

酸性矿山废水的微生物多样性及其在生物冶金中的应用

李文星^{1,2}, 刘畅^{1,2}, 刘缨^{*1}, 郑艳宁^{*1,2}

1 中国科学院微生物研究所, 北京 100101

2 中国科学院大学, 北京 101408

李文星, 刘畅, 刘缨, 郑艳宁. 酸性矿山废水的微生物多样性及其在生物冶金中的应用[J]. 微生物学通报, 2024, 51(12): 4869-4883.

LI Wenxing, LIU Chang, LIU Ying, ZHENG Yanning. Microorganisms in acidic mine drainage: diversity and application in bioleaching[J]. Microbiology China, 2024, 51(12): 4869-4883.

摘要: 酸性矿山废水中存在的微生物具有独特的特性, 这些特性使其能够在极端酸性的环境中生存。本文回顾了酸性矿山废水中主要的微生物类群及其在生物冶金中的应用, 概述了生物冶金的原理及国内外研究现状, 并分析了生物冶金技术的未来发展前景。目前生物冶金技术已经在工业应用中有广泛的实例, 但如何培育出效率更高、适应性更强的冶金微生物类群, 依然是当前相关领域工作的重点和难点。

关键词: 酸性矿山废水; 微生物多样性; 生物冶金; 工业应用

Microorganisms in acidic mine drainage: diversity and application in bioleaching

LI Wenxing^{1,2}, LIU Chang^{1,2}, LIU Ying^{*1}, ZHENG Yanning^{*1,2}

1 Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China

Abstract: Acid mine drainage contains microorganisms with unique characteristics that enable them to survive in highly acidic environments. This paper details the key microbial groups in AMD and evaluates their application potential in bioleaching. It then introduces the principle, reviews the current research status, and offers insights into the future development of bioleaching. Bioleaching has been applied in industrial applications. However, enhancing the efficiency and adaptability of

资助项目: 国家重点研发计划(2022YFC2105301)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFC2105301).

*Corresponding authors. E-mail: ZHENG Yanning, zhengyn@im.ac.cn; LIU Ying, liuying@im.ac.cn

Received: 2024-07-03; Accepted: 2024-10-27; Published online: 2024-11-09

microbial communities for bioleaching remains a focus and challenge in this field at present.

Keywords: acidic mine drainage; microbial diversity; bioleaching; industrial applications

酸性矿山废水(acid mine drainage, AMD)是指由暴露于空气、水等介质中的多种含硫矿物在微生物主导作用下形成的低 pH、高 SO_4^{2-} 且重金属含量极高的废水^[1]。由于 AMD 中富含硫酸盐与重金属离子, 所以极易造成高盐度污染与重金属污染, 严重危害生态环境与人体健康, 已经成为全球公认的环境问题^[2]。

虽然 AMD 的强酸性和重金属毒性使很多微生物难以存活, 但仍有一些嗜酸原核、真核微生物在 AMD 中作为能量传递与物质循环的重要参与者, 并通过铁、硫代谢在此生存, 其中极端嗜酸菌占主要优势, 该菌可以在 $\text{pH}<3.0$ 的环境中生长并通过氧化还原无机硫化物与亚铁获得能量^[3]。近年来, 随着基因组学、转录组学、蛋白组学等微生物组学技术的发展, 大力推动了 AMD 中微生物群落结构、功能与代谢多样性的研究, 越来越多的嗜酸微生物菌群被鉴定和发现, 为我们理解这些微生物如何在极端环境中生存提供了新的视角^[4]。这些从 AMD 中分离和鉴定出的微生物菌群, 在生物冶金领域也展现出巨大的应用潜力, 它们通过其特有的代谢机制, 如铁、硫的氧化还原反应, 在矿石中金属元素的溶解和转化中发挥了重要作用; 生物冶金正是借助了微生物的代谢活动, 将矿物中的金属元素转化为可溶解的形式, 相较于传统冶金工艺, 生物冶金不仅能有效解决传统冶金技术在处理低品位矿物时面临的低产量、高成本和严重污染问题, 而且具有显著的经济效益; 此外, 微生物不仅直接与矿石发生氧化还原作用, 还通过复杂的代谢网络与矿石发生协同作用, 使金属离子的释放和回收变得更为高效^[5]。

本文综合分析了近年来 AMD 中报道的微生物类群及其在生物冶金中的应用情况, 通过分析这些微生物的特性, 为未来生物冶金技术的大规模应用提供理论基础。

1 AMD 环境中的微生物多样性

矿物中的铁、硫离子在低 pH 条件下的自然氧化速度十分缓慢, 然而 AMD 中存在的嗜酸菌能够直接作用于矿物进行氧化, 使矿物溶解速率加快 10^6 倍^[5]。在 AMD 环境中, 嗜酸微生物以其独特的代谢机制调节着铁、硫循环过程, 并参与复杂的生物地球化学反应, 促进金属元素的迁移和转化, 对于环境修复和资源回收具有潜在的应用价值。

目前能够应用到生物冶金的微生物达到了几十种, 按底物利用方式可以分为嗜酸(兼性)自养菌、嗜酸异养菌与专性厌氧菌三类, 以自养微生物占绝大多数^[5-6]。自养菌通过化能作用以 CO_2 为碳源, 通过代谢 Fe^{2+} 和还原态硫化物获得能量; 异养菌通过代谢有机物进行生长繁殖, 主要包括热原体属(*Thermoplasma*)和脂环酸芽孢杆菌属(*Alicyclobacillus*)等^[6]。冶金微生物按对温度的适应性划分为中温菌(最适温度 $<40\text{ }^\circ\text{C}$)、中等嗜热菌(最适温度 $40\text{--}60\text{ }^\circ\text{C}$)、高温菌(最适温度 $>60\text{ }^\circ\text{C}$)^[7]; 按细胞类型可以分为以古菌、细菌为主的原核生物和以真菌、藻类为主的真核生物。

1.1 原核微生物

目前已经发现的冶金原核微生物大多从 AMD 中分离得到, 主要分为变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、

硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*)、拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)与蓝细菌门(*Cyanobacteria*), 此外, 还包括泉古菌门(*Crenarchaeota*)与广古菌门 (*Euryarchaeota*)。如表 1 所示, 列出了部分 AMD

中的原核微生物菌株及对应的铁硫代谢功能^[8-11]。基因组分析结果得出, AMD 中大部分原核微生物可以通过代谢铁或硫获取维持生命活动, 部分异养微生物的铁、硫代谢功能暂未发现。

表 1 部分酸性矿山废水中的原核微生物

Table 1 Some prokaryotic microorganisms in acid mine drainage

微生物名称 Microbial name	温度适应性 Temperature adaptability	所属门类 Phylum	铁硫代谢功能基因 Functional genes of iron and sulfur metabolism	发现地 Location
自养微生物 Autotrophic microbes				
铁氧化菌 Iron-oxidizers				
钩端螺旋菌属 <i>Leptospirillum</i>	中温菌 Mesophile	硝化螺旋菌门 <i>Nitrospirae</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i> , <i>rus</i>)	USA ^[8]
嗜酸铁微菌 <i>Ferrimicrobium acidiphilum</i>	中温菌 Mesophile	放线菌门 <i>Actinobacteria</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i> , <i>rus</i>)	UK ^[8]
智利南部嗜酸还原铁微菌 <i>Acidiferrimicrobium australe</i>	中温菌 Mesophile	酸杆菌门 <i>Acidobacteria</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i>)	Chile
硫氧化/还原菌 Sulfur-oxidizers/reducers				
嗜温嗜酸硫杆菌 <i>Acidithiobacillus caldus</i>	中等嗜热菌 Moderate thermophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>tqo</i>) Sulfate reduction (Genes: <i>dsrAB</i>)	South Africa
硫氧化酸硫杆菌状菌 <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	中温菌 Mesophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>tqo</i>) Sulfate reduction (Genes: <i>dsrAB</i>)	Chile ^[8]
萃铜硫单胞菌 <i>Thiomonas cuprina</i>	中温菌 Mesophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>sqr</i>)	France ^[9]
嗜酸氢杆菌 <i>Hydrogenobacter acidophilus</i>	中等嗜热菌 Moderate thermophile	产水菌门 <i>Aquificae</i>	Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>sqr</i>)	Japan ^[8]
铁、硫氧化菌 Iron-and sulfur-oxidizers				
耐铁酸硫杆菌状菌 <i>Acidithiobacillus ferridurans</i>	中温菌 Mesophile	酸杆菌门 <i>Acidobacteria</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i> , <i>rus</i> , <i>cydAB</i>) Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>tqo</i> , <i>tetrathionate</i>)	France
亚铁氧化酸硫杆菌状菌 <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	中温菌 Mesophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i> , <i>rus</i> , <i>cydAB</i>) Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>tqo</i> , <i>tetrathionate</i>)	USA
生金球菌属 <i>Metallosphaera</i>	高温菌 Thermophile	泉古菌门 <i>Crenarchaeota</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>sulfocyanin</i> <i>cyc2</i>) Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>sqr</i> , <i>tqo</i>)	Italia ^[9]
酸双面菌属 <i>Acidianus</i>	高温菌 Thermophile	泉古菌门 <i>Crenarchaeota</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i> , <i>rus</i>) Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>sqr</i>)	Italy ^[9]
金属硫化叶菌 <i>Sulfolobus metallicus</i>	高温菌 Thermophile	泉古菌门 <i>Crenarchaeota</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i>) Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>sqr</i>)	Japan ^[8]
阿尔伯特塔酸硫杆菌状菌 <i>Acidithiobacillus albertensis</i>	中温菌 Mesophile	酸杆菌门 <i>Acidobacteria</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i> , <i>rus</i> , <i>cydAB</i>) Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i>)	Canada
铁还原菌 Iron-reducers				
多嗜嗜酸菌 <i>Acidiphilium multivorum</i>	中温菌 Mesophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	$Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ (Genes: <i>mtrA</i>)	Japan ^[10]

(待续)

(续表 1)

微生物名称 Microbial name	温度适应性 Temperature adaptability	所属门类 Phylum	铁硫代谢功能基因 Functional genes of iron and sulfur metabolism	发现地 Location
隐藏嗜酸菌 <i>Acidiphilium cryptum</i>	中温菌 Mesophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	$Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ (Genes: <i>mtrA</i>)	USA ^[9]
食有机物嗜酸菌 <i>Acidiphilium organovorum</i>	中温菌 Mesophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	$Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ (Genes: <i>mtrA</i>)	Japan ^[10]
需酸荚膜菌属 <i>Acidicapsa</i>	中温菌 Mesophile	酸杆菌门 <i>Acidobacteria</i>	$Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ (Genes: <i>mtrA</i>)	Spain
亚铁原体属 <i>Ferroplasma</i>	中温菌 Mesophile	泉古菌门 <i>Crenarchaeota</i>	$Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ (Genes: <i>mtrA</i>)	Europe
铁氧化菌/还原菌 Iron-oxidizers/reducers				
铁氧化酸微菌 <i>Acidimicrobium ferrooxidans</i>	中温菌 Mesophile	放线菌门 <i>Actinobacteria</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i>) $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ (Genes: <i>mtrA</i>)	Germany ^[8]
硫化菌、铁氧化/还原菌 Iron-oxidizers/reducers and sulfur-oxidizers				
硫化芽孢杆菌属 <i>Sulfobacillus</i>	中等嗜热菌 Moderate thermophile	厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i> , <i>rus</i> , <i>sulfocyanin</i>) $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ (Genes: <i>mtrA</i>) Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>sqr</i>)	Russia ^[8,11]
异养微生物 Heterotrophic microbes				
氧化铁脂环酸芽孢杆菌 <i>Alicyclobacillus ferrooxydans</i>	中温菌 Mesophile	厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i> , <i>rus</i>)	Japan
酸热脂环酸芽孢杆菌 <i>Alicyclobacillus scycloheptanicus</i>	中等嗜热菌 Moderate thermophile	厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	Undetected	Japan ^[9]
推逆性脂环酸芽孢杆菌 <i>Alicyclobacillus tolerans</i>	中温菌 Mesophile	厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	Undetected	Germany
矿井水酸短杆菌 <i>Acidibrevibacterium fodinaquatile</i>	中温菌 Mesophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i>)	Japan
舍夫勒氏矿杆菌 <i>Metallibacterium scheffleri</i>	中温菌 Mesophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i>) Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i>)	Germany
嗜酸小粒胞菌 <i>Granulicella acidiphila</i>	中温菌 Mesophile	酸杆菌门 <i>Acidobacteria</i>	Undetected	Germany
酸胞菌属 <i>Acidocella</i>	中温菌 Mesophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i>) $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ (Genes: <i>mtrA</i>)	Germany ^[8]
产红酸球形菌 <i>Acidisphaera rubrifaciens</i>	中温菌 Mesophile	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	Undetected	Japan ^[9]
耕地束缚菌 <i>Conexibacter arvalis</i>	中温菌 Mesophile	酸杆菌门 <i>Acidobacteria</i>	Undetected	Germany ^[9]
热原体属 <i>Thermoplasma</i>	高温菌 Thermophile	泉古菌门 <i>Crenarchaeota</i>	$Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ (Genes: <i>mtrA</i>) Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>sqr</i>) Sulfate reduction (Genes: <i>dsrAB</i>)	Italy ^[8]
嗜苦菌属 <i>Picrophilus</i>	中等嗜热菌 Moderate thermophile	泉古菌门 <i>Crenarchaeota</i>	Undetected	Japan ^[8]
厌氧微生物 Anaerobic microbes				
亚速尔栖冥河菌 <i>Stygiolobus azoricus</i>	高温菌 Thermophile	泉古菌门 <i>Crenarchaeota</i>	$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (Genes: <i>cyc2</i>) Sulfate oxidation (Genes: <i>soxB</i> , <i>sqr</i>) Sulfate reduction (Genes: <i>dsrAB</i>)	Portugal ^[8]
产乙酸酸叶菌 <i>Acidilobus aceticus</i>	高温菌 Thermophile	泉古菌门 <i>Crenarchaeota</i>	Sulfate oxidation (Genes: <i>sqr</i> , <i>dsrAB</i>) Sulfate reduction (Genes: <i>dsrAB</i>)	Italy

如表 1 所示, *cyc2* 基因广泛存在于多种铁氧化微生物中, 如智利南部嗜酸还原铁微菌 (*Acidiferrimicrobium australe*)、钩端螺菌属 (*Leptospirillum*)、酸硫杆菌属 (*Acidithiobacillus*) 等, *cyc2* 基因编码的 C 型细胞色素是 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} 过程中重要的初始电子受体, 而 *Leptospirillum* spp. 等细菌中含有的 *rus* 基因虽然通过编码铜蓝蛋白在细胞周质中传递电子, 但在铁氧化酸微菌 (*Acidimicrobium ferrooxidans*) 等细菌中并未发现该基因, 说明 *rus* 基因可能不是铁氧化代谢途径的核心基因^[11]; 除此之外, 在硫化芽孢杆菌属 (*Sulfobacillus*) 中发现了与古菌生金球菌属 (*Metallosphaera*) 相似的 *sulfocyanin* 基因, 该基因的编码蛋白参与了铁氧化过程中的电子传递, 这也说明了基因的横向转移是影响铁氧化代谢途径的重要因素^[12]。在铁的还原代谢中, 食有机物嗜酸菌 (*Acidiphilium organovororum*)、需酸荚膜菌属 (*Acidicapsa*) 等细菌在厌氧条件下借助 *mtrA* 基因编码的膜蛋白将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} , 同时相关研究表明, 铁的还原过程也与 *tetH*、*arsH* 基因的表达量有关, 说明铁还原过程的电子供体可能来源于 *tetH*、*arsH* 基因的编码蛋白^[13]。

在硫的氧化代谢中, 诸如 *A. australe*、*Acidithiobacillus* spp. 与 *Metallosphaera* spp. 等细菌借助 *soxB* 基因编码的硫氧化多酶复合体的一个关键亚基将硫化物氧化为硫酸盐, 而 *sqr* 基因编码的硫醌还原酶负责将 H_2S 氧化为中间态硫化物或硫酸盐, 其中中间态硫化物进一步通过硫氧化还原酶、亚硫酸氧化酶或腺苷磷酸硫酸还原酶氧化为硫酸盐^[11]; 对于硫代硫酸盐的氧化则需要借助 *tqo* 基因编码的硫醌氧化酶将硫代硫酸盐氧化为连四硫酸盐, 进而形成硫酸盐, 如: 耐铁酸硫杆状菌 (*Acidithiobacillus ferridurans*)、硫氧化酸硫杆状菌 (*Acidithiobacillus*

thiooxidans) 等^[14]; 在硫的还原过程中, *A. australe*、*Sulfolobus* spp. 与 *Metallosphaera* spp. 等通过 *dsrAB* 基因编码的二硫化物还原酶在缺氧环境中还原硫获得能量。

1.2 真核微生物

在 AMD 中仍存在着多样的真核生物, 已报道的包括裸藻门 (*Euglenophyta*)、绿藻门 (*Chlorophyta*) 与硅藻门 (*Bacillariophyceae*), 它们借助 H^+ /ATPase 基因排出胞内多余的 H^+ 以维持 pH 稳定, 抗氧化酶基因、金属硫蛋白与重金属转运蛋白基因则赋予它们抵抗高浓度金属离子的能力, 光合作用基因使它们能够在不利条件下利用光能生存, 膜蛋白修饰基因提高了细胞膜的稳定性^[15]。在生物冶金方面, 硅藻作为一类重要的真核微生物, 在 AMD 环境中可能有助于金属离子的吸附和沉淀; 还有部分真菌, 特别是曲霉属 (*Aspergillus*) 和青霉属 (*Penicillium*), 它们在浸矿过程中能与金属离子形成配合物, 有利于有价金属的浸出^[16-19]。

2 微生物的生物冶金机制及影响因素

2.1 生物冶金机制

生物冶金技术利用 AMD 中微生物的氧化还原和催化作用, 将矿石中的有价金属元素转化为溶解性的离子形态, 并通过富集和纯化步骤最终实现金属的有效提取^[20]。冶金微生物对矿物的作用机制从化学角度可以分为直接作用与间接作用, 以及它们之间的协同作用; 以微生物处理硫化矿为例, 在发生直接作用时, 微生物体内的铁、硫氧化酶催化氧化金属硫化物, 通过破坏矿石的晶体结构从而释放金属离子; 在发生间接作用时, 微生物通过氧化溶液中的 Fe^{2+} 作为氧化剂与金属硫化物反应, 直接与间接

作用通常同时在生物冶金过程中发生^[21-22]。除此之外，反应结束产生的 Fe^{2+} 与低价硫又会被冶金微生物的间接作用氧化为 Fe^{3+} 与硫酸，从而形成氧化还原循环浸出体系^[23]。

2.2 冶金微生物的表面作用机制

冶金微生物对矿物的作用又可以从物理角度分为接触式和非接触式。接触作用是指微生物通过直接附着在矿物表面，在两者接触区域构成的微环境中发生氧化分解，冶金微生物通过分泌胞外多聚物 (extracellular polymeric substances, EPS) 吸附在矿物表面，同时 EPS 中的葡萄糖醛酸基 (G^-) 可以与 Fe^{3+} 络合并可在 EPS 层内聚集^[24]。而 EPS 层之所以可以附着在矿物表面，是因为 G^- 与 Fe^{3+} 结合后带正电，而矿物表面由于零电荷点而带负电，静电吸引作用使两者结合。除此之外，研究发现微生物主要附着在矿石边缘、裂缝等有明显缺陷或结晶程度

低的位置^[25]。在接触作用的电子传递途径方面，以 *A. ferrooxidans* 分解黄铁矿为例，主要涉及 C 型细胞色素 (Cyc-1、Cyc-2)、铜蓝蛋白 (Rus) 与 aa3 型细胞色素氧化酶 (Cox) 等功能蛋白^[24,26]。如图 1 所示， Fe^{3+} 与 EPS 形成络合物后从黄铁矿中获取电子，获取电子后的 Fe^{2+} 极易从 EPS 层中脱离，而脱离后的 Fe^{2+} 在外膜处将电子转移至 Cyc-2，随后 Cyc-2 在 Rus 的辅助下将电子转移给 Cyc-1，最终 Cyc-1 在细胞质膜处通过 Cox 将电子传递给氧气，同时产生电子供体 NADH，NADH 形成的电子传递途径为：Cyc-2 → Rus → Cyc-1 → bc1 → SdrA → NADH；另一方面，多次失去电子后的黄铁矿分解并释放 Fe^{2+} 与 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ， $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 借助位于细胞质膜上的 SQR 或 TQR 蛋白一步氧化形成硫酸根或单质硫，分别对应于 2 种硫氧化路径^[26]：SQR 蛋白： $\text{S}^{2-} \rightarrow \text{S}^0 \rightarrow \text{SO}_3^{2-} \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$ ；TQR 蛋白： $\text{S}^{2-} \rightarrow \text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{S}_4\text{O}_6^{2-} \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$ 。

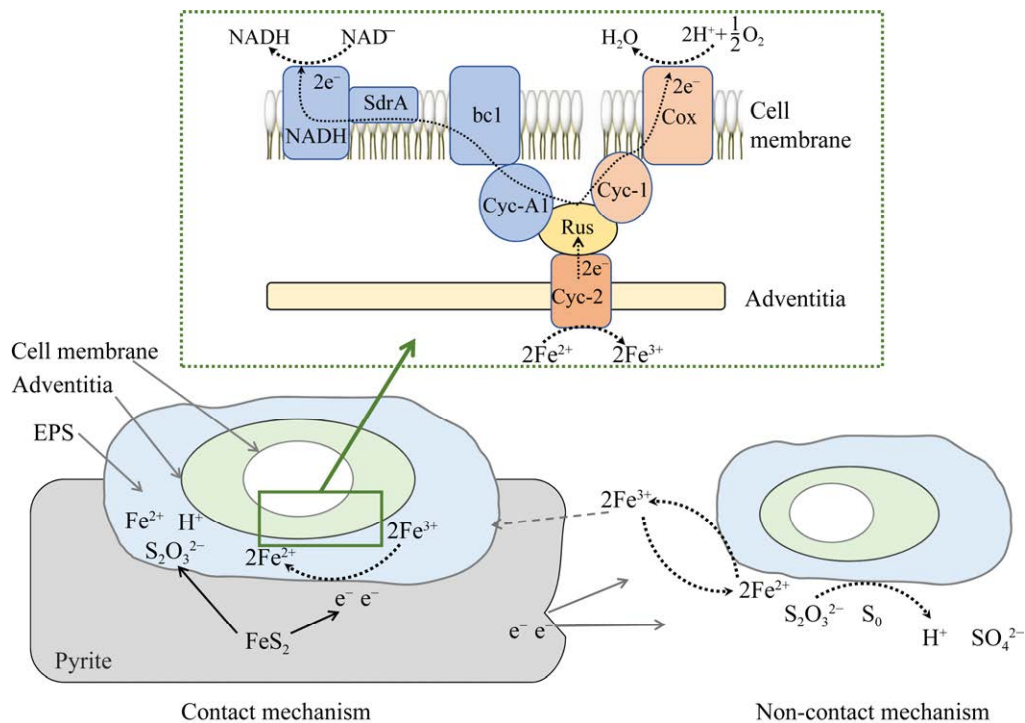


图 1 表面作用机制及电子传递示意图

Figure 1 Surface action mechanism and electron transport.

非接触作用以游离微生物作为主体,以溶液中的还原态硫化物(如 $S_2O_3^{2-}$ 、S)和 Fe^{2+} 作为底物,反应产生的酸将为细菌氧化提供酸性条件,生成的 Fe^{3+} 部分会与 EPS 络合发生进而发生接触作用。如图 1 所示,浸矿过程中微生物的接触作用与非接触作用同时发生并相互协同^[24]。

2.3 冶金微生物的相互作用

如图 2 所示,AMD 内微生物群落彼此紧密相连,发生协同合作、相互竞争和捕食等多样的生态互动^[8]。协同作用是指 2 种或多种功能互补的微生物通过联合相互促进生长代谢的过程,例如:专性铁氧化菌可以和硫氧化菌之间产生协同作用,铁氧化菌氧化产生 Fe^{3+} 作为强氧化剂,将酸性条件下硫化矿中的金属元素氧化释放,同时硫氧化菌不断氧化产生硫酸,维持体系内酸性环境,保证铁氧化菌的活性,2 种菌共同作用可以显著提高浸矿效率^[27];相关研究表明,在 *A. ferrooxidans* 的混合浸矿体系中,*A. ferrooxidans* 的生物量较单菌培养时显著提升 5 倍左右,相关氧化代谢基因的表达量也明显上调^[28];此外,Xia 等^[29]研究了 *A. ferrooxidans* 与 *A. thiooxidans* 这 2 株菌对闪锌矿的浸出作用,发现 2 株菌混合作用后锌元素的浸出率接近 100%,而 2 株菌单独作用时的浸出率仅为 61%和 20%,可见协同作用对提高微生物冶金效率具有积极作用。竞争关系是指生活在同一个体系的 2 个或多个微生物种群为争夺同一生长基质,在同一环境因子条件下发生的其中一方或两方的生长速率、种群密度受到制约的现象。冶金微生物间的竞争关系以 *A. ferrooxidans* 与氧化亚铁钩端螺旋菌(*Leptospirillum ferrooxidans*)对黄铁矿的浸出为代表^[30],2 株菌均可应用于黄铁矿的生物浸出,但在实际酸性浸矿体系中 *L. ferrooxidans* 起主导作用,主要因为与 *L. ferrooxidans* 相比,*A. ferrooxidans* 的 pH 耐

性较差、对亚铁离子的亲和力较低,因此在低 pH 与低亚铁离子浓度的浸矿体系中,*A. ferrooxidans* 处于劣势;相反,随着 pH 与亚铁离子浓度的升高,*A. ferrooxidans* 逐渐在冶金环境中占据优势。微生物间的互利共生常作为协同作用的延伸,例如 *A. ferrooxidans*、*A. thiooxidans* 等自养微生物在代谢过程中会产生有机物质,有机物的不断积累会大幅抑制自身生长代谢,而氧化铁脂环酸芽孢杆菌(*Alicyclobacillus ferrooxydans*)等异养微生物通过分解有机物质获得能量,从而缓解有机物积累对自养微生物的抑制作用^[31];捕食主要为原生生物对冶金微生物的吞噬,原生生物通过捕食 *A. ferrooxidans* 和 *L. ferrooxidans* 等微生物,一定程度上控制了冶金体系中菌群的数量。

在生物冶金的工业应用中,依赖单一菌株的浸矿技术常常难以满足预期效果,研究发现,通过精选多种浸矿微生物并将其组合成复合菌群,能够显著提高浸矿效率。李帅^[32]对 5 种浸矿菌进行了不同混合体系的试验,最终得到了由氧化亚铁钩端螺旋菌(*Leptospirillum ferrooxidans*)、嗜温嗜酸硫杆菌(*A. caldus*)和嗜热硫氧化硫化杆菌(*Sulfobacillus thermosulfidooxidans*)这 3 种菌构建的冶金体系,该体系对含砷金矿的砷浸出率高达 87.50%,远高于单株菌的 *L. ferrooxidans* (13.89%)、*A. caldus* (27.78%)或 *S. thermosulfidooxidans* (62.50%);王芷晴^[33]从不同酸性矿山废水中定向分离、富集了 6 株生理生化特性不同的嗜酸性铁氧化菌,通过混合浸矿实验得出混合菌种的浸出率高于单一菌株 15%左右,证明菌株混合可以起到优势互补的作用;在产出效益分析方面,王芷晴的研究虽然产出效益较低,但生物冶金的污染性小、尾矿资源利用率高,通过优化培养基成分、细菌驯化方式可以进一步提高产出效益;Xu 等^[34]的研究表明,单独使用自

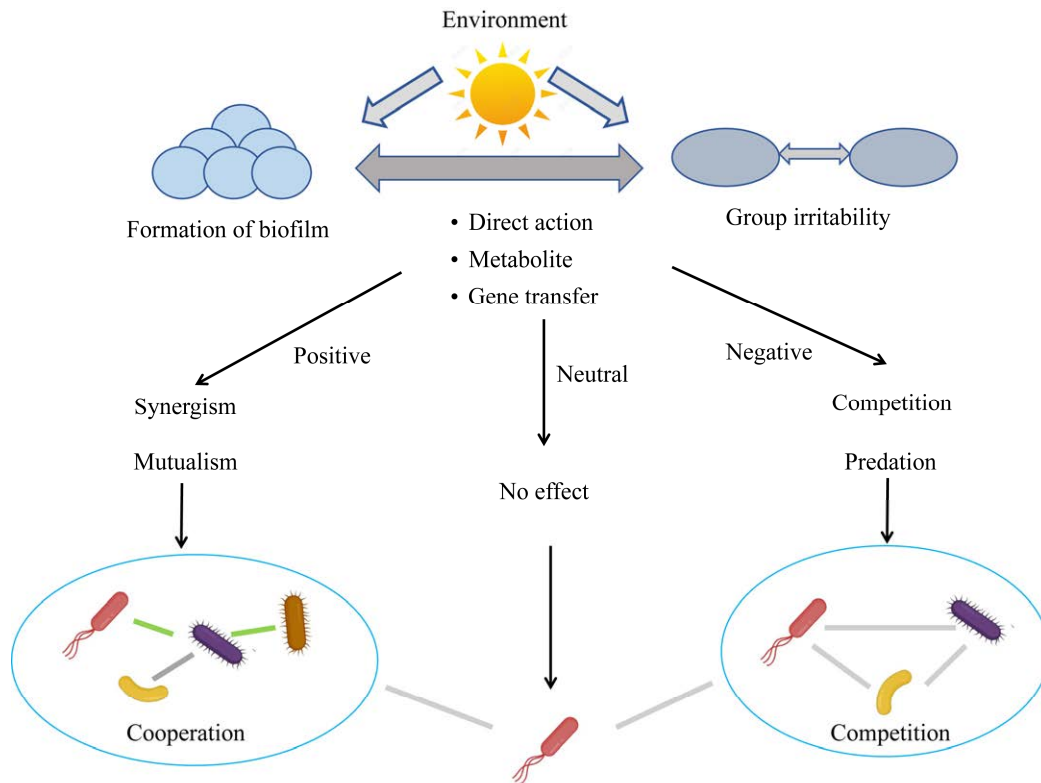


图 2 微生物间的相互作用

Figure 2 Interactions among microorganisms.

养和异养细菌对镉的浸出率分别为 3.00%和 0.74%，而自养和异养菌组成的混合菌群铬浸出率高达 32.09%；同时，哈一凡^[35]研究了嗜酸性硫杆菌种群中的群体感应(quorum sensing, QS)，并以此为基础构建了人工菌群调控系统，有利于提高菌群生长代谢能力。

2.4 寡营养环境下冶金微生物的互作机理

在寡营养环境中，冶金微生物为了在有限的营养条件下生存，需通过多种方式进行资源共享，微生物间的互作机理也更加复杂。当嗜酸冶金微生物处于寡营养环境中时，微生物首先在细胞和群落层面上发展出基质浓缩策略，在细胞水平上，单个微生物通过改变细胞表层性质，优先摄取关键营养物质，例如嗜酸菌在低底物浓度下上调 OmpF 蛋白的表达，形成大

孔蛋白，确保低浓度基质的顺利通过^[36]，同时嗜酸菌通过代谢补偿机制，减少对特定营养物质的需求，并通过代谢途径重组，提高对有限资源的利用率，部分细菌还会下调参与碳代谢和鞭毛组装的基因表达以减少不必要的能量消耗^[37]；在群落水平上，微生物通过建立高度组织化的结构，捕集和共享资源，EPS 通过静电吸引和离子交换积累营养物质和微污染物，从而在营养匮乏的环境中获取底物^[36]，随后微生物群落通过营养共享与共代谢作用形成稳定的互利共生体系，最大化利用可用资源，例如多种嗜酸异养菌通过共代谢作用协同分解利用有机污染物，产生小分子代谢产物为其他微生物提供底物来源^[36]；除此之外，嗜酸菌利用例如 N-酰基高丝氨酸内酯等信号分子进行群体感

应,使其可以在营养匮乏时共同调节代谢途径,最大化利用可用资源^[38]。

2.5 冶金微生物的环境适应性

2.5.1 不同环境因素对生物冶金效率的影响

冶金微生物的环境适应性是其在生物冶金过程中发挥有效作用的关键因素。影响微生物冶金效率的关键环境因素包括矿浆浓度、温度、pH 值、溶解氧水平、培养基的化学组成、金属离子的浓度及紫外线照射等。

在微生物冶金过程中,浸出率随着矿浆浓度的增加呈现先上升后下降的趋势,因此在微生物冶金过程中,一般加入 10%–20%的矿浆浓度,矿浆浓度过高将会使浸出效率明显降低,主要原因为:当体系内金属离子浓度高于微生物的耐受阈值时,继续增加矿浆浓度将抑制菌群的生理代谢,同时大部分微生物通过直接作用吸附于矿物表面,体系内矿浆浓度过高将会导致单个矿粒吸附的微生物数量减少;除此之外,矿浆浓度的提高将会导致一定空间内矿粒的碰撞概率增加,更易造成吸附在表面的微生物脱落,影响浸出效率^[39]。

温度是影响微生物生长代谢的关键因素,应用于微生物冶金的菌种大多从矿山及其废水、温泉中筛选获得,普遍具有嗜热性,而不同种类微生物最适温度范围较窄,大概在 5 °C 范围内^[7],相关研究表明,当冶金体系温度由 25 °C 上升到 60 °C 左右时,优势冶金菌种逐步由中温菌转变为嗜热菌,最后到高温菌^[40],因此可以根据冶金菌群的组成适当调节浸出温度,考虑到在一定范围内浸出率与温度成正比,选用嗜热菌与高温菌可以有效提高金属回收率。

冶金微生物多为嗜酸菌,最适 pH 值在 1.0–4.0 之间。但 pH 除了影响菌群的生长代谢外,还起到了维持冶金体系内物相平衡的作用,冶金体系内 pH 过高将会导致铁离子形成沉淀,

在影响微生物化能合成作用的同时,形成的沉淀会降低微生物与矿粒的接触面积,从而影响浸出率^[39]。

由于常用的冶金微生物为好氧嗜酸菌,所以浸矿体系的溶氧(dissolved oxygen, DO)水平将会显著影响菌群结构。研究表明,冶金微生物在低溶氧环境中将会抑制生物浸出过程,而过高的溶氧将诱导菌体产生活性氧,抑制微生物的氧化能力^[41]。根据 Guezennec 等^[42]的研究结果,当体系内 DO 水平过高时,菌群丰度明显下降,部分菌生物量呈数量级式递减。

培养基中的 N、P 含量也会显著影响浸出率。根据刘杰^[39]的综述,向浸矿体系内加入 NH_4^+ 与磷酸盐,当浓度分别为 NH_4^+ 80 mg/L、磷酸盐 60 mg/L 时,氧化亚铁硫杆菌的浸出效率最高;除此之外,可以向铁氧化菌体系内额外加入适量的 Fe^{2+} 与低价硫作为启动能源,以加速氧化亚铁硫杆菌等微生物的生长。

浸矿体系中微生物的生长繁殖也离不开各种微量元素,如镁离子参与组成细胞色素,铁离子可以作为能源物质并参与氧化辅酶的组成,钾离子有助于稳定细胞内渗透势与酸碱度等^[43];除此之外,紫外线对大多数非光合冶金微生物的生长代谢具有明显抑制作用。将微生物冶金体系暴露在日光下,发生在固相表面的浸矿作用将十分微弱,在液相表面 0.5 m 内基本无法检测到冶金微生物活性^[44],因此微生物冶金过程尽量在遮光条件下进行。

2.5.2 基于基因组分析的冶金微生物环境适应机制

利用宏基因组学、转录组学和蛋白组学等前沿技术,我们可以从全新视角深入探究冶金微生物如何适应极端环境。在基因组层面,宏基因组数据的分析揭示了嗜酸冶金微生物基因组中存在大量抗逆基因,这些基因的存在为微

生物提供了应对极端条件的遗传基础,例如:过氧化氢酶编码基因(*katE*)、烷基过氧化氢还原酶编码基因(*ahpC*、*ahpF*)与超氧化物歧化酶编码基因(*sodA*)的存在有助于分解过氧化物与超氧化物,减少氧化应激对冶金微生物带来的损伤;重金属抗性基因如 *czcA* 通过编码重金属抗性转运蛋白、*copA* 通过编码铜转运 ATP 酶、*merA* 通过编码汞转运酶,将有毒金属离子排出^[45]。除了含有大量抗逆基因外,嗜酸冶金微生物还通过基因水平的代谢途径重组,增强了对铁和硫化物的代谢,赋予了它们在极端环境中获取能量的能力。以亚速尔栖冥河菌(*Stygiolobus azoricus*)为例,该菌具有高度特化的铁、硫氧化代谢途径,通过 *rus* 基因编码铁氧化还原蛋白,将 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} ;通过 *soxB* 基因编码硫氧化多酶复合体亚基,将硫化物氧化为硫酸盐;以及通过 *dsrA* 基因编码二硫化物还原酶,将硫化物还原为元素硫,最终提高了对硫化物与铁的代谢能力;进一步转录组层面研究显示,嗜酸冶金微生物能够通过精细调控基因表达,以灵活应对外界环境的波动,这种调控机制使得微生物能够在酸碱度变化等极端条件下维持其生命活动,例如 RNA 聚合酶 σ 因子 B 基因(*sigB*)可以调控细胞对环境应激反应的基因表达, RNA 聚合酶 σ 因子 S 基因(*rpoS*)可以调控细胞在营养缺乏下的基因表达^[46],而铁代谢相关基因的表达主要受到 *fur* 基因编码的因子调控^[47];在酸胁迫的抵抗方面,以 *A. thiooxidans* 为例,该菌除了增强 H^+ /ATPase 活性促进多余的质子流出外,还会借助天冬氨酸、谷氨酸等氨基酸消耗质子增加碱度,同时 C19-Cyc 等不饱和氨基酸通过增加细胞膜密度以防止质子入侵^[48];而在蛋白组层面,嗜酸冶金微生物通过表达一系列特定功能蛋白,增强了其代谢过程的适应性和效率,例如部分中等嗜热菌与高温菌在高

温环境中表达热休克蛋白基因(*groEL*、*dnaK*、*hsp20*),在修复受热损伤的蛋白质功能的同时保证蛋白质在高温下正确折叠^[45]。在高酸性环境下,嗜酸菌也可以通过加强细胞膜中脂类与蛋白质的结合来维持膜的稳定性和功能性,这些功能蛋白在帮助微生物完成关键的生物化学反应中发挥着至关重要的作用,从而确保了它们在极端环境中的生存和繁衍。

3 生物冶金的工业化应用现状

3.1 国外应用现状

国外的微生物冶金工艺较国内发展较早,且应用体系完善,瑞典早在 17 世纪就在 Falun 矿中采用微生物冶金浸出了 200 万 t 铜^[49],目前在美国、加拿大、法国等国家均建有成熟的生物浸矿生产线;2020 年,英国爱丁堡大学研究人员已经把 18 个微生物冶金“迷你反应器”送往国际空间站,开展名为“生物岩石”的实验,以探明微重力环境下能否利用微生物冶金^[50]。

现行生物冶金工艺主要包括搅拌浸出工艺和生物堆浸工艺,前者适用于精矿处理,后者主要用于加工低品位废矿。搅拌浸出是将粉碎后的矿物依次输送到处于酸性环境的一、二级反应器并最终氧化的过程,通过萃取浸出液可以获得金属;而生物堆浸则是通过用含冶金微生物的硫酸溶液喷淋堆浸场中的矿石,将金属以离子的形式富集到浸出液并最终实现回收的过程^[51]。在搅拌浸出工艺方面,由 BHP 公司建立的 Biocop 工艺通过生物搅拌浸出-萃取-电积工业生产线,借助极端嗜热嗜酸菌处理含砷黄铜矿,在 7-10 d 的浸矿周期内,砷去除率为 90%,铜浸出率高达 95%,可年产 2 万 t 阴极铜^[22];在金矿生物预处理方面,由 Gencor 公司研发的 BIOX 工艺借助中温菌与 6 个连续搅拌槽式生物冶金反应器(3 个初级反应器、3 个次级反应

器), 成为目前应用最广泛的生物金矿预处理工艺^[51]; 除此之外, 由 Bactech 公司研发的 BACOX 工艺及多公司联合研发的 MINBAC 工艺也在金矿的生物预处理中得到了广泛应用^[51-52]; BACOX 工艺主要借助中等嗜热菌在生物反应器中进行氧化预处理, 已在澳大利亚 Youanmi 金矿进行工业应用, MINBAC 工艺则利用 *L. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans* 对金矿进行氧化预处理。在生物堆浸工艺方面, Biopro 工艺最先应用于低品位矿石处理, 该工艺由美国 Newmont 公司开发, 主要用于难处理金矿的生物预处理, 于 1999 年在 Newmont 金矿中首次成功应用, 主要包括矿石筑堆、生物堆浸、氧化预处理与氰化提取四步^[51]; 随后通过整合生物搅拌浸出与生物堆浸的优势, 美国矿业公司开发了用于生物预氧化处理金精矿的 Geocoat 工艺, 该工艺具有浸出率高、建设投资少的优势^[53], 南非于 2000 年在 Agnes 矿山应用 Geocoat 工艺进行金矿选冶, 日处理能力达到了 4 400 t, 取得了良好的经济效益^[54]; 除此之外, 镍锌铜矿低温堆浸工艺也成功加速了镍矿的高效开采, 预计将提高镍矿资源世界总产量的 2.5%^[20]。

3.2 国内应用现状

微生物冶金在我国始于 1960 年前后的安徽铜官山铜矿生物浸出实验, 随着我国不断完成了菌种选育与改良、浸矿效率人工调控、生物堆浸的技术攻关, 首次实现了工业化生物浸提铜矿^[55], 目前微生物冶金工艺在我国已经成为业界研究热点, 并初步应用于金、铜、铀矿的生物浸提。

(1) 在铜矿的微生物冶金中, 我国在紫金山铜矿建立了年处理铜矿为 60 Mt 的堆浸矿厂, 年阴极铜产量为 10 Mt, 可开采铜储量从 2.7 Mt 增加到 3.1 Mt, 堆浸铜回收率可达 80%^[56]; 我国在德兴铜矿废矿开展的“低品位硫化矿生物

浸出菌群选育研究”“德兴铜矿生物浸出催化机理及菌株改良研究”这 2 个研究项目^[57], 借助中南大学开发的定量分析技术, 最终获得了高生长速率、高氧化能力、高抗金属离子能力的冶金菌种; 我国开发的生物冶金技术也应用于赞比亚谦比希铜矿, 据估计可将铜的回收率提高 20%, 酸消耗量减少 35%^[58]。

(2) 在铀矿的微生物冶金中, 早在 20 世纪 80 年代, 铀矿的生物冶金工艺在我国江西省赣州市朝天北铀矿和我国江西省相山铀矿得到了应用, 目前铀提取率高达 96.8%^[59], 为适应日益增长的核电用铀需求, 中国的铀生产已转向开采低品位或难处理的铀矿石, 利用微生物浸出可以大大降低铀矿石的边界品位。

(3) 在金矿的微生物冶金中, 我国目前是世界上生物氧化预处理金矿数量最多的国家, 贡献了我国黄金产量的 8%^[57]; 陕西中矿生物矿业工程有限公司于 1998 年建立的国内首座日处理规模 10 t 的金矿生物氧化预处理厂, 标志着我国开始在工业规模上应用生物氧化预处理技术^[51]。近年来, 辽宁天利金业有限公司、山东黄金集团有限公司、江西三和金业有限公司等多家企业相继采用 CCGRI 工艺, 该工艺由长春黄金研究院研发, 通过串联一级、二级生物氧化槽与阶段氰化浸出、锌粉置换工艺, 使得处理规模由每日 50 t 逐步扩大至 150 t, 年平均金回收率 95% 以上, 相较于直接氰化浸出率提高了 50%^[51,58], 目前我国的金矿生物氧化预处理技术研究与应用规模已经达到了国际领先水平。

4 展望

国内外在冶金微生物领域的突破性发现为构建多元化的冶金微生物菌群开辟了新方向。在“碳达峰、碳中和”的倡导下, 矿冶行业正朝着资源节约、循环利用的冶金工艺转型^[60], 随着

生物冶金技术在工业层面的深入应用, 相应的生产工艺和理论支撑也在不断完善; 然而, 为了实现生物冶金技术的更广泛采纳, 仍需克服提升浸矿速率和增强菌种环境适应性等技术挑战, 开发更高效、环境适应性更广的微生物菌群是推动这一技术不断向前发展的关键。

REFERENCES

- [1] KEFENI KK, MSAGATI TAM, MAMBA BB. Acid mine drainage: prevention, treatment options, and resource recovery: a review[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2017, 151: 475-493.
- [2] TIGUE AA, MALENAB RA, PROMENTILLA MA. A systematic mapping study on the development of permeable reactive barrier for acid mine drainage treatment[J]. *MATEC Web of Conferences*, 2019, 268: 06019.
- [3] MÉNDEZ-GARCÍA C, PELÁEZ AI, MESA V, SÁNCHEZ J, GOLYSHINA OV, FERRER M. Microbial diversity and metabolic networks in acid mine drainage habitats[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 475.
- [4] 苑楠楠. 酸性矿山废水中微生物群落变化及不同季节样品宏基因组学研究[D]. 北京: 中国地质大学(北京)硕士学位论文, 2020.
YUAN NN. Study on microbial community changes in acid mine wastewater and metagenomics of samples in different seasons[D]. Beijing: Master's Thesis of China University of Geosciences, 2020 (in Chinese).
- [5] SETHURAJAN M, van HULLEBUSCH ED, NANCHARAI AH YV. Biotechnology in the management and resource recovery from metal bearing solid wastes: Recent advances[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 211: 138-153.
- [6] 刘虎, 贺欣, 晋华. 酸性矿井水中微生物群落探讨及其在生物修复的应用分析[J]. *能源环境保护*, 2022, 36(4): 18-25.
LIU H, HE X, JIN H. Discussion on the microbial communities in acid mine drainage and their application to bioremediation[J]. *Energy Environmental Protection*, 2022, 36(4): 18-25 (in Chinese).
- [7] 刘佳晨, 刘金辉, 徐玲玲, 周义朋, 文旭祥. 生物浸矿微生物群落结构研究进展[J]. *稀有金属*, 2021, 45(10): 1258-1268.
LIU JC, LIU JH, XU LL, ZHOU YP, WEN XX. Recent research advances on microbial community structure in bioleaching[J]. *Chinese Journal of Rare Metals*, 2021, 45(10): 1258-1268 (in Chinese).
- [8] 刘毅. 土著浸矿微生物群落引种机制研究[D]. 长沙: 中南大学博士学位论文, 2011.
LIU Y. Study on introduction mechanism of indigenous leaching microbial communities[D]. Changsha: Doctoral Dissertation of Central South University, 2011 (in Chinese).
- [9] PARTE AC, CARBASSE JS, MEIER-KOLTHOFF JP, REIMER LC, GÖKER M. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2020, 70(11): 5607-5612.
- [10] 钱林. *Acidithiobacillus ferrooxidans* 和 *Acidiphilium* spp. 细菌的分离鉴定及其协同浸出黄铜矿能力研究[D]. 长沙: 中南大学硕士学位论文, 2008.
QIAN L. Isolation, identification of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidiphilium* spp. and studies on their synergistic effect of leaching chalcopyrite[D]. Changsha: Master's Thesis of Central South University, 2008 (in Chinese).
- [11] 尹华群, 刘征华, 刘学端. 冶金微生物的铁硫代谢多样性及其与矿物的相互作用[J]. *微生物学报*, 2018, 58(4): 560-572.
YIN HQ, LIU ZH, LIU XD. Diversity of iron and sulfur metabolism in bioleaching microorganisms and their interaction with minerals[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(4): 560-572 (in Chinese).
- [12] ZHANG X, LIU XD, LIANG YL, XIAO YH, MA LY, GUO X, MIAO B, LIU HW, PENG DL, HUANG WK, YIN HQ. Comparative genomics unravels the functional roles of co-occurring acidophilic bacteria in bioleaching heaps[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 790.
- [13] MO HY, CHEN Q, DU J, TANG L, QIN F, MIAO B, WU XL, ZENG J. Ferric reductase activity of the ArsH protein from *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 21(5): 464-469.
- [14] DIAO MH, DYKSOY S, KOEKSOY E, NGUGI DK, ANANTHARAMAN K, LOY A, PESTER M. Global diversity and inferred ecophysiology of microorganisms with the potential for dissimilatory sulfate/sulfite reduction[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2023, 47(5): fuad058.
- [15] HALTER D, GOULHEN-CHOLLET F, GALLIEN S, CASIOT C, HAMELIN J, GILARD F, HEINTZ D,

- SCHAEFFER C, CARAPITO C, van DORSSELAER A, TCHERKEZ G, ARSÈNE-PLOETZE F, BERTIN PN. *In situ* proteo-metabolomics reveals metabolite secretion by the acid mine drainage bio-indicator, *Euglena mutabilis*[J]. The ISME Journal, 2012, 6(7): 1391-1402.
- [16] HAO CB, WANG LH, GAO YN, ZHANG LN, DONG HL. Microbial diversity in acid mine drainage of Xiang Mountain sulfide mine, Anhui Province, China[J]. Extremophiles, 2010, 14(5): 465-474.
- [17] BAKER BJ, TYSON GW, GOOSHERST L, BANFIELD JF. Insights into the diversity of eukaryotes in acid mine drainage biofilm communities[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(7): 2192-2199.
- [18] BURLACOT A, DAO O, AUROY P, CUINÉ S, LI-BEISSON Y, PELTIER G. Alternative photosynthesis pathways drive the algal CO₂-concentrating mechanism[J]. Nature, 2022, 605(7909): 366-371.
- [19] PINTO J, HENRIQUES B, SOARES J, COSTA M, DIAS M, FABRE E, LOPES CB, VALE C, PINHEIRO-TORRES J, PEREIRA E. A green method based on living macroalgae for the removal of rare-earth elements from contaminated waters[J]. Journal of Environmental Management, 2020, 263: 110376.
- [20] 王雨桐, 艾光华, 肖国圣. 微生物技术在矿物选冶过程中的研究进展[J]. 矿产综合利用, 2022(5): 91-95, 108.
- WANG YT, AI GH, XIAO GS. Research progress of microbial technology in mineral processing and metallurgy[J]. Multipurpose Utilization of Mineral Resources, 2022(5): 91-95, 108 (in Chinese).
- [21] TRIBUTSCH H. Direct versus indirect bioleaching[J]. Hydrometallurgy, 2001, 59(2/3): 177-185.
- [22] ROHWERDER T, GEHRKE T, KINZLER K, SAND W. Bioleaching review part A: progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 63(3): 239-248.
- [23] 王秀美, 郝福来, 张世鏢, 赵国惠, 李健, 张修超, 王鹏, 张磊, 郑晔. 生物冶金技术在黄金领域的应用及展望[J]. 黄金, 2023, 44(9): 84-92.
- WANG XM, HAO FL, ZHANG SB, ZHAO GH, LI J, ZHANG XC, WANG P, ZHANG L, ZHENG Y. Application and prospects of biometallurgical technology in the gold industry[J]. Gold, 2023, 44(9): 84-92 (in Chinese).
- [24] 张仕奇, 杨洪英, 佟琳琳, 李佳峰, 马鹏程, 陈国民. 硫化矿细菌浸出机理及协同作用研究现状[J]. 有色金属(冶炼部分), 2021(4): 1-10.
- ZHANG SQ, YANG HY, DONG LL, LI JF, MA PC, CHEN GM. Research status of bioleaching of sulphide minerals and bacteria synergy mechanisms[J]. Nonferrous Metals (Extractive Metallurgy), 2021(4): 1-10 (in Chinese).
- [25] JIA Y, TAN QY, SUN HY, ZHANG YP, GAO HS, RUAN RM. Sulfide mineral dissolution microbes: Community structure and function in industrial bioleaching heaps[J]. Green Energy & Environment, 2019, 4(1): 29-37.
- [26] 陆现彩, 李娟, 刘欢, 李伟洁, 王睿勇, 陆建军. 金属硫化物微生物氧化的机制和效应[J]. 岩石学报, 2019, 35(1): 153-163.
- LU XC, LI J, LIU H, LI WJ, WANG RY, LU JJ. Microbial oxidation of metal sulfides and its consequences[J]. Acta Petrologica Sinica, 2019, 35(1): 153-163 (in Chinese).
- [27] 朱宏飞, 李辉, 刘东奇. 三种浸矿细菌协同作用的回顾及展望[J]. 微生物学通报, 2016, 43(12): 2730-2737.
- ZHU HF, LI H, LIU DQ. A review of synergy development and prospect of three leaching bacteria[J]. Microbiology China, 2016, 43(12): 2730-2737 (in Chinese).
- [28] LIU HW, YIN HQ, DAI YX, DAI ZM, LIU Y, LI Q, JIANG HD, LIU XD. The co-culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidiphilium acidophilum* enhances the growth, iron oxidation, and CO₂ fixation[J]. Archives of Microbiology, 2011, 193(12): 857-866.
- [29] XIA LX, LIU JS, XIAO L, ZENG J, LI BM, GENG MM, QIU GZ. Single and cooperative bioleaching of sphalerite by two kinds of bacteria: *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2008, 18(1): 190-195.
- [30] 吴俊子. 中等嗜热浸矿菌共培养体系的培养条件优化研究[D]. 长沙: 中南大学硕士学位论文, 2013.
- WU JZ. Study on optimization of culture conditions of medium thermophilic leaching bacteria co-culture system[D]. Changsha: Master's Thesis of Central South University, 2013 (in Chinese).
- [31] JIANG CY, LIU Y, LIU YY, YOU XY, GUO X, LIU SJ. *Alicyclobacillus ferrooxydans* sp. nov., a ferrous-oxidizing bacterium from solfataric soil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary

- Microbiology, 2008, 58(Pt 12): 2898-2903.
- [32] 李帅. 基于含砷金矿的生物冶炼关键菌群调控及浸出过程强化[D]. 北京: 北京化工大学硕士学位论文, 2023.
LI S. Regulation of key flora in bio-smelting and strengthening of leaching process based on arsenic-bearing gold ore[D]. Beijing: Master's Thesis of Beijing University of Chemical Technology, 2023 (in Chinese).
- [33] 王芷晴. 基于高效嗜酸铁氧化菌的尾矿渣资源回收研究[D]. 沈阳: 东北大学硕士学位论文, 2021.
WANG ZQ. Study on recovery of tailings resources based on high-efficiency acidophilic iron oxidizing bacteria[D]. Shenyang: Master's Thesis of Northeastern University, 2021 (in Chinese).
- [34] XU ML, LIU YZ, DENG Y, ZHANG SY, HAO XD, ZHU P, ZHOU JY, YIN HQ, LIANG YL, LIU HW, LIU XD, BAI LY, JIANG LH, JIANG HD. Bioremediation of cadmium-contaminated paddy soil using an autotrophic and heterotrophic mixture[J]. RSC Advances, 2020, 10(44): 26090-26101.
- [35] 哈一凡. 嗜酸性硫杆菌硫氧化种群中群体感应系统功能研究[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2021.
HA YF. Study on the function of quorum sensing system in thiobacillus acidophilus sulfur oxidation population[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2021 (in Chinese).
- [36] YIN QD, HE K, COLLINS G, de VRIEZE J, WU GX. Microbial strategies driving low concentration substrate degradation for sustainable remediation solutions[J]. NPJ Clean Water, 2024, 7: 52.
- [37] 李敏, 闻建平. 极端环境胁迫下金精矿生物氧化过程研究进展[J]. 冶金工程, 2021, 8(3): 95-104.
LI M, WEN JP. Research progress on biological oxidation process of gold concentrate under extreme environmental stress[J]. Metallurgical Engineering, 2021, 8(3): 95-104 (in Chinese).
- [38] 程珂珂, 曾艳华, 蔡中华, 何永红, 周进. 微生物的交流信号[J]. 生物化学与生物物理进展, 2022, 49(6): 960-974.
CHENG KK, ZENG YH, CAI ZH, HE YH, ZHOU J. The communication signal of microorganism[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2022, 49(6): 960-974 (in Chinese).
- [39] 刘杰. 黄铁矿浸出过程微生物演替规律与外加菌种对黄铁矿浸出的影响规律研究[D]. 长沙: 中南大学硕士学位论文, 2010.
LIU J. Study on the law of microbial succession in pyrite leaching process and the influence of additional strains on pyrite leaching[D]. Changsha: Master's Thesis of Central South University, 2010 (in Chinese).
- [40] WANG YG, CHEN XH, ZHOU HB. Disentangling effects of temperature on microbial community and copper extraction in column bioleaching of low grade copper sulfide[J]. Bioresource Technology, 2018, 268: 480-487.
- [41] CÁRDENAS JP, MOYA F, COVARRUBIAS P, SHMARYAHU A, LEVICÁN G, HOLMES DS, QUATRINI R. Comparative genomics of the oxidative stress response in bioleaching microorganisms[J]. Hydrometallurgy, 2012, 127: 162-167.
- [42] GUEZENNEC AG, JOULIAN C, JACOB J, ARCHANE A, IBARRA D, de BUYER R, BODÉNAN F, D'HUGUES P. Influence of dissolved oxygen on the bioleaching efficiency under oxygen enriched atmosphere[J]. Minerals Engineering, 2017, 106: 64-70.
- [43] 刘慧. 微生物对黄铁矿表面性质的影响及优化黄铁矿生物浸出的研究[D]. 长沙: 中南大学硕士学位论文, 2012.
LIU H. Effect of microorganism on surface properties of pyrite and optimization of pyrite bioleaching[D]. Changsha: Master's Thesis of Central South University, 2012 (in Chinese).
- [44] 王利, 温建康, 刘美林. 紫外可见分光光度法对 EPS 与金属离子的相互作用的研究[J]. 金属矿山, 2008(7): 34-37, 147.
WANG L, WEN JK, LIU ML. Study on interaction between EPS and metallic ions by UV spectrophotometry[J]. Metal Mine, 2008(7): 34-37, 147 (in Chinese).
- [45] SHU WS, HUANG LN. Microbial diversity in extreme environments[J]. Nature Reviews Microbiology, 2022, 20(4): 219-235.
- [46] 胡莉, 谭泽文, 郜晨, 谭习羽, 谭志远. Sigma 因子高效调控微生物多功能研究进展[J]. 生命科学, 2018, 30(3): 285-292.
HU L, TAN ZW, GAO C, TAN XY, TAN ZY. Advances in the high efficient regulation of microbiological functions by sigma factors[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2018, 30(3): 285-292 (in Chinese).
- [47] ZHANG FY, LI BQ, DONG HJ, CHEN M, YAO S, LI JW, ZHANG HH, LIU XG, WANG HW, SONG NN, ZHANG KD, DU N, XU SJ, GU LC. YdiV regulates *Escherichia coli* ferric uptake by manipulating the

- DNA-binding ability of Fur in a SlyD-dependent manner[J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(17): 9571-9588.
- [48] YIN ZW, FENG SS, TONG YJ, YANG HL. Adaptive mechanism of *Acidithiobacillus thiooxidans* CCTCC M 2012104 under stress during bioleaching of low-grade chalcopyrite based on physiological and comparative transcriptomic analysis[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2019, 46(12): 1643-1656.
- [49] JIA Y, SUN HY, CHEN DF, GAO HS, RUAN RM. Characterization of microbial community in industrial bioleaching heap of copper sulfide ore at Monywa mine, Myanmar[J]. *Hydrometallurgy*, 2016, 164: 355-361.
- [50] 国务院发展研究中心国际技术经济研究所. 世界前沿技术发展报告-2021[M]. 北京: 电子工业出版社, 2021: 101-102.
- International Technology and Economy Institute, Development Research Center of the State Council. World frontier technology development report-2021[M]. Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2021: 101-102 (in Chinese).
- [51] 杨宝军, 刘洋, 刘红昌, 李咏梅, 甘敏, 王军, 廖蕤, 章可, 朱振宇, 邱冠周. 生物冶金技术的研究现状及发展趋势[J]. *生物学杂志*, 2024, 41(3): 1-10.
- YANG BJ, LIU Y, LIU HC, LI YM, GAN M, WANG J, LIAO R, ZHANG K, ZHU ZY, QIU GZ. Research status and development trend of bio-metallurgical technology[J]. *Journal of Biology*, 2024, 41(3): 1-10 (in Chinese).
- [52] OLSON GJ, BRIERLEY JA, BRIERLEY CL. Bioleaching review part B:[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2003, 63(3): 249-257.
- [53] SOLEIMANI M, PETERSEN J, ROOSTAAZAD R, HOSSEINI S, MOHAMMAD MOUSAVI S, NAJAFI A, VASIRI AK. Leaching of a zinc ore and concentrate using the Geocoat™ technology[J]. *Minerals Engineering*, 2011, 24(1): 64-69.
- [54] 杨海麟, 康文亮, 张玲, 冷云伟, 冯守帅, 王武. 生物浸出工艺工业化进展(二)[J]. *现代矿业*, 2010, 26(4): 6-10.
- YANG HL, KANG WL, ZHANG L, LENG YW, FENG SS, WANG W. Industrialization progress of bioleaching technology (II)[J]. *Morden Mining*, 2010, 26(4): 6-10 (in Chinese).
- [55] 罗宁, 张晓伟, 柳召刚, 李健飞, 冯福山, 胡艳宏. 微生物冶金及其在稀土资源利用中的研究进展[J]. *化工矿物与加工*, 2023, 52(8): 75-82.
- LUO N, ZHANG XW, LIU ZG, LI JF, FENG FS, HU YH. Research progress of microbial metallurgical technology applied in the utilization of rare earth resources[J]. *Industrial Minerals & Processing*, 2023, 52(8): 75-82 (in Chinese).
- [56] 丘晓斌. 紫金山金铜矿生物提铜尾废资源再生初步研究[J]. *有色金属(冶炼部分)*, 2023(9): 122-125.
- QIU XB. Preliminary study on regeneration of bioleaching copper tailings from Zijinshan gold and copper mine[J]. *Nonferrous Metals (Extractive Metallurgy)*, 2023(9): 122-125 (in Chinese).
- [57] LIU QM, YU RL, QIU GZ, FANG Z, CHEN AL, ZHAO ZW. Optimization of separation processing of copper and iron of dump bioleaching solution by Lix 984N in Dexing Copper Mine[J]. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2008, 18(5): 1258-1261.
- [58] 邱冠周, 刘学端. 用生物技术的钥匙开启矿产资源利用的大门[J]. *中国有色金属学报*, 2019, 29(9): 1848-1858.
- QIU GZ, LIU XD. Biotech key to unlock mineral resources value[J]. *The Chinese Journal of Nonferrous Metals*, 2019, 29(9): 1848-1858 (in Chinese).
- [59] 陈功新. 相山铀矿微生物浸出试验及机理初步探讨[D]. 北京: 中国地质大学(北京)博士学位论文, 2012.
- CHEN GX. Microbial leaching test and mechanism of Xiangshan uranium mine[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China University of Geosciences, 2012 (in Chinese).
- [60] FU CL, XU M. Achieving carbon neutrality through ecological carbon sinks: a systems perspective[J]. *Green Carbon*, 2023, 1(1): 43-46.