 技术用于高浓度重金属污染土壤修复时,其固定重金属有效性如何还需进一步验证.

#### 3.2 长期有效性

虽然 MICP 在短时间内能起到很好固定重金属的效果,但是随着时间的延续以及一些气候和人为因素,土壤中的碳酸盐结合态或许难以长期稳定存在,碳酸盐结合态重金属有可能会重新活化. 最新研究<sup>[62]</sup>表明,30%由 MICP 沉淀的  $\text{CaCO}_3$  在完全沉积后 1 个月内发生了溶解. 因此,有必要模拟土壤自然条件,研究经过 MICP 处理的重金属在不同环境条件下的溶解和迁移规律,并积极探索更有效地包裹重金属的矿物载体,如将土壤中的方解石进一步转化为更稳定的羟基磷灰石.

#### 3.3 生物安全

能诱导尿素分解产生方解石类矿物的微生物有很多,包括微藻、真菌和细菌等,但效果显著的微生物只有极少一部分,主要是芽孢杆菌和球菌,其中以脲芽孢八叠球菌效果最为显著,且对重金属的耐受性普遍较高,是一种理想的碳酸盐矿化菌剂. 但任何一种微生物如果单独大量地引入到某一环境中,会侵占土著微生物的生活空间和营养,破坏当地土壤微生物的种群多样性. 因此,有必要采取细胞工程、基因工程

等先进的生物技术驯化土著微生物,使其具有芽孢八叠球菌的产脲酶基因,从而研发高效环保的复合碳酸盐矿化菌剂。

### 3.4 土壤环境

尿素是 MICP 技术的关键物质之一。尿素的过量输入,使得土壤氮素供过于求,在碳酸盐矿化菌的作用下,土壤 pH 和温度迅速升高,可能引起土壤结构黏滞、空隙堵塞、通气性差、容重高、养分释放慢,造成好气性微生物活动差,渗透系数低,毛细作用强等不良影响,导致表层土壤盐渍化加剧,甚至出现土壤板结现象,影响农作物正常生长。针对这一现象,可以考虑使用秸秆、米糠等天然有机物代替培养液减少土壤盐分,经常翻耕以确保土壤正常呼吸,以及复合有机肥与尿素的配合使用调控土壤 pH。

## 4 结论与展望

a) 微生物是生物矿化的关键,脲酶菌在 MICP 中的作用主要是分解脲素,产生  $\text{NH}_3$  提高微环境的 pH,释放  $\text{CO}_3^{2-}$  增加矿物结晶驱动力,其自身则充当  $\text{CaCO}_3$  成矿的结晶位点,其代谢产物 EPS 能调制无机晶体成核,主要起着结构组装和键能连接的作用。

b) 应该加强 MICP 过程及去除重金属的机理研究,结合酶反应动力学和结晶热动力学研究含重金属方解石形成过程,利用现代分析技术研究金属离子在细胞内外的沉积部位和结合方式。深入研究土壤中微生物如何调控土壤微环境、设置矿化位、诱导或控制生物矿化过程,探讨重金属在矿化产物中是否具有长期稳定性。

c) 微生物诱导成矿是自然界中普遍存在的现象,很多微生物均具有这种能力。利用大自然的力量原位固定重金属是一种蓬勃发展的生态修复技术,利用农业上广泛使用的肥料尿素作为碳酸盐矿化菌的底物,既能保证农作物生长所需的氮源,又可以有效地固定土壤中的重金属,是一种环境友好的生态修复技术。MICP 过程中重金属主要与  $\text{CO}_3^{2-}$  发生沉淀或与  $\text{CaCO}_3$  共沉淀被去除,但土壤理化性质复杂,微生物种类繁多,微生物对重金属的地球化学行为还包括生物吸附与富集、氧化-还原、淋滤等。在不同的环境中,微生物与重金属的作用不尽相同,因此,如何在土壤中营造以微生物矿化为主的条件至关重要。

d) 基于脲酶菌的 MICP 技术对土壤有效态重金属的去除效果较好,但土壤重金属总量仍未发生变化,土壤富含各种有机质和腐殖酸,且在全球变暖及温室效应加剧的环境演化下,雨水呈逐渐酸化趋势,重金属能否以碳酸盐结合态稳定存在于土壤中有待

于继续深入研究。

e) 目前,关于 MICP 的试验大部分是单一菌种研究,微生物生长和代谢需要适宜的条件,接种外源微生物可能并不适合在土壤中发挥其矿化作用,甚至可能对土著微生物群落多样性产生影响,因此,有必要研发高效、环保的复合碳酸盐矿化菌剂或者在土著微生物中筛选矿化能力强的微生物菌种。

### 参考文献 (References):

- [1] 环境保护部,国土资源部.全国土壤污染状况调查公报[R].北京:环境保护部,2014:1.
- [2] 高峰.耕地重金属污染修复之困[J].中国土地,2014(2):14-15. GAO Feng. Dilemma of heavy metal pollution in cultivated land[J]. Chinese Land, 2014(2):14-15.
- [3] 串丽敏,赵同科,郑怀国,等.土壤重金属污染修复技术研究进展[J].环境科学与技术,2014(S2):213-222. CHUAN Limin, ZHAO Tongke, ZHENG Huaiguo, et al. Research advances on remediation of heavy metal in contaminated soils[J]. Environmental Science & Technology (China), 2014(S2):213-222.
- [4] 殷飞,王海娟,李燕燕,等.不同钝化剂对重金属复合污染土壤的修复效应研究[J].农业环境科学学报,2015,34(3):438-448. YIN Fei, WANG Haijuan, LI Yanyan, et al. Remediation of multiple heavy metal in polluted soil using different immobilizing agents[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2015, 34(3):438-448.
- [5] 王冬柏,朱健,王平,等.环境材料原位固定修复土壤重金属污染研究进展[J].中国农学通报,2014(8):181-185. WANG Dongbai, ZHU Jian, WANG Ping, et al. A review in situ immobilization of heavy metals in contaminated soil using environmental materials[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014(8):181-185.
- [6] 黄益宗,郝晓伟,雷鸣,等.重金属污染土壤修复技术及其修复实践[J].农业环境科学学报,2013,32(3):409-417. HUANG Yizong, HAO Xiaowei, LEI Ming, et al. The remediation technology and remediation practice of heavy metals-contaminated soil[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2013, 32(3):409-417.
- [7] 吴志能,谢苗苗,王莹莹.我国复合污染土壤修复研究进展[J].农业环境科学学报,2016,35(12):2250-2259. WU Zhineng, XIE Miaomiao, WANG Yingying. Remediation of soils with combined pollution in China: a review[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2016, 35(12):2250-2259.
- [8] LOWENSTAM H A, WEINER S. On biomineralization[M]. Oxford, England: Oxford University Press, 1989.
- [9] DEJONG J T, FRITZGES M B, NÜSSLEIN K. Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear[J]. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, 2006, 132(11):1381-1392.
- [10] MUYNCK W D, BELIE N D, VERSTRAETE W. Microbial carbonate precipitation in construction materials: a review[J]. Ecological Engineering, 2010, 36(2):118-136.

- [11] 江寿平.酶和底物分子之间相互作用力对扩散控制反应速率的影响[J].中国科学,1977(4):329-338.
- [12] 吕婧,蒋勇军,俞庆森,等.洋刀豆脲酶与抑制剂相互作用的分子对接和分子动力学研究[J].化学学报,2011,69(20):2427-2433.  
LÜ Jing,JIANG Yongjun,YU Qingsen, *et al.* Molecular docking and molecular dynamics simulations of inhibitors binding to jack bean urease[J].Acta Chimica Sinica,2011,69(20):2427-2433.
- [13] 林海.环境工程微生物学[M].北京:冶金工业出版社,2014:55-131.
- [14] 钱春香,王瑞兴,詹其伟.微生物矿化的工程应用基础[M].北京:科学出版社,2015.
- [15] STOCKS-FISCHER S, GALINAT J K, BANG S S. Microbiological precipitation of  $\text{CaCO}_3$  [J]. Soil Biology & Biochemistry, 1999, 31(11):1563-1571.
- [16] DEJONG J T, MORTENSEN B M, MARTINEZ B C, *et al.* Bio-mediated soil improvement [J]. Ecological Engineering, 2010, 36(2):197-210.
- [17] 贾蓉芬,高梅影,彭先芝,等.微生物矿化[M].北京:科学出版社,2009.
- [18] BUNDY K J. Determination of mineral-organic bonding effectiveness in bone-theoretical considerations [J]. Annals of Biomedical Engineering, 1985, 13(2):119-135.
- [19] BARTHELAT F, RIM J, ESPINOSA H D. A Review on the structure and mechanical properties of mollusk shells-perspectives on synthetic biomimetic materials [M]// BHUSHAN B, FUCHS H. Applied scanning probe methods XIII, biomimetics and industrial applications. Berlin: Springer, 2009: 17-44.
- [20] 崔福斋.生物矿化[M].2版.北京:清华大学出版社,2012.
- [21] AND K N, CHUJO Y. Control of crystal nucleation and growth of calcium carbonate by synthetic substrates [J]. Chemistry of Materials, 2001, 13(10):3245-3259.
- [22] SMITH B L, SCHAFFER T E, VIANI M, *et al.* Molecular mechanistic origin of the toughness of natural adhesives, fibres and composites[J].Nature, 1999, 399(673):761-763.
- [23] ACHAL V, PAN Xiangliang, ZHANG Daoyong. Remediation of copper-contaminated soil by *Kocuria flava* CR1, based on microbially induced calcite precipitation [J]. Ecological Engineering, 2011, 37(10):1601-1605.
- [24] 许燕波,钱春香,陆兆文.微生物矿化修复重金属污染土壤[J].环境工程学报,2013,7(7):2763-2768.  
XU Yanbo, QIAN Chunxiang, LU Zhaowen. Remediation of heavy metal contaminated soils by bacteria biomineralization[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2013, 7(7):2763-2768.
- [25] KANG C H, SHIN Y J, ANBU P, *et al.* Biosequestration of copper by bacteria isolated from an abandoned mine by using microbially induced calcite precipitation [J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 2016, 62(4):206-212.
- [26] ACHAL V, PAN Xiangliang, ZHANG Daoyong, *et al.* Bioremediation of Pb-contaminated soil based on microbially induced calcite precipitation [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 22(2):244-247.
- [27] KANG C H, OH S J, SHIN Y J, *et al.* Bioremediation of lead by ureolytic bacteria isolated from soil at abandoned metal mines in South Korea[J]. Ecological Engineering, 2015, 74:402-407.
- [28] LI Meng, CHENG Xiaohui, GUO Hongxian. Heavy metal removal by biomineralization of urease producing bacteria isolated from soil [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 76(1):81-85.
- [29] 王新花,赵晨曦,潘响亮.基于微生物诱导碳酸钙沉淀(MICP)的铅污染生物修复[J].地球与环境,2015,43(1):80-85.  
WANG Xinhua, ZHAO Chenxi, PAN Xiangliang, *et al.* Bioremediation of Pb based on bacterially induced calcium carbonate precipitation [J]. Earth and Environment, 2015, 43(1):80-85.
- [30] 成艳,赵兴青.碳酸盐矿化菌固结  $\text{Pb}^{2+}$  的生物矿化[J].环境科学研究,2016,29(10):1513-1520.  
CHENG Yan, ZHAO Xingqing. Study on the consolidation and mineralization of  $\text{Pb}^{2+}$  by carbonate-mineralization bacteria [J]. Research of Environmental Sciences, 2016, 29(10):1513-1520.
- [31] KUMARI D, PAN Xiangliang, LEE D J, *et al.* Immobilization of cadmium in soil by microbially induced carbonate precipitation with *Exiguobacterium undae* at low temperature [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 94:98-102.
- [32] KANG C H, HAN S H, SHIN Y J, *et al.* Bioremediation of Cd by microbially induced calcite precipitation [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 172(6):2907-2915.
- [33] ZHAO Yue, YAO Jun, YUAN Zhimin, *et al.* Bioremediation of Cd by strain GZ-22 isolated from mine soil based on biosorption and microbially induced carbonate precipitation [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(1):372-380.
- [34] ACHAL V, PAN Xiangliang, LEE D J, *et al.* Remediation of Cr(VI) from chromium slag by biocementation [J]. Chemosphere, 2013, 93(7):1352-1358.
- [35] KUMARI D, LI Mengmeng, PAN Xiangliang, *et al.* Effect of bacterial treatment on Cr(VI) remediation from soil and subsequent plantation of *Pisum sativum* [J]. Ecological Engineering, 2014, 73:404-408.
- [36] ACHAL V, PAN Xiangliang, FU Qinglong, *et al.* Biomineralization based remediation of As(III) contaminated soil by *Sporosarcina ginsengisoli* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 201(1):178-184.
- [37] ACHAL V, PAN Xiangliang, ZHANG Daoyong. Bioremediation of strontium (Sr) contaminated aquifer quartz sand based on carbonate precipitation induced by Sr resistant *Halomonas* sp. [J]. Chemosphere, 2012, 89(6):764-768.
- [38] WARREN L A, MAURICE P A, PARMAR N, *et al.* Microbially mediated calcium carbonate precipitation: implications for interpreting calcite precipitation and for solid-phase capture of inorganic contaminants [J]. Geomicrobiology Journal, 2001, 18(1):93-115.
- [39] LAUCHNOR E G, SCHULTZ L N, BUGNI S, *et al.* Bacterially induced calcium carbonate precipitation and strontium coprecipitation in a porous media flow system [J]. Environmental

- Science & Technology, 2013, 47(3):1557-1564.
- [40] KANG C H, CHOI J H, NOH J G, *et al.* Microbially induced calcite precipitation-based sequestration of strontium by *Sporosarcina pasteurii* WJ-2[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 174(7):2482-2491.
- [41] ANDREAZZA R, PIENIZ S, OKEKE B C, *et al.* Evaluation of copper resistant bacteria from vineyard soils and mining waste for copper biosorption[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2011, 42(1):66-74.
- [42] GOVARTHANAN M, LEE K J, CHO M, *et al.* Significance of autochthonous *Bacillus* sp.KK1 on biomineralization of lead in mine tailings[J]. Chemosphere, 2013, 90(8):2267-2272.
- [43] NAIK M M, DIBEY S K. Lead resistant bacteria; lead resistance mechanisms, their applications in lead bioremediation and biomonitoring[J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2013, 98(12):1-7.
- [44] 郑晓冬. 小龙虾虾壳及其仿生成物对污水中重金属的吸附特性与机理研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [45] OK Y S, LIM J E, MOON D H. Stabilization of Pb and Cd contaminated soils and soil quality improvements using waste oyster shells[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2011, 33(1):83-91.
- [46] 石玉敏, 王彤. 铬渣解毒处理处置技术综述[J]. 化工环保, 2008, 28(6):471-477.
- SHI Yumin, WANG Tong. Review of treatment and disposal technologies for chromium residue[J]. Environmental Protection of Chemical Industry, 2008, 28(6):471-477.
- [47] 金立方, 袁翊朦, 胡祎瑞, 等. 六价铬的细胞毒理效应及其机制研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2013, 35(3):387-392.
- JIN Lifang, YUAN Yimeng, HU Yirui, *et al.* Research progress in cytotoxicity and mechanism of hexavalent chromium[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2013, 35(3):387-392.
- [48] SANCHEZ-PASTOR N, GIGLER A M, CRUZ J A, *et al.* Growth of calcium carbonate in the presence of Cr(VI)[J]. Crystal Growth & Design, 2011, 11(7):3081-3089.
- [49] TANG Yuanzhi, ELZINGA E J, LEE Y J, *et al.* Coprecipitation of chromate with calcite: batch experiments and X-ray absorption spectroscopy[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2007, 71(6):1480-1493.
- [50] MA Zemin, ZHU Wenjie, LONG Huaizhong, *et al.* Chromate reduction by resting cells of *Achromobacter* sp. Ch-1 under aerobic conditions[J]. Process Biochemistry, 2007, 42(6):1028-1032.
- [51] PATTANAPIPITPAISAL P, BROWN N, MACASKIE L. Chromate reduction and 16S rRNA identification of bacteria isolated from a Cr(VI)-contaminated site[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001, 57(1):257-261.
- [52] SHEN Hai, WANG Yitin. Characterization of enzymatic reduction of hexavalent chromium by *Escherichia coli* ATCC 33456[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(11):3771-3777.
- [53] CHAI Liyuan, HUANG Shunhong, YANG Zhihui, *et al.* Cr(VI) remediation by indigenous bacteria in soils contaminated by chromium-containing slag[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 167(1/2/3):516-522.
- [54] JUILLOT F, ILDEFONSE P, MORIN G, *et al.* Remobilization of arsenic from buried wastes at an industrial site: mineralogical and geochemical control[J]. Applied Geochemistry, 1999, 14(8):1031-1048.
- [55] BENEDETTO F D, COSTAGLIOLA P, BENVENUTI M, *et al.* Arsenic incorporation in natural calcite lattice: evidence from electron spin echo spectroscopy[J]. Earth and Planetary Science Letters, 2006, 246(3):458-465.
- [56] KELLY S D, NEWVILLE M G, CHENG L, *et al.* Uranyl incorporation in natural calcite[J]. Environmental Science & Technology, 2003, 37(7):1284-1287.
- [57] 雷佳, 蒋伟言, 邱天力, 等. 碳酸盐矿化细菌产生碳酸钙胶结—固化铀尾矿渣研究[J]. 金属矿山, 2016, 45(8):174-179.
- LEI Jia, JIANG Weiyang, QIU Tianli, *et al.* Study on cementing-solidification uranium tail slag by CaCO<sub>3</sub> produced by carbonate mineralization bacteria[J]. Metal Mine, 2016, 45(8):174-179.
- [58] GORMAN-LEWIS D, ELIAS P E, FEIN J B. Adsorption of aqueous uranyl complexes onto *Bacillus subtilis* cells[J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(13):4906-4912.
- [59] FUJITA Y, REDDEN G D, INGRAM J C, *et al.* Strontium incorporation into calcite generated by bacterial ureolysis[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2004, 68(15):3261-3270.
- [60] 国家环境保护总局. GB 15618—1995 土壤环境质量标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1995.
- [61] 环境保护部. GB 15618—2015 农用地土壤环境质量标准(三次征求意见稿)[EB/OL]. 北京: 环境保护部, 2016[2016-03-10]. [http://www.mep.gov.cn/gkml/hbb/bgth/201603/t20160315\\_332881.htm](http://www.mep.gov.cn/gkml/hbb/bgth/201603/t20160315_332881.htm).
- [62] GAT D, RONEN Z, TSESARSKY M. Long-term sustainability of microbial-induced CaCO<sub>3</sub> precipitation in aqueous media[J]. Chemosphere, 2017, 184:524-531.

(责任编辑:周巧富)