

硝基还原假单胞菌诱导矿化碳酸钙及其固持 Cd²⁺机理的研究

左莹莹^{1,2}, 刘秀明^{2*}, 胡静娴^{1,2}, 臧淑艳¹

(1. 沈阳化工大学, 沈阳 110142; 2. 中国科学院地球化学研究所, 贵阳 550081)

摘要: 为了研究微生物对生物源碳酸钙 (BV) 的诱导矿化, 探索生物源碳酸钙矿物对重金属镉 (Cd) 的固持作用, 以硝基还原假单胞菌为研究菌株, 以 Ca(NO₃)₂ 为钙源, 在 LB 液体培养基中诱导碳酸钙形成。探讨了不同环境影响因子 (Ca²⁺ 质量浓度、时间、pH) 对生物源碳酸钙的诱导及其吸附 Cd²⁺ 性能的影响, 结合 SEM、XRD、FTIR 等表征手段, 对吸附机理进行了研究。结果表明: 硝基还原假单胞菌能够诱导矿化碳酸钙, 且 BV 对 Cd²⁺ 有良好的固持吸附性能。LB 培养基中 (pH=7), Cd²⁺ 初始质量浓度为 10 mg·L⁻¹、Ca(NO₃)₂ 的添加量为 5 g·L⁻¹, 在 30 °C 和 180 r·min⁻¹ 的条件下振荡培养 7 d, 诱导矿化与吸附效果最好, Cd²⁺ 的去除率能达到 98.99%。吸附机理研究表明: BV 对 Cd²⁺ 的吸附主要为物理吸附过程, 包括表面吸附及碳酸钙矿化过程中矿物晶格的固持作用。

关键词: 硝基还原假单胞菌; 诱导矿化; 碳酸钙; 镉污染; 吸附固持

中图分类号: O647.31¹ 文献标识码: A 文章编号: 1671-0460 (2021) 01-0090-06

DOI:10.13840/j.cnki.cn21-1457/tq.2021.01.021

Study on Induced Mineralization and Adsorption of Cd²⁺ by a Cd Tolerant Bacteria

ZUO Ying-ying^{1,2}, LIU Xiu-ming^{2*}, HU Jing-xian^{1,2}, ZANG Shu-yan¹

(1. Shenyang University of Chemical Technology, Shenyang 110142, China;
2. Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China)

Abstract: In order to study the induced mineralization of biologically derived calcium carbonate (BV) by microorganisms, and explore the retention of heavy metal cadmium (Cd) by biologically derived calcium carbonate minerals, pseudomonas nitroreducens was used as the research strain and Ca(NO₃)₂ was used as calcium source to induce calcium carbonate formation in LB liquid medium. The effect of different environmental factors (Ca²⁺ mass concentration, time, pH) on the induction of biological calcium carbonate and its adsorption performance for Cd²⁺ were discussed, combined with SEM, XRD, FTIR and other characterization methods, the adsorption mechanism was studied. The results showed that pseudomonas nitroreducing could induce mineralized calcium carbonate, and BV had good retention and adsorption performance for Cd²⁺. In LB medium (pH=7), the initial mass concentration of Cd²⁺ was 10 mg·L⁻¹, the amount of Ca(NO₃)₂ added is 5 g·L⁻¹, and the Shaking culture was carried out at 30 °C and 180 r·min⁻¹ for 7 d, the effect of induced mineralization and adsorption was the best, and the removal rate of Cd²⁺ reached 98.99%. The adsorption mechanism research results showed that the adsorption of Cd²⁺ by BV was mainly a physical adsorption process, which mainly included surface adsorption and the retention of mineral lattice during the process of calcium carbonate mineralization.

Key words: Heavy metals; Cadmium-resistant bacteria; Bio-mineralization; Carbonate; Adsorption

微生物参与下的碳酸盐矿物沉淀过程不仅可以固定大气中 CO₂, 减少大气 CO₂ 浓度和延缓温室效应^[1-2], 对历史文物的风化表面进行修复^[3], 碳酸盐矿物形成过程中的共沉淀原理还可能在治理被重金属污染土壤及水体方面发挥重要的作用^[4-5]。因此, 生物成因碳酸钙是材料、矿物、生物、化学和医学等领域一直备受关注的研究对象^[6]。

微生物诱导成矿的生物修复技术近年来发展较快, 但仍处于探索阶段^[7]。微生物矿化作用是一种

很普遍的自然现象^[8], 其实质是通过尿素分解菌分解尿素代谢原位诱导重金属碳酸盐的形成, 降低它们的生物有效性, 减少农作物对重金属的吸收和富集, 从而保障农田安全生产与人体健康^[9]。碳酸盐的微生物矿化作用在沉积碳酸岩盐的形成过程中发挥了重要作用, 并且对全球气候变化、元素地球化学循环和环境变迁产生了深远影响^[10-11]。近年来, 微生物诱导合成碳酸钙技术被成功地应用于重金属污染环境的修复。王新花^[12]等利用产尿酶菌诱导产生

收稿日期: 2020-11-02

作者简介: 左莹莹 (1995-), 女, 辽宁省铁岭市人, 硕士研究生, 研究方向: 环境地球化学。E-mail: zuoyingying95@163.com。

通信作者: 刘秀明 (1974-), 男, 研究员, 博士, 研究方向: 环境地球化学。E-mail: liuxiuming@vip.skleg.cn。

的碳酸钙矿物共沉淀去除 Pb²⁺, 去除率在 97% 以上; 王敏^[13]等利用产脲酶矿化菌株的酶化作用对水体中 Cd 进行矿化固定, Cd 的去除率最高可达到 85.50%。目前, 国内外对微生物诱导矿化碳酸盐技术修复重金属 Cd 污染的去除效果研究较多, 但是对微生物诱导矿化碳酸盐及其固持重金属的机理方面研究较少。因此本文以微生物-生物碳酸盐矿物-重金属体系为对象, 以实验室保存的由 Cd 污染土壤中分离筛选出的耐 Cd 优势菌——硝基还原假单胞菌为研究菌株, 以 Ca(NO₃)₂ 为钙源, 在 LB 液体培养基中诱导碳酸钙形成。通过对微生物诱导矿化碳酸钙的研究, 进一步探索生物源碳酸钙矿物对重金属镉(Cd)的固持作用, 以为重金属污染防治新技术的开发提供新思路 and 科学依据。

1 试剂与仪器

1.1 实验试剂

菌种: 硝基还原假单胞菌株, 实验室保存。

主要试剂: 胰蛋白胨(Thermo Fisher Oxoid)、酵母提取物(Thermo Fisher Oxoid)、NaCl(优级纯)、Ca(NO₃)₂·4H₂O(分析纯)、CdCl₂(分析纯), 0.1 mol·L⁻¹ HCl 和 NaOH 溶液, 超纯水。

液体 LB 培养基: 胰蛋白胨 10 g·L⁻¹、酵母提取物 5 g·L⁻¹、NaCl 10 g·L⁻¹, pH=7, 121 °C 高压灭菌 30 min。

1.2 实验仪器

pH 计(PHS-3C)、电子分析天平(BSA124S-CW)、高压蒸汽灭菌锅(SX-500)、超净工作台(SW-CJ-1FD)、恒温摇床(SK-Y-2102)、台式高速离心机(H1850)、粉晶 X 射线衍射仪(Empyrean)、双束扫描电镜(Scios)、傅立叶变换红外光谱仪(VERTEX 70V)、原子吸收分光光度计(PinAAcle 900F)。

2 实验方法

2.1 硝基还原假单胞菌对 Cd²⁺的吸附

选用 LB 液体培养基, 接种 2 环硝基还原假单胞菌至 200 mL LB 液体培养基中, 置于 30 °C、180 r·min⁻¹ 的摇床中培养 10 h, 制得菌种液。取 2 mL 上述菌种液接种到 100 mL 质量浓度为 10 mg·L⁻¹ 的 Cd²⁺ 的 LB 液体培养基中, 30 °C 和 180 r·min⁻¹ 下振荡培养 24 h 后离心, 收集上清液及沉淀物。利用原子吸收光谱仪分别测定上清液中 Cd²⁺ 的初始质量浓度和吸附后的质量浓度, 按下式计算 Cd²⁺ 的去除率(R):

$$R = (C_1 - C_2) / C_1 \times 100\% \quad (1)$$

式中: C₁、C₂—分别为上清液中 Cd²⁺ 的初始质量浓度和吸附后的质量浓度, mg·L⁻¹。

2.2 微生物诱导矿化纳米碳酸钙(BV)对 Cd²⁺的吸附

取干净的 250 mL 锥形瓶, 分别加入 100 mL LB 液体培养基(Cd²⁺ 10 mg·L⁻¹、Ca(NO₃)₂ 5 g·L⁻¹), 120 °C 高压灭菌 30 min。接入 2 mL 上述菌种液以进行碳酸钙的生物诱导矿化实验, 置 30 °C、180 r·min⁻¹ 的摇床中振荡培养 7 d 后离心(8 000 r·min⁻¹、15 min) 收集上清液及沉淀物, 利用原子吸收光谱仪分别测定上清液中 Cd²⁺ 的初始质量浓度和吸附后的质量浓度, 每个样品重复测定 3 次取平均值, 并按式(1) 计算 Cd²⁺ 的吸附率。并将所得沉淀置于 55 °C 烘箱中烘干至恒重, 用于 SEM、XRD、FTIR 分析。

2.3 不同影响因子对吸附效果及碳酸钙诱导矿化的影响

本文研究了不同 Ca²⁺ 质量浓度、时间、pH 等条件对生物源碳酸钙的诱导及其吸附 Cd²⁺ 性能的影响。实验方法同 2.2, 采用控制变量法, 分别设置时间(1、2、3、4、5、6、7、8、9 d), Ca(NO₃)₂ 添加量(1、2、5、8、10 g·L⁻¹), pH(2、3、4、5、6、7、8、9) 的实验组进行对照实验。

3 结果与讨论

3.1 不同 Ca²⁺ 的质量浓度对碳酸钙诱导矿化

设置不同 Ca(NO₃)₂ 添加量(1、2、5、8、10 g·L⁻¹) 的实验组, 以探讨 Ca²⁺ 质量浓度对碳酸钙诱导矿化的影响。将所得沉淀加入 5% HCl 观察是否有气泡产生, 结果发现 1 g·L⁻¹ 和 2 g·L⁻¹ Ca(NO₃)₂ 组有少量气泡产生, 5 g·L⁻¹、8 g·L⁻¹ 和 10 g·L⁻¹ Ca(NO₃)₂ 组气泡较为明显, 说明沉淀物中有大量碳酸钙存在。为了进一步证明这个结论, 对沉淀进行了 XRD 表征。XRD 结果表明, 随着 Ca(NO₃)₂ 添加量的增加(1~10 g·L⁻¹), 该菌诱导形成的碳酸钙可以逐渐由无定形碳酸钙(ACC) 转变为球霏石(图 1), 这充分说明硝基还原假单胞具有诱导合成碳酸钙的作用, Ca²⁺ 的质量浓度可显著影响生物源碳酸钙矿物结构的晶型。当 Ca(NO₃)₂ 的添加量为 5、8、10 g·L⁻¹ 时, 可以检测出晶态球霏石的存在。3 组产物 CaCO₃ 峰强度为 10 g·L⁻¹ < 5 g·L⁻¹ < 8 g·L⁻¹, 这表明 8 g·L⁻¹ 组矿化产物结晶度略高于 5 g·L⁻¹ 组和 10 g·L⁻¹ 组的产物, 这是因为吸收峰越尖锐, 说明矿化产物结晶度越好^[13]。在一定质量浓度范围内, 随着 Ca²⁺ 质量浓度的增加, 生成的 CaCO₃ 沉淀量也增加, 但当 Ca²⁺ 质量浓度过高, 生成 CaCO₃ 的质量反而降低, 可能是

由于过高的 Ca^{2+} 质量浓度制约菌体的生长, 从而影响 CaCO_3 的生成, 这与韩金鑫^[14]和竹文坤^[15]等的研究结果一致。

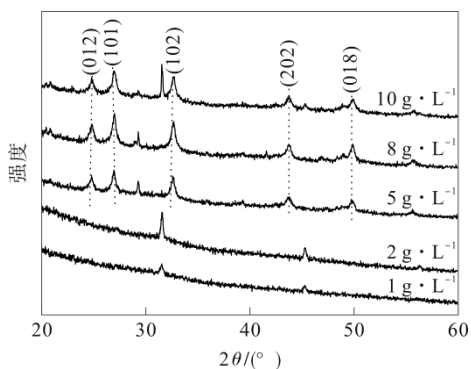


图1 不同 Ca^{2+} 的质量浓度对碳酸钙诱导矿化的 XRD 结果
Fig.1 XRD results of calcium carbonate-induced mineralization under different Ca^{2+} mass concentrations

3.2 不同 Ca^{2+} 的质量浓度对 Cd^{2+} 吸附的影响

不同 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 添加量对去除率具有重要的影响, 在 Cd^{2+} 初始质量浓度为 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 30°C 和摇床转速 $180 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下震荡 7 d, 探究了不同 Ca^{2+} 的质量浓度对 Cd^{2+} 吸附的影响。图 2 为微生物诱导矿化纳米碳酸钙过程中 Cd^{2+} 的去除率随不同 Ca^{2+} 的质量浓度的变化图。由图 2 可知, 随着 Ca^{2+} 质量浓度的升高 Cd^{2+} 去除率不断升高, 当 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 添加量为 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 去除率达到 98.94%, 此后添加量进一步增加为 $8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 吸附率逐渐趋于稳定。在 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 添加量少于 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, Cd^{2+} 的去除率很低, 这是由于 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 添加量少于 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时未形成 BV 或 ACC, 主要为菌体吸附。由此可见, 微生物诱导矿化纳米碳酸钙对 Cd^{2+} 的去除效果比单纯的菌体吸附好得多, 与纯粹的生物吸附相比, 基于微生物诱导合成碳酸钙技术对重金属的修复更具优势, 因为被细胞吸附的重金属在细菌死亡后会重新释放到环境当中, 而利用微生物诱导合成碳酸钙技术共沉淀的重金属, 不会因为细胞的死亡而再次进入环境当中^[12]。另外, 在培养液中添加适量 Ca^{2+} 可以缓解 Cd^{2+} 对菌体细胞毒害, 提高培养液中的 pH 值, 有利于重金属的去除^[16]。结合 XRD 结果和经济效益, 选择 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 添加量为 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为最佳矿化吸附条件。

3.3 吸附时间对 Cd^{2+} 吸附效果的影响

吸附时间对诱导碳酸钙矿化与去除率具有重要的影响, 在 Cd^{2+} 初始质量浓度为 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 的添加量为 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 30°C 和摇床转速 $180 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下研究了不同吸附时间对 Cd^{2+} 吸附效果的影响。由图 3 可见, BV 对 Cd^{2+} 的吸附在第 5 d 达到饱和, Cd^{2+} 的去除率已达到了 98.61%, 之后趋于平稳。这

可能是因为硝基还原假单胞菌在生长代谢过程中会促进周围微环境的 pH 值及水体中 CO_3^{2-} 的升高, 这是由细菌诱导产生的碳酸钙矿物及代谢产生的碱性物质导致的^[17-18]。3 d 时, pH 为 9, 达到 CaCO_3 矿化条件; 4 d 时, Ca^{2+} 由硝基还原假单胞菌诱导矿化完全形成球霏石。当吸附时间大于 6 d 时, Cd^{2+} 的去除率和溶液的 pH 趋于平衡, 为了确保反应达到平衡, 选择 7 d 作为本实验的最佳吸附与矿化时间。

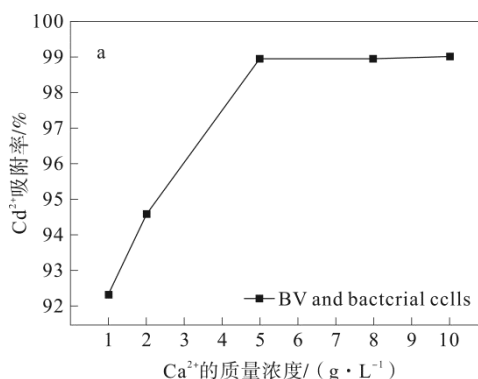


图2 不同 Ca^{2+} 的质量浓度对吸附 Cd^{2+} 的影响
Fig.2 The influence of different Ca^{2+} mass concentrations on the adsorption rate of Cd^{2+}

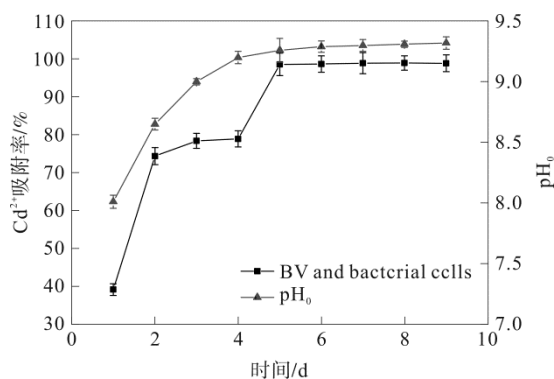


图3 吸附时间对 Cd^{2+} 吸附效果影响
Fig.3 The effect of adsorption time on the adsorption rate of Cd^{2+}

3.4 不同 pH 对 Cd^{2+} 吸附效果及碳酸钙诱导矿化的影响

pH 值是影响吸附剂吸附过程的重要参数^[19-20], 一般来说, pH 可以通过两种方式影响吸附剂的吸附能力: 通过影响表面电荷密度来促进或阻碍静电相互作用、通过影响离子交换或形成金属氢氧化物沉淀来影响水溶液中的金属离子浓度^[21-23]。为了探究不同 pH 对 Cd^{2+} 吸附效果及碳酸钙诱导矿化的影响, 在较宽的 pH 值范围内 (2~9) 进行了实验。结果表明, 当 $\text{pH} \leq 6.0$ 时, 微生物诱导碳酸钙过程中 Cd^{2+} 的吸附效率极低, 这可能是由于在酸性的条件下不适宜硝基还原假单胞菌的生长^[23], 同时酸性环境也不利于碳酸钙的稳定^[20]。随着 pH 升高, 其去除率

也增加, 在 pH=7.0 时, Cd²⁺的吸附率最高, 可达到 98.94%。此后 (pH > 7.0), 随着 pH 的进一步增加, 吸附率稍有降低并逐渐趋于稳定, 最终稳定在 93.29%。因此 pH=7.0 是本实验最佳条件。见图 4。

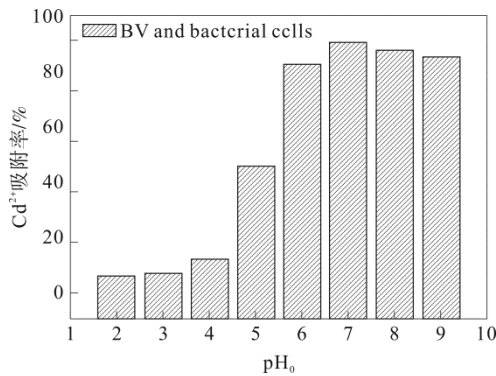


图 4 pH 值对吸附 Cd²⁺的影响
Fig.4 The effect of pH on the adsorption rate of Cd²⁺

3.5 吸附机理的研究

图 5 (a) 与图 5 (b) 分别为 BV 在吸附 Cd²⁺前后的 SEM 图。结果发现 BV 主要由微米级不规则和球状的颗粒聚集体组成, 矿化产物直径约 4 μm, 其表面粗糙、疏松多孔, 可形成聚集的球状多孔结构利于吸附; 吸附 Cd²⁺后 BV 表面孔隙变小, 表面较紧实细密, 但变化并不明显。

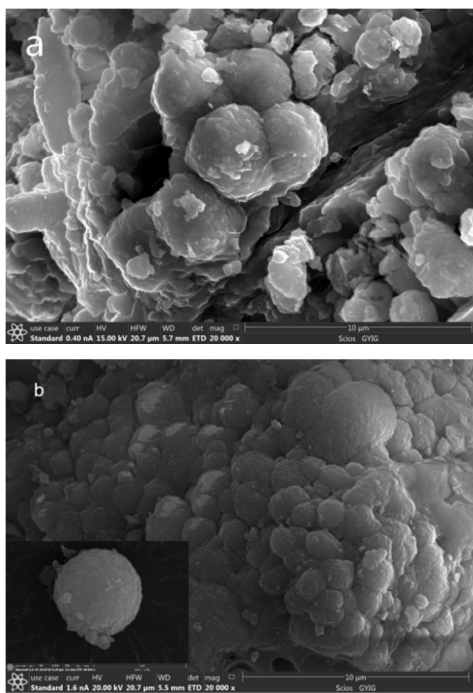


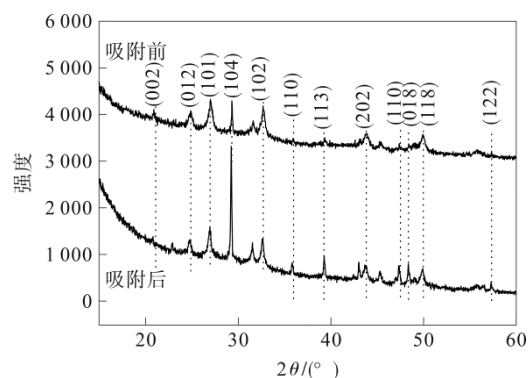
图 5 (a)吸附前(b)吸附后 BV 的 SEM 图
Fig.5 SEM images of BV (a) before adsorption (b) after adsorption

对吸附前后的碳酸钙沉淀制成粉末样品后进行

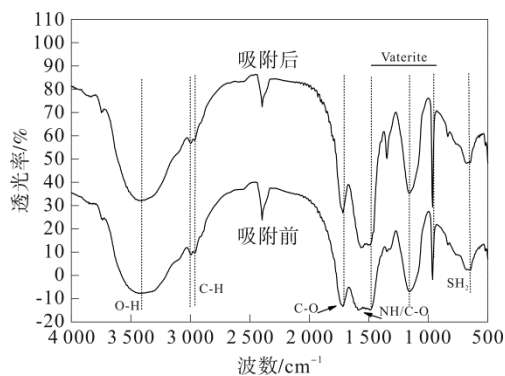
XRD 分析, 由图 6 (a) 可知, 对照 XRD 标准卡的有关数据, 吸附前后的样品出现方解石与球霏石特征峰, 其中方解石主要衍射角 $2\theta=23.0^\circ、29.4^\circ、35.9^\circ、39.5^\circ、43.1^\circ、47.5^\circ、48.5^\circ、58.5^\circ$, 分别对应 (012)、(104)、(110)、(113)、(202)、(018)、(118)、(122) 晶面; 球霏石主要衍射角 $2\theta=20.9^\circ、27.0^\circ、32.7^\circ、43.8^\circ、49.9^\circ、55.7^\circ$, 分别对应 (002)、(101)、(102)、(110)、(104)、(202) 晶面。吸附前后的碳酸钙样品晶型始终是方解石与球霏石的混合晶型, 说明 Cd²⁺并没有破坏吸附剂的晶体结构, 可能此过程是物理吸附。

图 6 (b) 为 FTIR 图谱, 其表明 BV 表面存在大量官能团, 如 O—H (3 400 cm⁻¹), C—H (2 970、2 930 cm⁻¹), C=O (1 650 cm⁻¹), NH—CO (1 515 cm⁻¹) 和 SH₂ (580 cm⁻¹) [24-26]。ACC 和球霏石的生物诱导矿化过程中结合了一些有机质, 最终形成了有机-无机矿物复合体结构。其中, OH、C=O、CO—NH、SH₂ 等对 H⁺具有很好的缓冲能力, 从而可使平衡溶液的 pH 值保持在一个相对稳定的范围, 有利于 Cd²⁺的吸附。BV 中所包含的有机质除了能够维持其结构的稳定性以外, 这些有机质所包含的有机官能团也能作为重金属离子的吸附位点 [27-28], 进而提升了 BV 的吸附能力。

BV 在吸附 Cd²⁺前后的 XRD 及 FTIR 图谱几乎没有变化, 只有个别峰的强弱发生了一些变化, 这表明它们对 Cd²⁺的吸附以物理吸附为主。基于上述分析, 初步推断出 BV 固持 Cd²⁺所涉及的吸附过程及机制: 首先, 菌体细胞可为碳酸钙的形成提供成核位点 [29-30]。随后, 越来越多的纳米碳酸钙颗粒与有机物结合, 聚集成稳定的球形核, 这些稳定的球形核随后作为球晶生长的核。由于 Ca²⁺阳离子与有机大分子之间存在强相互作用, 能够中和大分子表面电荷, 使分子间相互靠近形成团聚体 [31]。最后, 形成了具有众多不同大小的孔结构的材料。独特的多孔有机-无机矿物复合结构, 具有较大的比表面积, 可显著增加吸附位点数量, 从而促进了对 Cd²⁺的吸附或有利于 Cd²⁺进入矿物晶格而被稳定固持。



(a) XRD 图



(b) FTIR 图

图6 吸附前与吸附后的XRD图(a)和FTIR图(b)
Fig.6 XRD pattern (a) and FTIR pattern (b) before and after adsorption

4 结论

微生物的生长代谢及其诱导的生物矿化过程对重金属离子的迁移转化有重要影响。本实验研究了硝基还原假单胞菌诱导矿化碳酸钙对 Cd^{2+} 的吸附特性与吸附机理。结果表明,硝基还原假单胞菌能够诱导矿化碳酸钙,且 BV 对 Cd^{2+} 有良好的固持吸附性能。LB 培养基中 ($\text{pH}=7$), Cd^{2+} 初始质量浓度为 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 的添加量为 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 在 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $180 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下振荡培养 7 d, 诱导矿化与吸附效果最好, Cd^{2+} 的去除率能达到 98.99%。吸附机理研究结果表明,ACC 和球霏石的生物诱导矿化过程中结合了一些有机质,最终形成了有机-无机矿物复合体结构, BV 表面存在大量官能团,除了能够维持其结构的稳定性以外,也能作为重金属离子的吸附位点,进而提升 BV 的吸附能力。吸附前后的 BV 样品晶型始终是方解石与球霏石的混合晶型,说明 BV 对 Cd^{2+} 的吸附主要为物理吸附过程,包括表面吸附及碳酸钙矿化过程中矿物晶格的固持作用。本文为微生物诱导矿化纳米碳酸钙及重金属 Cd 污染的微生物固定修复提供了科学参考,但今后还需进一步对生物诱导矿化碳酸钙作为土壤或水中重金属的固定化或钝化介质等进行研究,展开生物诱导矿化碳酸钙固持重金属技术的实际应用。

参考文献:

[1] 周集体, 王竞, 杨凤林. 微生物固定 CO_2 的研究进展[J]. 环境科学进展, 1999, 7 (1): 1-9.
[2] 张刚生, 谢先德. CaCO_3 生物矿化的研究进展——有机质的控制作用[J]. 地球科学进展, 2000, 15 (2): 204-209.
[3] 李沛豪, 屈文俊. 细菌诱导矿化保护历史建筑遗产的机理及效果[J]. 硅酸盐学报, 2009, 37 (4): 497-505.
[4] MITCHELL A C, FERRIS F G. The Influence of *Bacillus pasteurii* on the Nucleation and Growth of Calcium Carbonate[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2006, 23 (3-4): 213-226.

[5] ACHAL V, PAN X, ZHANG D, et al. Bioremediation of Pb-contaminated soil based on microbially induced calcite precipitation[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 22 (2): 244-247.
[6] 冯庆玲, 侯文涛. 碳酸钙生物矿化的体外研究进展[J]. 清华大学学报(自然科学版), 2006 (12): 2019-2023.
[7] BHATTACHARYA A, NAIK S N, KHARE S K. Harnessing the bio-mineralization ability of urease producing *Serratia marcescens* and *Enterobacter cloacae* EMB19 for remediation of heavy metal cadmium (II)[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 215: 143-152.
[8] LV J J, MA F, LI F C, et al. Vaterite induced by *Lysinibacillus* sp. GW-2 strain and its stability[J]. *Journal of Structural Biology*, 2017, 200 (2): 97-105.
[9] 史作然, 单广波, 杨丽, 等. 土壤重金属污染修复技术综述[J]. 当代化工, 2020, 49 (8): 1812-1815.
[10] HAN J, LIAN B, LING H. Induction of calcium carbonate by *Bacillus cereus*[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2013, 30 (8): 682-689.
[11] LI H, YAO Q, WANG F, et al. Insights into the formation mechanism of vaterite mediated by a deep-sea bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3[J]. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2019, 256: 35-48.
[12] 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.
[13] 王敏, 赵兴青, 汤鼎, 等. 混合菌株诱导碳酸钙沉淀修复 Cd 污染水[J]. 环境工程学报, 2019 (7): 1541-1549.
[14] 韩金鑫, 连宾, 唐源, 等. 恶臭假单胞菌对碳酸钙的诱导矿化作用[J]. 南京大学学报(自然科学版), 2013, 49 (6): 681-688.
[15] 竹文坤, 罗学刚. 碳酸盐矿化菌诱导碳酸钙沉淀条件的优化[J]. 非金属矿, 2012 (3): 1-4.
[16] 何真真, 柴民伟, 魏远, 等. 氯化钙对互花米草累积及胁迫的影响[J]. 生态学杂志, 2013, 32 (6): 1571-1577.
[17] LIU R, GUAN Y, CHEN L, et al. Adsorption and desorption characteristics of Cd^{2+} and Pb^{2+} by micro and nano-sized biogenic CaCO_3 [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 41.
[18] LIU R, LIAN B. Non-competitive and competitive adsorption of Cd^{2+} , Ni^{2+} , and Cu^{2+} by biogenic vaterite[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 659: 122-130.
[19] MA X, LI L, YANG L, et al. Adsorption of heavy metal ions using hierarchical CaCO_3 -maltose meso/macroporous hybrid materials: Adsorption isotherms and kinetic studies[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 209 (1): 467-477.
[20] LING L, LIU W, ZHANG S, et al. Magnesium oxide embedded nitrogen self-doped biochar composites: fast and high-efficiency adsorption of heavy metals in an aqueous solution[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51 (17): 10081-10089.
[21] ZHOU Q, LIAO B, LIN L, et al. Adsorption of Cu(II) and Cd(II) from aqueous solutions by ferromanganese binary oxide-biochar composites[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 615: 115-122.
[22] JEFFERSON W A, HU C, LIU H, et al. Reaction of aqueous Cu-citrate with MnO_2 birnessite: characterization of Mn dissolution, oxidation products and surface interactions[J]. *Chemosphere*, 2015, 119: 1-7.
[23] MANIRETHAN V, RAVAL K, RAJAN R, et al. Kinetic and thermodynamic studies on the adsorption of heavy metals from aqueous solution by melanin nanopigment obtained from marine source: *Pseudomonas stutzeri*[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 214: 315-324.
[24] CHENG Y, Zhou F, LI S, et al. Removal of mixed contaminants crystal violet and heavy metal ions by immobilized stains as the functional biomaterial[J]. *RSC Advances*, 2016, 6 (72): 67858-67865.

(下转第 99 页)

- [11] 张晗, 赵云荣, 刘静, 等. 气相色谱法测定水中毒死蜱含量的不确定度评定[J]. 盐科学与化工, 2019 (9): 19-22.
- [12] 邵华, 刘肃, 钱永忠等. 气相色谱-质谱联用法测定乐果的不确定度评定[J]. 分析试验室, 2006, 25 (6): 84-87.
- [13] 李松, 饶竹, 黄毅等. 吹扫捕集-气相色谱-质谱法测定地下水中苯系物的不确定度评定[J]. 光谱实验室, 2010, 27 (2): 424-428
- [14] 鲁敏, 施敏芳, 李爱民, 等. 采用 Top-down 技术的控制图法评定水质中铅砷的不确定度[J]. 环境研究与监测, 2014 (2): 43-46.
- [15] 尹维翰, 齐衍萍, 孙培艳, 等. Top-down 测量不确定度评定在海洋环境监测领域的应用[J]. 海洋环境科学, 2013 (5): 138-140.
- [16] JJF 1135—2005, 分析化学测量不确定度评定 [S].
- [17] JJF 1059—1999, 测量不确定度评定与表示 [S].
- [18] ISO/IEC Guide 98-3: Uncertainty of measurement-Part 3: Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM1995) [S].
- [19] 中国实验室国家认可委员会. 化学分析中不确定度的评估指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2002.
- [20] 朱希希, 张祥志, 张宗祥. 预冷冻浓缩系统与气相色谱-质谱法测定空气中苯的测量不确定度评定[J]. 环境监控与预警, 2014 (6): 38-40.
- [21] 王汉民. 原子荧光法测定土壤中砷的不确定度评定[J]. 环境与生活, 2014 (6): 71-72.
- [22] GB/T 27407—2010, 实验室质量控制利用统计质量保证和控制图技术评价分析测量系统的性能[S].
- [23] National association of testing authorities. Guide lines for estimating and reporting measurement accuracy of chemical test results[M]. Technical Note 33, Australia: NATA, 2009.
- [24] 雷叶, 寇玉辉, 任水良, 等. Top-down 控制图法评定塑胶铅含量测量不确定度[J]. 工业计量, 2016 (2): 65-70.
- [25] 李卓. 利用统计控制图法对水质中铅的不确定度评定研究[J]. 环境科学与管理, 2013 (5): 138-140.
- [26] 黎艳. 采用 top-down 法评定化学需氧量测量的不确定度[J]. 计量与测试技术, 2015 (1): 57-58.
- [27] 徐呈豪. 基于纳氏比色法测定氨氮的两种不确定度评定方法的优劣比较[J]. 净水技术, 2019 (6): 25-28.
- [28] 陈建军. 采用统计控制图法评定水中石油类测定的不确定度[J]. 黑龙江环境通报, 2013 (4): 30-33.
- [29] 赵东敏. 库仑滴定法测定煤中全硫含量的不确定度评定(控制图法)[J]. 中国计量, 2014 (12): 71-73.
- [30] 孙海容, 杨元华, 曹实, 等. 采用统计控制图法评定检测结果测量不确定度[J]. 现代测量与实验室管理, 2012, 20 (3): 14-16.
- [31] 刘永志, 苏洛潮, 段星春. “Top-Down”的不确定度方法评定水中 TOC 的不确定度[J]. 环境与生活, 2014 (12): 254-256.
- [32] 董铮, 王琳, 田芳. 利用 top-down 控制图法评定库伦法测定煤中全硫的不确定度[J]. 环境监测管理与技术, 2013 (6): 64-66.
- [33] 叶秋明, 赵鉴, 曾次元. 两种不确定度评定方法在金属铈价态分析中的应用[J]. 分析仪器, 2015 (3): 70-76.
- [34] 刘弘炜. 化学检测实验室内部质量控制的实施及评价[J]. 一重技术, 2017 (3): 72-78.
- [35] 谭清, 刘璐, 刘勇, 等. 统计控制图法评定氨氮的连续在线监测测量不确定度[C]. 中国环境科学学会: 2017 中国环境科学学会科学与技术年会论文集(第三卷), 2017.
- [36] 雷叶, 寇玉辉, 任水良, 等. 用 Top-down 控制图法对测量塑胶中铅含量的不确定度评定[J]. 现代测量与实验室管理, 2015 (5): 29-33.
- [37] 戴秀丽, 张蕾. 控制图法评定连续流动分析法检测水中氨氮结果不确定度[C]. 中国环境科学学会: 2015 年中国环境科学学会学术年会论文集(第一卷), 2015.
- [38] 杨映华. Top-down 控制图法评定天然橡胶塑性值测量不确定度[J]. 橡胶工业, 2019, 66 (9): 708-711.
- [39] 狄一安, 孙海容, 孙培琴, 等. 用质控图和稳健统计-迭代法评估环境检测实验室测量不确定度[J]. 岩矿测试, 2014, 33 (1): 57-66.
- [40] 王晋宇, 赵辰, 陈玲瑚, 等. 湿法氧化法测定水中总有机碳不确定度的评定[J]. 化学分析计量, 2009 (6): 13-15.
- [41] 李玉武, 狄一安, 孙海容, 等. 用经验模型评估环境样品测量不确定度[J]. 中国无机分析化学, 2012, 2 (1): 1-8.
- [42] 朱希希, 程滢, 吴莹. 利用 top-down 线性拟合评定顶空气相色谱法测定水中卤代烃的不确定度[J]. 干旱环境监测, 2016 (2): 83-87.

(上接第 94 页)

- [25] QUINTELAS C, ROCHA Z, SILVA B, et al. Removal of Cd(II), Cr(VI), Fe(III) and Ni(II) from aqueous solutions by an E. coli biofilm supported on kaolin[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2009, 149 (1): 319-324.
- [26] ARGUN M E, DURSUN S. A new approach to modification of natural adsorbent for heavy metal adsorption[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99 (7): 2516-2527.
- [27] QUINTELAS C, ROCHA Z, SILVA B, et al. Removal of Cd(II), Cr(VI), Fe(III) and Ni(II) from aqueous solutions by an E. coli biofilm supported on kaolin[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2009, 149 (1): 319-324.
- [28] YUE Z B, Li Q, Li C C, et al. Component analysis and heavy metal adsorption ability of extracellular polymeric substances (EPS) from sulfate reducing bacteria[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 194: 399-402.
- [29] ALOSISI G, GLOTE A. Nucleation of calcium carbonate on bacterial nanoglobules[J]. *Geology*, 2006, 34 (12): 1017-1020.
- [30] GUO W, MA H, LI F, et al. Citrobacter sp. strain GW-M mediates the coexistence of carbonate minerals with various morphologies[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2013, 30 (8): 749-757.
- [31] 尹晓爽, 张慧, 杨文忠, 等. 一种假单胞菌诱导 CaCO₃ 结晶[J]. 应用化学, 2010, 27 (8): 911-915.