

微生物-矿物相互作用及界面显微分析研究进展

王蕾 夏金兰* 朱泓睿 刘红昌 聂珍媛 刘李柱

(中南大学资源加工与生物工程学院 生物冶金教育部重点实验室 湖南 长沙 410083)

摘要: 微生物-矿物界面的相互作用贯穿整个生物浸矿过程, 在矿物生物浸出中至关重要, 受到微生物的代谢特征、矿物表面结构和物质形态及环境条件的多重交叉影响。研究微生物-矿物界面的相互作用相关的微生物选择性吸附、矿物表面元素形态转化和钝化层、微生物铁硫氧化活性和微生物群落以及胞外物质的组成和性质等的演化, 有利于了解微生物-矿物界面作用机制及其关键影响因素和影响机制, 从而为优化浸出工艺提供科学的理论依据。达到这些目的, 界面的(原位)显微分析手段和技术的进步也至关重要。本文对近些年来上述两方面的研究进行了综述。

关键词: 微生物-矿物, 形态转化, 胞外多聚物, 氧化活性, 界面作用

Progress on research of microbe-mineral interaction and interfacial micro-analysis

WANG Lei XIA Jin-Lan* ZHU Hong-Rui LIU Hong-Chang
NIE Zhen-Yuan LIU Li-Zhu

(Key Laboratory of Biometallurgy of Ministry of Education of China, School of Resources Processing and Bioengineering, Central South University, Changsha, Hunan 410083, China)

Abstract: Microbe-mineral interfacial interaction plays an important role in bioleaching process. It could be affected by the multi-influential factors among the metabolic characteristic of the microbes, state of the mineral surface structure, chemical speciation and the environmental factors. Researches on selective adsorption of microbes, conversion in mineral surface chemical speciation and passivation layer structure, microbial community and iron/sulfur oxidizing activities, and the composition and properties of extracellular polymer substance can help us to better understand the microbe-mineral interaction mechanism accompanying with its key influential factors and influential mechanism. This researches can also provide scientific base for optimization of the

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 51274257); The Joint Funds of National Natural Science Foundation of China and Large Scientific Facility Foundation of Chinese Academy of Sciences (No. U1232103); The Joint Funds of National Natural Science Foundation of China and Liaoning Science Foundation (No. U1608254)

***Corresponding author:** Tel: 86-731-88836944; E-mail: jlxia@csu.edu.cn

Received: July 12, 2016; **Accepted:** December 27, 2016; **Published online** (www.cnki.net): December 28, 2016

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 51274257); 国家自然科学基金-大科学装置联合基金项目(No. U1232103); 国家自然科学基金-辽宁联合基金项目(No. U1608254)

***通讯作者:** Tel: 86-731-88836944; E-mail: jlxia@csu.edu.cn

收稿日期: 2016-07-12; **接受日期:** 2016-12-27; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-12-28

bioleaching techniques. In order to achieve these purposes, the progress in methodology and techniques for *in situ* (micro) analysis of the interfacial interaction is also pivotal. In this article, we reviewed the progresses on research of microbe-mineral interaction and interfacial micro-analysis in the recent years.

Keywords: Microbe-mineral interaction, Speciation transformation, Extracellular polymeric substance, Oxidation activity, Interfacial interaction

微生物浸矿指的是利用细菌的生命活动,通过与矿物的选择性吸附、生物氧化等作用,使以硫化矿为主的矿物中的金属溶出。微生物浸矿在处理复杂低品位难处理矿物资源中具有优势^[1]。

微生物浸出体系涉及微生物-矿物、矿物-矿物、微生物-溶液-矿物等多相界面作用^[2],其中微生物-矿物之间的界面作用是细菌浸出过程的主要过程,它与矿物表面的理化性质,矿物的结构组成以及裸露的外表面形貌和微生物种类等因素密切相关。浸出过程中微生物的铁硫氧化活性,矿物元素的形态转换和中间产物是促进或抑制矿物溶出的直接因素^[3],同时涉及整个生物浸出界面过程。针对微生物-矿物相互作用为主的界面反应,通过对产物种类、形态、分布以及微生物的选择性吸附等因素,结合显微分析手段进行过程性研究,有利于从微观角度阐释其对浸出的影响机制,为工业生物浸出及优化工艺流程,提高浸出效率提供理论依据,近年来受到生物冶金研究人员的广泛关注。

1 微生物的选择性吸附

微生物通过复杂的生物-矿物-溶液多相界面实现能量、电子和物质的相互转换,从而对所处环境产生影响。在生物浮选和生物絮凝过程中,其关键就是矿物和微生物间的响应机制,其本质是微生物和矿物表面理化性质的相互影响,其中主要的理化性质包括矿物的原子和电子结构、表面电位、酸碱性以及表面的亲疏水性。微生物通过对矿物能源底物的氧化和利用获得能量。所有微生物浸出过程的共同点是细菌需要接近并吸附于矿物表面,进而在矿物-微生物-溶液的多相界面进行反应^[2]。

微生物吸附是生物浸出的先决条件。细菌在矿物表面的吸附作用是一个复杂的过程,涉及到细菌

和矿物种类的双向选择,常常与矿物的晶体缺陷和晶型晶界相关。Tan 等^[4]研究了 *Acidithiobacillus ferrooxidans* 对高纯度的黄铜矿(CuFeS_2)、黄铁矿(FeS_2)、斑铜矿(Cu_5FeS_4)、混合矿以及石英的吸附行为,发现微生物的最大吸附平衡量会由于 *A. ferrooxidans* 的最适生长条件和硫化矿本身的原因发生变化。pH 为 2.0 左右的酸性条件下, *A. ferrooxidans* 在黄铜矿表面的吸附量要明显高于 pH 为 5.6 的溶液,这是由细菌的嗜酸性决定的。此外,随着细菌浓度的增加,细菌的吸附量逐渐增加并最终达到平衡。*A. ferrooxidans* 在硫化矿表面的吸附作用是有选择性的,研究发现 *A. ferrooxidans* 对石英的吸附量($1.4 \times 10^{10} - 2.4 \times 10^{10}$ cells/ m^2)低于对硫化矿的吸附量($1.8 \times 10^{10} - 4.2 \times 10^{10}$ cells/ m^2)。另外,对不同表面晶型的矿物,细菌主要作用于晶格缺陷处,并在矿物表面形成腐蚀坑,同时分泌大量的胞外物质并形成生物膜^[5-7]。当底物无法再作为细菌细胞的能源物质时,微生物对硫化矿物表面的趋向性现象(比如晶格位错和边缘晶界)就会消失。但在低品位矿物当中,微生物的吸附趋向于但不仅仅限于含有硫化物的矿物表面^[8]。这意味着细菌根据自身所需要的氧化能量,对其他类型的矿物同样会有吸附,但是会根据细菌的 Fe、S 氧化性能进行选择性的吸附。

研究表明微生物生长的能源底物与细菌的表面性质对细菌在黄铁矿的吸附行为有着直接影响。与在溶液中培养的细菌不同,固相能源底物下生长的细菌与黄铁矿有更好的亲和力^[9]。在黄铁矿的初始浸出过程中, *A. ferrooxidans* 和 *Acidithiobacillus thiooxidans* 的混合菌较 *A. ferrooxidans* 的单一菌展现出了更好的吸附能力。Zhu 等^[10]对于混合高温菌在黄铜矿表面群落演替的研究表明, *Sulfolobus*

metallicus 对环境变化最敏感, *Acidianus brierleyi* 有很好的适应性和硫的氧化能力, 并在浸出体系中占主导地位。同时, 黄铁矿颗粒的纯度与其溶解速率没有直接的关系, 高纯度矿物并不能导致更高的浸出率。另外, 在多种矿物共存的体系中, 生物浸出可能受到矿物间的原电池效应而得到加强。

按照 Chen 等^[11]的观点, 细菌的代谢作用会大大影响部分区域的吸附特征从而导致局部区域的表面理化性质改变。 *A. ferrooxidans* 和 *Acidithiobacillus caldus* 菌的吸附平衡时间分别为 30 min 和 60 min。 *A. ferrooxidans* 在黄铜矿表面的吸附要快于 *A. caldus*, 并且在同样的初始浓度下(1×10^8 cells/mL), *A. ferrooxidans* 的吸附量要大于 *A. caldus*。矿物表面离子非均匀性溶出导致黄铜矿的动电位在 *A. ferrooxidans* 和 *A. caldus* 氧化作用后明显降低, 这种初级阶段的直接生物氧化过程是生物浸矿的主要行为。由于黄铜矿表面单质硫和铜硫化物的生成, 其表面的接触角和疏水性在初始浸出阶段即降低。

Africa 等^[12]模拟了工业上微生物堆浸行为, 发现 *A. ferrooxidans* 和 *Leptospirillum ferriphilum* 有相似的矿物接触特征, 相对于脉石矿物石英而言, 细菌对硫化矿有明显的选择性吸附作用, 并且在硫化矿能源中培养的细菌比亚铁培养下的细菌对硫化矿有更强的接触吸附能力。Dong 等^[13]对 5 种不同的含铜硫化矿进行了试验, 发现在 *A. ferrooxidans* 菌浸出体系下, 浸出率和细菌的吸附能力遵循如下规律: 久辉铜矿($\text{Cu}_{1.93}\text{S}$)>斑铜矿>黄铁矿型黄铜矿>辉铜矿(Cu_2S)>斑岩黄铜矿。此外, 浸矿微生物在矿物表面的吸附分布也是不均匀的(与晶格排布有关)。

另外, 也有利用价电子层理论解释微生物在不同矿物上的选择性吸附。例如 *Mycobacterium phlei* 在黄铁矿表面的吸附量远远大于闪锌矿, 其原因是 Fe、Zn、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 的电子层排布分别为 $3d^6 4s^2$ 、 $3d^{10} 4s^2$ 、 $3d^6 4s^0$ 、 $3d^5 4s^0$ 、 $3d^{10} 4s^0$ 、 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 的空轨数量要大于 Zn^{2+} , 当微生物与矿物表面发生相互化学作用时, Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 接收微生物表面 O、N、P 基团提供的孤对电子的能力要强于 Zn^{2+} ^[14]。

2 矿物表面元素形态及钝化层

微生物和矿物的界面作用中, 矿物和浸矿微生物之间是双向选择的, 微生物的选择性吸附是生物浸出的先决条件。同时, 矿物表面元素形态及钝化层对浸出也起着重要的作用。

Fantauzzi 等^[15]在生物浮选浸出砷黄铁矿和黄铁矿的过程中利用 X 射线光电子能谱(XPS)发现, 在矿物残渣的表面检测到了单质硫(S^0)和铁氢氧化物以及黄钾铁矾 $[\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6]$ 等次生产物, 胞外多聚物(Extracellular polymeric substances, EPS)在细胞与矿物表面形成的生物膜为矿物溶解和细胞能量代谢之间提供了反应场所。黄铁矿氧化过程中, 元素硫(S)的转变过程是: $\text{FeS}_2 \rightarrow \text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{S}_4\text{O}_6^{2-} \rightarrow \text{S}_8$, 而铁氢氧化物和黄钾铁矾等二次产物似乎对矿物的溶解并没有抑制作用。Lee 等^[16]利用中温菌和高温菌对不同组成的硫化矿物进行了浸出试验, 发现在 *Acidithiobacillus* 和 *Leptospirillum* 混合菌对硫砷铜矿和铜蓝(CuS)富存型矿物的作用下, Cu 的回收率分别仅有 7.3%和 27.1%。而在高温菌 *Acidianus*、*Metallosphaera* 和 *Sulfolobus* 的混合作用下, 辉铜矿富存型矿物有 50%–90%的较高收率。此外, 中温菌浸出次生的辉铜矿具有较高的 Cu 回收率, 但是对硫砷铜矿和铜蓝浸出作用较弱。

国内, 夏金兰课题组采用硫的 K 边 X 射线吸收近边精细结构光谱(XANES)、X 射线衍射(XRD)和拉曼光谱(Raman spectroscopy)等分析嗜热菌浸出黄铜矿过程中矿物表面硫形态转化时发现, 黄钾铁矾是矿物表面的主要成分, 它在黄铜矿表面的累积导致了黄铜矿溶解的钝化^[7,17-19]。而易于浸出溶解的矿物如辉铜矿和铜蓝等物质能够加速铜的浸出, 提高浸出效率, 但是浸出过程中钝化层黄钾铁矾的形成是阻碍溶解速率的主要原因^[20]。在 *A. ferrooxidans* 对黄铜矿的浸出实验中发现, 随着浸出时间的增加, 在黄铜矿的表面检测到了黄钾铁矾、辉铜矿、铜蓝等物质的产生, 同样的黄钾铁矾钝化层的产生阻碍了黄铜矿的浸出过程^[21]。Xia 等^[7]研究 *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* 菌对黄铜矿的浸出行为时发

现,在一定的氧化还原电势下,黄铜矿会发生溶解,此外,XRD和XANES结果表明在浸出矿物的表面有辉铜矿和黄钾铁矾的生成,这也可能是黄铜矿分步溶解所造成的。Liang等^[22]针对微生物浸矿过程中中间产物的生成问题,利用电化学手段简化模拟了65℃酸性条件下的浸出环境。通过循环伏安和恒电位还原腐蚀,借助S K边、Fe L₃边和Cu L₃ XAENS结果得出,黄铜矿在-0.1 V到0.1 V之间转化为斑铜矿,在-0.56 V到-0.10 V之间斑铜矿进一步转化为辉铜矿,而在电势低于-0.56 V的时候,最终会产生单质铜。而Liu等^[23]在其研究过程中也检测到了铜蓝,这可能是由于菌的不同的铁硫氧化活性以及不同浸出温度导致了次生产物的不同。Zhu等^[18]对黄铜矿浸出过程的研究发现,随黄钾铁矾钝化层的生成,黄铜矿的浸出过程受到抑制。但S⁰的产生不会影响浸出行为,并且其可能是铜蓝和辉铜矿生成的来源之一。Yang等^[19]针对嗜中温菌和中度嗜热菌进行了黄铜矿的浸出试验,在浸出初期,Fe元素大量溶出促使CuS_x类型产物的生成,而在浸出后期,CuS_x中的Cu溶出。由于微生物对剩余的S_n型物质的低氧化性,导致CuS_x以及溶解速率的减缓。此外,嗜中温菌的Fe K边XANES结果并未发现有明显的黄钾铁矾生成,这与中度嗜热菌的浸出产物是不同的。

Zeng等^[24]利用电化学手段对黄铜矿的溶出行为进行了研究,发现黄铜矿在氧化过程中仅产生铜蓝,但是在Cu²⁺和单质硫的还原过程会产生Cu_xS(1<x<2)和辉铜矿。并且外加Cu²⁺会明显影响Cu-S中间产物的形成。氧化还原电势的改变影响了矿物的溶出过程,在微生物浸出的过程中,电子的转移传递效率影响矿物-微生物之间的相互作用,从而导致了表面的非均一性溶出。Khoshkhoo等^[25]在无菌体系中通过化学/电化学手段模拟中度嗜热菌浸出黄铜矿的过程,对浸出过程中的“钝化层”有了新的阐释。无菌体系中黄钾铁矾和单质硫的存在没有阻碍黄铜矿的溶出行为,XPS结果分析表明,在有菌和无菌体系下分别检测到了单质硫和铁氢氧化物的生成。而黄钾铁矾仅在无菌体系中的单个样品中检测到,并且发现其

与黄铜矿的钝化没有相关性。Xia等^[6]利用电化学手段人为地获得不同形态的黄铜矿表面的细菌吸附结果表明,缺铁缺硫的矿物表面不利于细菌的吸附,但随着硫铁元素的增加,细菌吸附量增加。

另外,环境条件对矿物表面元素形态及钝化层的形成也具有一定的影响。Liang等^[26]研究发现化学浸出过程中,初始pH越高,黄铜矿越不易溶解,而在生物浸出中,初始pH越低,黄铜矿越不易溶解。Gu等^[27]研究黄铜矿溶解的钝化机制发现,在中度嗜热菌*L. ferriphilum*浸出黄铜矿的周期中,初始的低电位下浸出速率较快,并且有辉铜矿生成,但是高电位时,浸出受到抑制,并未检测到相关的还原产物。Liu等^[28]对恒定pH条件下的黄铜矿浸出研究表明,在较低的恒定pH下S⁰的积累会减缓黄铜矿的溶解,而在较高的pH和电位下的黄钾铁矾沉淀条件下却不能阻碍黄铜矿溶解。研究者认为,浸出后期形成的黄钾铁矾是疏松多孔的,并非是造成钝化的主要原因。Liang等^[29]发现,添加氯化钠到黄铜矿的生物浸出体系可以加速黄铜矿的溶解,其加速原因主要是由于矿物表面形成疏松多孔的元素硫层,更有利于菌对其的有效消解。Wang等^[30]发现,高氧化还原电位可以导致黄铜矿的钝化。

Yang等^[31]利用XAENS、XRD以及Raman等手段对不同温度下微生物对黄铜矿的浸出行为的研究发现,高比例的Fe²⁺/Fe³⁺导致低电位的环境,促使黄铜矿溶出速率加快。但是单质硫和黄钾铁矾这两种中间产物似乎均不是导致钝化的主要因素。但在低电位条件下,黄铜矿的直接氧化产生了类似铜蓝的物质。近几年对黄铜矿溶出过程的钝化原因以及产物研究取得了新的进展,包括对硫化矿物表面铜/铁/硫形态的表征,以及S⁰、胞外巯基(-SH)和铁的利用及作用。然而,对硫氧化微生物和硫化矿物之间的界面作用机理需要更多的研究^[25,27,31-32]。

3 硫氧化行为及微生物群落

元素硫作为硫化矿的主要成分,其在相关硫化物形成过程中的氧化行为是了解生物氧化机制的关键,这一观点已经被越来越多的研究人员所接受。

S_8 在 *A. ferrooxidans* 的氧化作用下转化为聚合硫,同时,硫的同素异形体或晶体结构影响微生物的硫氧化过程^[33]。Nie 等^[34]在研究 *S. thermosulfidooxidans* 菌对 μ -S 和 α -S 的氧化行为时发现 μ -S 培养下的菌液有更低的 pH 和更高的细菌浓度。在生物腐蚀之后, μ -S 表面呈多孔状,而 α -S 表面则较为光滑。 μ -S 在微生物氧化之后同样向 α -S 形态发生转化。单质硫是硫化矿浸出过程中主要的中间产物,若不能高效的氧化,它在矿物表面形成的硫层会阻碍细胞和矿物表面之间的相互作用。Liu 等^[35]研究了嗜热古菌 *A. manzaensis* 对单质硫的氧化行为,用 μ -S 和 α -S 培养的细菌的生长情况和氧化行为有明显区别。 μ -S 培养下的细菌生长更快,产生更多的硫酸。*A. manzaensis* 对两种不同形态的 S 均有利用,但是 μ -S 在作用之后会转化为 α -S,反之则没有类似的现象出现。这与 Nie 等的研究有类似结果。另外,Liu 等^[36]针对 *A. ferrooxidans* 对两种不同形态硫的作用发现,随着细菌的生长, μ -S 表面转变成了 63.1%的 μ -S 和 36.9%的 α -S, α -S 转变成 68.3%的 α -S 和 31.7%的 μ -S,而在无菌条件下, α -S 和 μ -S 表面未发生变化,表明这两种元素硫在 *A. ferrooxidans* 作用下可以相互转化。以上针对不同形态 S 的生物氧化行为研究结果表明,细菌对 S 型能源底物的利用有着相似性,但是由于具体形态和结构的不同,其氧化行为也有一定区别,元素 S 的同素异形体或者晶体结构通过硫氧化机制会影响 S 的氧化过程,并且不同的硫形态之间存在着相互转化。Peng 等^[37]在对 *A. ferrooxidans* 氧化利用 μ -S 和 α -S 的比较研究也发现,细胞在 μ -S 中生长较快,表现硫氧化活性较高。进一步的硫代谢相关基因表达差异研究表明,细胞疏水性底物转运蛋白和硫代谢相关蛋白表达上调,而硫吸附和活化相关蛋白表达下调,这些结果阐明了细胞对 μ -S 具有较高的生物适应性和活化能力。

目前,通过对典型浸出微生物,包括 *A. ferrooxidans*、*S. thermosulfidooxidans*、*A. manzaensis* 等在亚铁和元素硫基质中生长的细胞表面巯基量

的比较发现^[38-39],在元素硫中的表面巯基数量是亚铁中的 2-4 倍。另一方面在亚铁生长的细胞表面具有明显的键合亚铁和高铁,而在硫中生长的细胞则未检测到^[40]。这些结果为间接作用机理和界面铁/硫氧化机理的阐明提供了实验依据,同时也表明虽然不同的浸出微生物铁硫氧化行为有别,但界面作用的铁/硫氧化分子机理可能是相同的。

Romo 等^[41]针对主要组成为 $CuFeS_2$ 的硫化矿浸出的研究结果表明,*A. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans* 混合菌具有最好的浸出效果,相对于单一菌种而言,混合菌可能有着一定的协同作用,加快了黄铜矿的溶解。Lara 等^[42]研究了 *A. thiooxidans* 浸出黄铁矿过程中硫相关产物的形成,发现矿物表面 S_n^{2-}/S_0 物种的演变及其比例与矿物-微生物界面生物膜的形成有很重要的关联,在浸出液中维持较高的氧化氛围使得硫化矿表面生成活性更高的硫类物种,从而生物膜的形成以及由 S_n^{2-}/S_0 生物氧化致使的矿物溶解过程将得到加速。Wang 等^[30]对生物浸出中黄铜矿溶解和钝化机理的研究表明,在 *L. ferriphilum* 浸出时,初始阶段氧化还原电位(相对于 $Ag/AgCl$ 电极, vs. $Ag/AgCl$)低于 350 mV,黄铜矿主要氧化为金属缺失型多聚硫化物。在中间阶段,氧化还原电位在 350-480 mV vs. $Ag/AgCl$,黄铜矿与 Cu^{2+} 反应转化为可迅速被氧化的 Cu_2S ,从而导致铜的高效率浸出。在后期,氧化还原电位高于 480 mV vs. $Ag/AgCl$,黄铜矿主要直接氧化为硫,导致黄铜矿最终钝化。García-Meza 等^[43]对 *A. thiooxidans* 浸出黄铜矿过程中生物膜结构的转变展开研究,随着细胞与矿物表面接触,EPS 的组分(脂质,蛋白质,多糖)也逐渐改变。生物浸出 120 h 时,在矿物表面发生了 S_n^{2-}/S_0 周期性的氧化还原,直至稳定的 CuS 形成。在微生物浸出过程中,矿物表面新物种的产生,EPS 的亲疏水性,以及生物膜的结构和成分组成相互影响。这些研究结果或许可以为解释矿物-细胞界面作用与硫化矿溶解加速或抑制之间关系提供依据。

Zhu 等^[18,44]通过细胞浓度、pH 值、硫酸根离子

浓度等参数比较了 4 种嗜热古菌(*A. brierleyi*、*M. sedula*、*A. manzaensis* 和 *S. metallicus*)的硫氧化行为,发现 4 种浸矿菌混合的条件下,浸出速率显著加快,具有较高的硫氧化能力。Zhu 等^[10]进一步通过群落结构演变与浸出速率的关系研究发现,浸出温度和起始 pH 均对群落结构、浸出作用和浸出率产生了重要影响,其中温度影响更甚。在群落中,*S. metallicus* 对环境条件最敏感,而 *A. brierleyi* 展示出最好的适应性和硫氧化性能。同时,通过各株菌的硫氧化相关 *SoxB* 基因的表达水平的变化可以很好地阐明黄铜矿的浸出速率与群落功能间的紧密关系。

4 胞外多聚物(EPS)

胞外多聚物(EPS)是指附着在细菌表面或围绕在细菌周围用于自我保护和相互粘附的有机物。EPS 在生物膜的形成、生物膜传质、不同的金属和有机/无机化合物在生物膜的吸附中有重要的作用^[45-46]。

微生物浸出矿物的过程是微生物与矿物间的界面相互作用过程,在初始过程中生物膜的形成是重要, Li 等^[47]通过对 *S. thermosulfidooxidans* 在黄铁矿表面生物膜的形成及表征认为,可以通过改变条件,在黄铁矿表面形成多层生物膜,同时,结果也表明生物膜在黄铁矿生物浸出的早期起着重要的作用。Solis 等^[48]认为矿物与微生物之间的相互作用除了与矿物表面的性质和微生物表面 EPS 以及生物膜的性质有关外,还与它们所处的微环境有关。Ha 等^[49]认为,胞外多聚物中的阴离子基团,如羧基、磷酸基、巯基、酚类和羟基等有与阳离子交换的可能性,所以可以与重金属离子结合。Liu 等^[39]通过对以 S^0 和 Fe^{2+} 为能源底物的细菌胞外多聚物中的巯基进行研究发现,以 S^0 为能源底物的 *S. thermosulfidooxidans* 和 *A. manzaensis* 菌胞外多聚物上的巯基数量高于以 Fe^{2+} 为能源底物的 *S. thermosulfidooxidans* 和 *A. manzaensis* 菌胞外多聚物上的巯基。这些结果表明,嗜酸硫氧化微生物胞外巯基有可能参与元素硫活化和氧化。而 Nie 等^[40]

进一步通过对细胞表面铁形态的研究发现,以铁为能源底物生长的细菌表面的铁含量高于以 S^0 为能源底物生长的细菌,而且同一细菌的 $Fe(II)/Fe(III)$ 的比例也与细菌生长的能源底物有关,同时铁也是均匀分布在细胞表面的,并与 EPS 上的氨基、羧基和羟基等键合。Bautista 等^[50]研究了在海水中假单胞菌 NCIMB 2021 分泌的胞外多聚物对 70Cu-30Ni 合金腐蚀行为的影响,认为松散的胞外多聚物(LB EPS)和紧密的胞外多聚物(TB EPS)的存在减缓了阳极反应,并且 LB EPS 可以抑制 70Cu-30Ni 合金的生物腐蚀。Pan 等^[51]也认为松散的胞外多聚物比紧密的胞外多聚物对金属离子有更高的键合特性。

此外,在金属的腐蚀中,由于电子隧道效应,电子可以从一个电子空穴迁移到另一个电子空穴。因此,EPS 中的糖醛酸铁(Fe^{3+})配合物也可能由于电子隧道效应,在硫化矿物表面接受电子而被还原成 Fe^{2+} ,使矿物表面失去电子而被氧化。与糖醛酸铁(Fe^{3+})配合物相比,糖醛酸铁(Fe^{2+})配合物不稳定, Fe^{2+} 除了以配合物形式通过类似的电子隧道效应被细菌胞外酶所氧化外,还可能以游离态在 EPS 层中迁移,并扩散至细胞外膜而被细菌的酶系统氧化^[52]。但我们在最近针对代表性嗜酸铁硫氧化菌细胞表面铁的赋存形态分析时,发现铁存在 $Fe(II)$ 和 $Fe(III)$ 两种形态,且以多羟基化合物的形式键合在 EPS 中。有关矿物-细胞界面的电子传递机制还需要进一步研究。

5 界面分析方法

矿物-微生物的界面作用的研究以及显微表征涉及到多种界面分析方法,并且这些界面分析方法对界面作用的研究起到非常重要的作用。常用的界面分析方法有 X 射线衍射、扫描电子显微镜-能量光谱、拉曼光谱、X 射线光电子能谱和同步辐射近边精细结构光谱等。

X 射线衍射(XRD)作为最常用的物质成分分析方法,可以定性分析样品中的物质组成,但由于同

组的元素具有相似的性质和晶体结构,造成在同一位置出现衍射峰,从而不能确定物相。另外由于浸矿渣中存在很多无定形或结晶不好的结构,很难检测出来。XRD 多用于对灵敏度要求不高的组分的检测。最近,基于同步辐射的 XRD,则在检测灵敏度方面有了较大提高。但是由于 XRD 只局限于晶型物质的检测,并不能辨析复杂样品中无定形的物质形态。

扫描电子显微镜-能量光谱(SEM-EDS),通过样品的二次电子发射能够提供包括形貌、成分、晶体表象结构等丰富信息。He 等^[17]在黄铜矿的浸出试验中观察到 *A. ferrooxidans* 菌作用 12 d 后,矿物表面形貌发生了明显的变化。Nkulu 等^[53]对比了硫铜钴矿在细菌作用不同时间后的矿物表面情况,发现了明显的细菌腐蚀痕迹和晶体缺陷。但是 SEM-EDS 只能分析区域内的元素组成,很难分析出物相,同时它的灵敏度不高,很难精确定量,需要结合其他分析方法一起使用。

拉曼光谱(Raman spectroscopy)可以快速、简单、重复、无损伤地进行定性定量分析,通过拉曼散射效应可以提供极化分子的振动能量水平和晶体的晶格模式方面的信息,并且能够清晰地区分具有同一化学组成的不同晶体结构及无定形的矿物,具有能够检测水溶液样品等优势。García-Meza 等^[54]利用拉曼光谱研究了细菌与矿物作用时,生物膜演变过程中 S_n^{2-}/S_0 的相互转化关系。Reddy 等^[55]通过拉曼光谱对典型硫化矿包括黄铜矿、黄铁矿等进行了定性分析。Liang 等^[26]也应用拉曼光谱对黄铜矿生物氧化和电化学氧化过程进行分析,发现了铜蓝和单质硫产物。Liu 等^[36]利用拉曼光谱表征了两种不同形态硫斜方晶系 α - S_8 和无定型 μ -S 之间的转化过程。近年来,着眼原位检测,拉曼光谱与其他多种微区分析测试仪器联用的技术,如:拉曼光谱与扫描电镜联用(Raman-SEM),拉曼光谱与红外光谱联用(Raman-IR);拉曼光谱与激光扫描共聚焦显微镜联用(Raman-CLSM)^[56-57]等。通过联用可以获得更多信息,提高可靠性。

X 射线光电子能谱(XPS)是用 X 射线辐射样品,使原子或分子的内层电子或价电子受激发射出来,测量光电子的能量,从而获得试样有关信息。它可以对固体样品的元素成分进行定性、定量或半定量分析,相比较其他分析手段,其最大的优势在于能够判定元素的价态以及高灵敏度。Khoshkhoo 等^[25]利用 XPS 对黄铜矿溶解过程中的多种中间产物进行了分析,对钝化层有了新的阐释。Liu 等^[58]也通过 XPS 与交流阻抗联用的方法研究了 *A. ferrooxidans* 有菌条件下和无菌体系中黄铁矿的氧化行为。虽然 XPS 被广泛用于表面物质的分析^[59-61],但是 XPS 光谱通常非常复杂,经常出现不同的劈裂峰和电子释放过程,阻碍了对样品的直接分析,更难定量,需要与其他分析方法联用^[62]。

同步辐射(Synchrotron radiation) X 射线吸收近边精细结构光谱(XANES)。同步辐射是带电粒子在电磁场的作用下沿弯转轨道行进时所发出的电磁辐射,到现今已经历了三代发展,具有高亮度、宽波段、窄脉冲、高准直、高偏振、高纯净、高稳定、高通量、微束径、准相干等优势。而 XANES 是在 X 射线吸收谱中,中心原子受激发的光电子被近邻原子多重散射主导的形状共振区(10–70 eV)的精细结构。由于 XANES 特征峰可以确定价态、测定配位电荷、提供包括轨道杂化、配位数和对称性等结构信息,因此其在鉴定化合物电子结构方面特别有效,已经被众多研究人员青睐用于物质表面信息的表征。研究表明 XANES 是一种理想的硫分子形态表征手段^[3,32,63-64]。夏金兰课题组利用铁和铜的 L_3 边以及硫的 K 边近边精细结构光谱有效鉴别了生物浸出黄铜矿过程中,铁铜硫三种元素的形态转化,提供了更丰富准确的元素形态转化信息^[18,20-23,35]。Nie 等^[40]也利用了同步辐射扫描透射软 X 射线显微镜表征了细胞表面铁的形态。Liu 等^[39]也利用了扫描透射软 X 射线显微镜,通过钙离子与巯基键合,然后对钙进行表征分析,得到了胞外巯基的分布。

同时,值得注意的是由于含硫化合物形态多样,且易受到环境条件(如氧化)的影响,在没有充

足的标准参考化合物情况下, 单一的 XANES 方法在对某些含量较低的化合物形态分析时可能会产生明显误差, 因此, 需要结合 SEM-EDS、XRD、XPS、拉曼和/或红外光谱等分析手段, 多方面对生物浸出样品进行分析, 才能给出比较确定的结果。

6 展望

随着高品位矿产资源的逐渐枯竭, 除传统矿物加工方法之外, 寻求新的提取低品位矿物中有价金属的方法变得迫在眉睫。生物冶金作为新兴的矿物提取技术受到各国的重视。微生物-矿物界面的相互作用贯穿整个生物浸矿过程, 同时, 微生物与矿物界面作用的吸附初始阶段, 近年来成为了研究热点。但是由于微生物-矿物界面作用涉及二者的众多理化性质, 并且受测试设备的影响, 界面的显微作用机制一直没有得到完全的解决。根据上述对界面相关作用的概述, 笔者认为可以从以下几方面寻求突破口。(1) 建立矿物表面与细菌细胞的电化学模型, 利用电化学手段从电子传递机制方面入手, 深入认识矿物溶出与细胞代谢之间的关系; (2) 结合生物、化学、物理等多学科技术手段, 联用更为灵敏的检测方法如 XANES、STXM、XPS、Raman 光谱和能够检测中间反应的电化学方法来分析黄铜矿生物浸出过程, 将微观界面作用宏观可视化, 充分了解生物冶金的浸出的微观界面作用机理; (3) 将矿物非均一性溶出、微生物铁硫氧化行为、元素形态转变三者关联起来, 探究相互影响机制, 为提高生物冶金浸出效率奠定基础。

参 考 文 献

- [1] Brierley CL. Biohydrometallurgical prospects[J]. Hydrometallurgy, 2010, 104(3/4): 324-328
- [2] Liu JS, Wang ZH, Gen MM, et al. Progress in the study of polyphase interfacial interactions between microorganism and mineral in bio-hydrometallurgy[J]. Mining and Metallurgical Engineering, 2006, 26(1): 40-44 (in Chinese)
柳建设, 王兆慧, 耿梅梅, 等. 微生物浸出中微生物-矿物多相界面作用的研究进展[J]. 矿冶工程, 2006, 26(1): 40-44
- [3] Liang CL, Xia JL, Yang Y, et al. Progress in sulfur speciation transformation during chalcopyrite bioleaching[J]. The Chinese Journal of Nonferrous Metals, 2012, 22(1): 265-273 (in Chinese)
梁长利, 夏金兰, 杨益, 等. 黄铜矿生物浸出过程的硫形态转化研究进展[J]. 中国有色金属学报, 2012, 22(1): 265-273
- [4] Tan SN, Chen M. Early stage adsorption behaviour of *Acidithiobacillus ferrooxidans* on minerals I: an experimental approach[J]. Hydrometallurgy, 2012, 119-120: 87-94
- [5] Zhang RY, Neu TR, Bellenberg S, et al. Use of lectins to *in situ* visualize glycoconjugates of extracellular polymeric substances in acidophilic archaeal biofilms[J]. Microbial Biotechnology, 2015, 8(3): 448-461
- [6] Xia JL, Zhu HR, Wang L, et al. *In situ* characterization of relevance of surface microstructure and electrochemical properties of chalcopyrite to adsorption of *Acidianus manzaensis*[J]. Advanced Materials Research, 2015, 1130: 183-187
- [7] Xia JL, Yang Y, He H, et al. Investigation of the sulfur speciation during chalcopyrite leaching by moderate thermophile *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*[J]. International Journal of Mineral Processing, 2010, 94(1/2): 52-57
- [8] Africa CJ, Harrison STL, Becker M, et al. *In situ* investigation and visualisation of microbial attachment and colonisation in a heap bioleach environment: the novel biofilm reactor[J]. Minerals Engineering, 2010, 23(6): 486-491
- [9] Liu H, Gu GH, Xu YB. Surface properties of pyrite in the course of bioleaching by pure culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and a mixed culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*[J]. Hydrometallurgy, 2011, 108(1/2): 143-148
- [10] Zhu W, Xia JL, Yang Y, et al. Thermophilic archaeal community succession and function change associated with the leaching rate in bioleaching of chalcopyrite[J]. Bioresource Technology, 2013, 133: 405-413
- [11] Chen ML, Zhang L, Gu GH, et al. Effects of microorganisms on surface properties of chalcopyrite and bioleaching[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2008, 18(6): 1421-1426
- [12] Africa CJ, van Hille RP, Harrison STL. Attachment of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferriphilum* cultured under varying conditions to pyrite, chalcopyrite, low-grade ore and quartz in a packed column reactor[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(3): 1317-1324
- [13] Dong YB, Lin H, Xu XF, et al. Comparative study on the bioleaching, biosorption and passivation of copper sulfide minerals[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 84: 29-34
- [14] Richardson DJ, Butt JN, Clarke TA. Controlling electron transfer at the microbe-mineral interface[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(19): 7537-7538
- [15] Fantauzzi M, Licheri C, Atzei D, et al. Arsenopyrite and pyrite bioleaching: evidence from XPS, XRD and ICP techniques[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, 401(7): 2237-2248
- [16] Lee J, Acar S, Doerr DL, et al. Comparative bioleaching and mineralogy of composited sulfide ores containing enargite, covellite and chalcocite by mesophilic and thermophilic microorganisms[J]. Hydrometallurgy, 2011, 105(3/4): 213-221
- [17] He H, Xia JL, Hong FF, et al. Analysis of sulfur speciation on chalcopyrite surface bioleached with *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. Minerals Engineering, 2012, 27-28: 60-64
- [18] Zhu W, Xia JL, Yang Y, et al. Sulfur oxidation activities of pure and mixed thermophiles and sulfur speciation in bioleaching of chalcopyrite[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(4): 3877-3882
- [19] Yang Y, Liu WH, Chen M. A copper and iron K-edge XANES study on chalcopyrite leached by mesophiles and moderate thermophiles[J]. Minerals Engineering, 2013, 48: 31-35
- [20] Ahmadi A, Schaffie M, Petersen J, et al. Conventional and

- electrochemical bioleaching of chalcopyrite concentrates by moderately thermophilic bacteria at high pulp density[J]. Hydrometallurgy, 2011, 106(1/2): 84-92
- [21] Liu HC, Nie ZY, Xia JL, et al. Investigation of copper, iron and sulfur speciation during bioleaching of chalcopyrite by moderate thermophile *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*[J]. International Journal of Mineral Processing, 2015, 137: 1-8
- [22] Liang CL, Xia JL, Yang Y, et al. Characterization of the thermo-reduction process of chalcopyrite at 65 °C by cyclic voltammetry and XANES spectroscopy[J]. Hydrometallurgy, 2011, 107(1/2): 13-21
- [23] Liu HC, Xia JL, Nie ZY. Relatedness of Cu and Fe speciation to chalcopyrite bioleaching by *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. Hydrometallurgy, 2015, 156: 40-46
- [24] Zeng WM, Qiu GZ, Chen M. Investigation of Cu-S intermediate species during electrochemical dissolution and bioleaching of chalcopyrite concentrate[J]. Hydrometallurgy, 2013, 134-135(3): 158-165
- [25] Khoshkhoo M, Dopson M, Shchukarev A, et al. Chalcopyrite leaching and bioleaching: an X-ray photoelectron spectroscopic (XPS) investigation on the nature of hindered dissolution[J]. Hydrometallurgy, 2014, 149: 220-227
- [26] Liang CL, Xia JL, Nie ZY, et al. Effect of initial pH on chalcopyrite oxidation dissolution in the presence of extreme thermophile *Acidianus manzaensis*[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2014, 24(6): 1890-1897
- [27] Gu GH, Hu KT, Zhang X, et al. The stepwise dissolution of chalcopyrite bioleached by *Leptospirillum ferriphilum*[J]. Electrochimica Acta, 2013, 103: 50-57
- [28] Liu HC, Xia JL, Nie ZY, et al. Bioleaching of chalcopyrite by *Acidianus manzaensis* under different constant pH[J]. Minerals Engineering, 2016, 98: 80-89
- [29] Liang CL, Xia JL, Nie ZY, et al. Effect of sodium chloride on sulfur speciation of chalcopyrite bioleached by the extreme thermophile *Acidianus manzaensis*[J]. Bioresource Technology, 2012, 110: 462-467
- [30] Wang J, Gan XW, Zhao HB, et al. Dissolution and passivation mechanisms of chalcopyrite during bioleaching: DFT calculation, XPS and electrochemistry analysis[J]. Minerals Engineering, 2016, 98: 264-278
- [31] Yang Y, Liu WH, Chen M. XANES and XRD study of the effect of ferrous and ferric ions on chalcopyrite bioleaching at 30 °C and 48 °C[J]. Minerals Engineering, 2015, 70: 99-108
- [32] Xia JL, Liu HC, Nie ZY, et al. Characterization of microbe-mineral interfacial interaction based on synchrotron radiation techniques[J]. Advanced Materials Research, 2015, 1130: 123-126
- [33] He H, Xia JL, Huang GH, et al. Analysis of the elemental sulfur bio-oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* with sulfur K-edge XANES[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 27(8): 1927-1931
- [34] Nie ZY, Liu HC, Xia JL, Z et al. Differential utilization and transformation of sulfur allotropes, μ -S and α -S₈, by moderate thermoacidophile *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*[J]. Research in Microbiology, 2014, 165(8): 639-646
- [35] Liu HC, Xia JL, Nie ZY, et al. Comparative study of sulfur utilization and speciation transformation of two elemental sulfur species by thermoacidophilic archaea *Acidianus manzaensis* YN-25[J]. Process Biochemistry, 2013, 48(12): 1855-1860
- [36] Liu HC, Xia JL, Nie ZY, et al. Differential utilization and speciation transformation of orthorhombic α -S₈ and amorphous μ -S by substrate-acclimated mesophilic *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2015, 25(9): 3096-3102
- [37] Peng AA, Xia JL, Liu HC, et al. Differential utilization of cyclic, orthorhombic α - and chain-like polymeric μ -sulfur by *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2014, 24(5): 1562-1570
- [38] Xia JL, Liu HC, Nie ZY, et al. Synchrotron radiation based STXM analysis and micro-XRF mapping of differential expression of extracellular thiol groups by *Acidithiobacillus ferrooxidans* grown on Fe²⁺ and S⁰[J]. Journal of Microbiological Methods, 2013, 94(3): 257-261
- [39] Liu HC, Xia JL, Nie ZY, et al. Differential expression of extracellular thiol groups of moderately thermophilic *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* and extremely thermophilic *Acidianus manzaensis* grown on S⁰ and Fe²⁺[J]. Archives of Microbiology, 2015, 197(6): 823-831
- [40] Nie ZY, Liu HC, Xia JL, et al. Evidence of cell surface iron speciation of acidophilic iron-oxidizing microorganisms in indirect bioleaching process[J]. BioMetals, 2016, 29(1): 25-37
- [41] Romo E, Weinacker DF, Zepeda AB, et al. Bacterial consortium for copper extraction from sulphide ore consisting mainly of chalcopyrite[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2013, 44(2): 523-528
- [42] Lara RH, García-Meza JV, Cruz R, et al. Influence of the sulfur species reactivity on biofilm conformation during pyrite colonization by *Acidithiobacillus thiooxidans*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 95(3): 799-809
- [43] García-Meza JV, Fernández JJ, Lara RH, et al. Changes in biofilm structure during the colonization of chalcopyrite by *Acidithiobacillus thiooxidans*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(13): 6065-6075
- [44] Zhu W, Xia JL, Peng AA, et al. Characterization of apparent sulfur oxidation activity of thermophilic archaea in bioleaching of chalcopyrite[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2013, 23(8): 2383-2388
- [45] More TT, Yadav JSS, Yan S, et al. Extracellular polymeric substances of bacteria and their potential environmental applications[J]. Journal of Environmental Management, 2014, 144: 1-25
- [46] Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix[J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(9): 623-633
- [47] Li Q, Sand W, Zhang RY. Enhancement of biofilm formation on pyrite by *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*[J]. Minerals, 2016, 6(3): 71
- [48] Solís M, Solís A, Pérez HI, et al. Microbial decolouration of azo dyes: a review[J]. Process Biochemistry, 2012, 47(12): 1723-1748
- [49] Ha JY, Gélalbert A, Spormann AM, et al. Role of extracellular polymeric substances in metal ion complexation on *Shewanella oneidensis*: batch uptake, thermodynamic modeling, ATR-FTIR, and EXAFS study[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2010, 74(1): 1-15
- [50] Bautista BET, Wikieł AJ, Datsenko I, et al. Influence of extracellular polymeric substances (EPS) from *Pseudomonas* NCIMB 2021 on the corrosion behaviour of 70Cu-30Ni alloy in seawater[J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2015, 737: 184-197
- [51] Pan XL, Liu J, Zhang DD, et al. Binding of dicamba to soluble and bound extracellular polymeric substances (EPS) from aerobic activated sludge: a fluorescence quenching study[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2010, 345(2): 442-447
- [52] Rao KH, Vilingska A, Chernyshova IV. Minerals bioprocessing: R & D needs in mineral biobeneficiation[J]. Hydrometallurgy, 2010, 104(3/4): 465-470
- [53] Nkulu G, Gaydardzhiev S, Mwema E, et al. SEM and EDS observations of carrollite bioleaching with a mixed culture of acidophilic bacteria[J]. Minerals Engineering, 2015, 75: 70-76
- [54] García-Meza JV, Lara RH, Navarro-Contreras HRN. Application of raman spectroscopy to the biooxidation analysis of sulfide Minerals[J]. International Journal of Spectroscopy, 2012, 2012: 501706
- [55] Reddy GU, Seshamaheswaramma K, Nakamura Y, et al.

- Electron paramagnetic resonance, optical absorption and Raman spectral studies on a pyrite/chalcopyrite mineral[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2012, 96: 310-315
- [56] Lalla EA, Lopez-Reyes G, Sansano A, et al. Raman-IR vibrational and XRD characterization of ancient and modern mineralogy from volcanic eruption in Tenerife Island: Implication for Mars[J]. Geoscience Frontiers, 2016, 7(4): 673-681
- [57] Hollricher O, Schmidt U, Breuninger S. RISE microscopy: correlative Raman-SEM imaging[J]. Microscopy Today, 2014, 22(6): 36-39
- [58] Liu Y, Dang Z, Lu GN, et al. Utilization of electrochemical impedance spectroscopy for monitoring pyrite oxidation in the presence and absence of *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. Minerals Engineering, 2011, 24(8): 833-838
- [59] Fu KB, Lin H, Mo XL, et al. Comparative study on the passivation layers of copper sulphide minerals during bioleaching[J]. International Journal of Minerals, Metallurgy, and Materials, 2012, 19(10): 886-892
- [60] Bharadwaj A, Ting YP. Bioleaching of spent hydrotreating catalyst by acidophilic thermophile *Acidianus brierleyi*: leaching mechanism and effect of decoking[J]. Bioresource Technology, 2013, 130: 673-680
- [61] Takatsugi K, Sasaki K, Hirajima T. Mechanism of the enhancement of bioleaching of copper from enargite by thermophilic iron-oxidizing archaea with the concomitant precipitation of arsenic[J]. Hydrometallurgy, 2011, 109(1/2): 90-96
- [62] Klauber C. A critical review of the surface chemistry of acidic ferric sulphate dissolution of chalcopyrite with regards to hindered dissolution[J]. International Journal of Mineral Processing, 2008, 86(1/4): 1-17
- [63] Cuisinier M, Cabelguen PE, Evers S, et al. Sulfur speciation in Li-S batteries determined by operando X-ray absorption spectroscopy[J]. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2013, 4(19): 3227-3232
- [64] Reith F, Zammit CM, Rogers SL, et al. Potential utilisation of micro-organisms in gold processing: a review[J]. Mineral Processing and Extractive Metallurgy, 2012, 121(4): 251-260

稿件书写规范

论文中有关正、斜体的约定

物种的学名：菌株的属名、种名(包括亚种、变种)用拉丁文斜体。属的首字母大写，其余小写，属以上用拉丁文正体。病毒一律用正体，首字母大写。

限制性内切酶：前 3 个字母用斜体，后面的字母和编码正体平排，例如：*Bam*H I、*Hind* III、*Sau*3A I 等。

氨基酸和碱基的缩写：氨基酸缩写用 3 个字母表示时，仅第一个字母大写，其余小写，正体。碱基缩写为大写正体。

基因符号用小写斜体，蛋白质符号首字母大写，用正体。