

3种常见细菌胞外特征有机酸对方解石的溶蚀研究

王建萍¹, 李琼芳¹, 董发勤², 张文静¹, 郭玉婷¹, 黄婷¹, 刘媛媛¹

(1. 西南科技大学 生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010; 2. 西南科技大学 固体废物处理与资源化教育部重点实验室, 四川 绵阳 621010)

摘要: 为了更深入地了解微生物与大气可吸入矿物细颗粒的作用机理, 实验以方解石($\text{PM}_{2.5}$)为研究对象, 采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)对硅酸盐细菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌胞外有机酸主要组分进行定性定量分析, 考察了细菌胞外有机酸对方解石的溶蚀效应。实验结果表明, 3种常见细菌的胞外有机酸主要组分有草酸、乳酸、柠檬酸和琥珀酸; 不同有机酸对方解石的溶蚀效应不同, 但均能不同程度地促进 Ca 离子的释放; 草酸、乳酸和琥珀酸对方解石发生作用后, 表现为颗粒失重, 而柠檬酸对方解石发生作用后, 导致其发生重结晶行为, 能改变方解石的表面形貌, 使残余固体呈纤维状; 在草酸和柠檬酸作用下, 残余固体表现出了对有机酸基团(如 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{C}-\text{C}$ 或 $\text{C}-\text{H}$)的吸附, 特别是柠檬酸在 $1600\sim500\text{ cm}^{-1}$ 区域。

关键词: 细菌; 胞外有机酸; 方解石($\text{PM}_{2.5}$); 溶蚀

中图分类号: P579; Q939.99

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2015)03-0387-06

A study of the dissolution of calcite by three common bacterial typical extracellular organic acids

WANG Jian-ping¹, LI Qiong-fang¹, DONG Fa-qin², ZHANG Wen-jing¹, GUO Yu-ting¹, HUANG Ting¹
and LIU Yuan-yuan¹

(1. Life Science and Engineering College, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China;

2. Key Laboratory of Waste Solid Treatment and Resource Recycle of Ministry of Education, Mianyang 621010, China)

Abstract: In order to thoroughly understand the mechanism between microbe and atmospheric inhaled mineral fine particles, the authors used calcite ($\text{PM}_{2.5}$) as the research object, and made qualitative and quantitative analysis of the main components of Silicate bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* extracellular organic acids by reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). On such a basis, the authors investigated the dissolution of calcite by bacterial organic acids. The results are as follows: The main organic acids components of three common bacteria include oxalic acid, lactic acid, citric acid and succinic acid; Different organic acids have different effects on dissolution of calcite: ① Several different organic acids can promote the release of Ca ions at different levels; ② Calcite exhibits the weight of grain decrease under the action of oxalic acid, lactic acid and citric acid, whereas recrystallization occurs under the action of citric acid, which also can change the surface morphology of calcite, making the residue exhibit fibrous form; ③ Under the action of oxalic acid and citric acid, the residue absorbs the organic acid groups (e.g. $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}-\text{C}$ or $\text{C}-\text{H}$), especially in the

收稿日期: 2014-10-22; 修订日期: 2015-02-09

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(41130746); 国家自然科学基金面上资助项目(41472309); 西南科技大学研究生创新基金(14ycx076)

作者简介: 王建萍(1988-), 女, 汉, 研究生在读, 研究方向: 环境微生物, E-mail: mywangjianping@163.com; 通讯作者: 李琼芳, E-mail: liqiongfang1992@126.com。

region $1\ 600\sim 500\text{ cm}^{-1}$ in citric acid.

Key words: bacteria; extracellular organic acids; calcite ($\text{PM}_{2.5}$); dissolution

大量研究表明,微生物可以通过其代谢产物来腐蚀碳酸盐岩石。马恒等(2009)认为是因为微生物表面以及胞外分泌物富含酸性基团,所以具有吸附和富集阳离子的能力。连宾等(2008)、Warscheid 和 Braams(2000)指出微生物通过代谢转化会对矿物产生溶蚀效应。有机酸是微生物代谢活动的重要产物之一,在微生物对碳酸盐的溶蚀过程中起着非常重要的作用。有关有机酸对碳酸盐作用的研究已经有 50 多年的历史(Harris, 1961; Chatelain *et al.*, 1976; Fredd and Fogler, 1998a, 1998b; Al-Khaldi *et al.*, 2007; Pokrovsky *et al.*, 2009; Oelkers *et al.*, 2011)。其中 Oelkers 等(2011)指出当 EDTA^{4-} 和柠檬酸的量大于 10^{-4} mol/kg 时,能显著增加方解石的溶解率;Perry 等(2004)、Burns 等(2003)、Barwise 等(1990)对方解石在有机酸中的溶解速率和阶跃速率的研究结果发现,酒石酸、海藻酸和天冬氨酸都能促进方解石的溶解。

近年来,随着城市化和工业化进程的加快,大气可吸入颗粒物污染日趋严重,严重影响着人类的身体健康。微生物个体也是重要超细颗粒物,与大气颗粒物在形态、共存状态和空气动力学上高度关联。大量研究表明大气颗粒物与微生物作用时,微生物自身的结构及其代谢活动会对矿物某些性质造成重大影响。目前有关微生物代谢活动中有机酸对大气颗粒物(其中方解石细颗粒为典型成分)作用的报道还不多。鉴于此,本文以方解石($\text{PM}_{2.5}$)作为研究对象,在测定 3 种常见细菌(硅酸盐细菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌)的胞外有机酸特征组分的基础上,模拟研究有机酸对方解石离子溶出情况、溶蚀率、表面基团及表面形貌的影响,从而探讨细菌胞外有机酸对方解石的溶蚀效果。实验结果对理解矿物细颗粒与微生物界面作用机制、微生物浸溶难溶矿物可提供一定理论基础,对建立可吸入矿物细颗粒环境和健康影响评价体系具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 方解石($\text{PM}_{2.5}$)的制备

方解石购自四川省宝兴县鑫磊实业有限公司,用 X 射线衍射光谱仪(XRD)没有检测到除方解石外

的其它物相,采用定量 X 射线荧光(XRF)光谱法测定其成分为 CaO 55.11%, MgO 0.54%, SiO_2 0.36%, Al_2O_3 0.36%, Fe_2O_3 0.19%, Na_2O 0.03%, K_2O 0.04%, MnO 0.06%, TiO_2 0.01%, P_2O_5 0.01%, SO_3 0.02%, LOI 43.7%, 由此可知方解石中 CaCO_3 的含量超过 98%。

方解石($\text{PM}_{2.5}$)制样时,研磨料球比为 1:3,浆料浓度为 40%,卧式行星磨(QM-3SP4J 型)(转速 30 Hz)研磨 90 min,将矿物洗出后,置于 40°C 烘箱中烘干,封装,待用,用马尔文激光粒度仪(LS13320 型)测定粒度,其中位径 D_{50} 为 $2.512\text{ }\mu\text{m}$,与 $2.5\text{ }\mu\text{m}$ 相接近,满足实验要求。

1.2 细菌培养和准备

硅酸盐菌株由中科院地球化学研究所连宾研究员提供(连宾, 1998; 连宾等, 2005);大肠杆菌 ATCC25922 购自卫生部临床检验中心;金黄色葡萄球菌由四川省绵阳四零四医院友情赠送。硅酸盐细菌采用无氮培养基培养(连宾, 1998),大肠杆菌和金黄色葡萄球菌采用普通牛肉膏蛋白胨培养基培养。

1.3 细菌胞外有机酸的表征

分别将 3 种细菌培养至稳定期,离心,收集菌体,用 0.85% 生理盐水清洗 3 次(排除培养基的影响)后悬浮在 20 mL 的 0.85% 生理盐水中振荡 8 h,离心,收集上清液,用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔过滤待用。

细菌胞外有机酸的测定参考文献(冯德明等, 2009; Kelebek *et al.*, 2009)中的方法并加以改进,采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)定性定量分析。色谱条件:美国 Agilent1260 高效液相色谱仪, ZORBAX SB-C₁₈ 柱($4.6\text{ mm}\times 150\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$);柱温 30°C ;以 $\text{pH}=2.45$ 的 3% CH_3OH -0.05 mol/L Na_2HPO_4 缓冲溶液作为流动相;流速为 1.0 mL/min;检测波长 205 nm;进样量 10 μL 。4 min 内 7 种有机酸得到了很好的分离,且标准曲线的线性相关系数都在 0.999 9~1.000 0 之间,说明线性关系良好。

1.4 有机酸对方解石的溶蚀实验

量取超纯水 50 mL 于 150 mL 锥形瓶中,加入 3 种细菌胞外液中检测到的几种含量较多的有机酸,振荡使有机酸完全溶解。方解石经紫外杀菌 12 h 后加入上述有机酸溶液中,使方解石的最终浓度为 8 mg/mL,测定溶液初始 pH 值后放置于恒温振荡培养箱

(25℃, 120 r/min)作用 7 d。在上述溶蚀实验中,以不添加有机酸为对照组,处理组和对照组均设置 3 次重复。实验结束后,测定最终 pH 值,过 0.45 μm 滤膜,用 ICP(Thermo iCAP6500 型)测定上清液中 Ca、Mg、Si 等元素的含量;下层沉淀用超纯水洗涤 3 次,40℃烘箱中烘干,称重,计算溶蚀率,并采用 FTIR(Spectrum One 型)分析残余固体表面基团、SEM(S440, Leica Cambridge LTD)分析残余固体表面形貌。

2 结果与讨论

2.1 细菌胞外有机酸分析结果

通过定性定量分析,3 种细菌能检测到的有机酸有 7 种,列于表 1,其中含量较高的有草酸、乳酸、柠檬酸和琥珀酸,故选取以上有机酸作为代表成分,研究对方解石的溶蚀作用,作用浓度分别为草酸15 mg/L、乳酸 20 mg/L、柠檬酸 500 mg/L 和琥珀酸 80 mg/L。

2.2 有机酸对方解石的溶蚀结果

有机酸对方解石的溶蚀效果分别从溶液的 pH 值变化(表 2)、离子溶出情况、溶蚀率、残余固体表面基团及其表面形貌进行分析。

表 1 细菌合成的有机酸种类及含量 mg/L

Table 1 Bacterial synthetic type and content of organic acids

有机酸	硅酸盐细菌	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌
草酸	13.394	15.38	13.879
酒石酸	/	4.023	/
苹果酸	/	11.984	13.661
乳酸	21.702	16.385	4.356
乙酸	/	/	2.341
柠檬酸	/	533.193	39.134
琥珀酸	/	3.077	80.017

表 2 有机酸作用体系中 pH 值变化情况

Table 2 pH value change in the organic acid system

	有机酸				对照组
	草酸	乳酸	柠檬酸	琥珀酸	
初始	7.50	7.68	4.57	6.71	9.85
7 d 后	8.21	8.05	8.40	7.74	8.29

2.2.1 溶液体系 pH 值的变化

由表 2 可知,对照组 pH 值下降了,是因为方解石在水溶液中的溶解度很小,在振荡过程中会发生小部分的溶解,而方解石属于强电解质,在水中溶解

的那部分会完全电离,即 $\text{CaCO}_{3(s)} = \text{Ca}^{2+} + \text{CO}_3^{2-}$ 。溶液中的 Ca^{2+} 会和水电离出的 OH^- 结合生成 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 微溶物,即 $\text{Ca}^{2+} + 2 \text{OH}^- = \text{Ca}(\text{OH})_2$,减少溶液中 OH^- 的浓度。同时 CO_3^{2-} 会和水电离出的 H^+ 结合生成 HCO_3^- ,即 CO_3^{2-} 。这是一个可逆反应,且 HCO_3^- 也显酸性,故溶液中 H^+ 浓度变化不大,而 OH^- 浓度减小,导致对照组 pH 值下降。4 种有机酸对方解石作用后,体系 pH 值均升高,溶液均达到弱碱性状态,可能原因推测为方解石的溶解仅发生在偏酸性环境,方解石的不断溶解会快速消耗溶液中的 H^+ ,使体系 pH 值不断升高,当 pH 值升高至一定值时,方解石不再溶解。其中,柠檬酸使体系 pH 值变化幅度最大,是因为柠檬酸属于三元羧酸,会电离出 3 个 H^+ ,与方解石作用强度最大。其它 3 种有机酸的 pKa 值一直小于体系 pH 值,说明它们在体系中一直带负电荷,会与方解石发生反应。表 2 中乳酸的 pH 值变化量最小,是因为乳酸属于一元羧酸,只能电离出 1 个 H^+ 。而草酸和琥珀酸均属于二元羧酸,草酸的酸性大于琥珀酸(因为草酸的结构中只有 2 个 COOH^- ,而琥珀酸的结构中除了 2 个 COOH^- 外,还多了两个烃基,因烃基的存在,使草酸的酸性大于琥珀酸),琥珀酸的 pH 值升高的更多,这可能与含量有关。

2.2.2 离子溶出结果

不同有机酸种类对方解石中 Ca、Mg 和 Si 离子的溶出效果不同(图 1)。由 pH 值变化情况可知,在 4 种有机酸作用下溶液中 pH 值均升高,Ca 离子浓度也会增加,在酸性条件下,方解石很容易溶解、消耗,同时溶出大量 Ca 离子,具体机制如下:

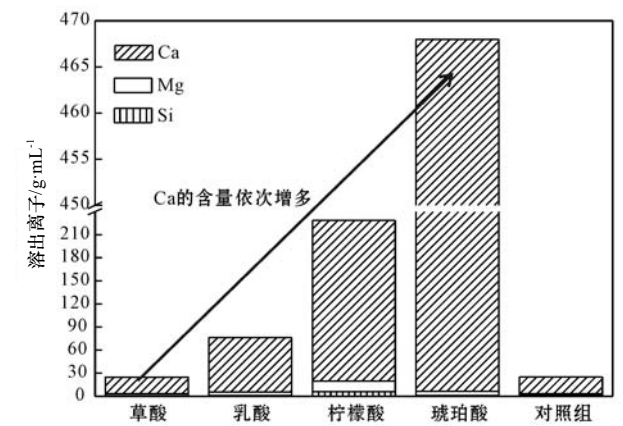
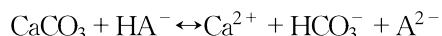
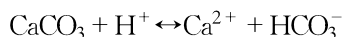


图 1 方解石在 4 种有机酸中元素溶出结果
Fig. 1 Dissolved ions of calcite after being dissolved in solution of four organic acids



这说明在柠檬酸作用下溶液中的 Ca 离子浓度应该最高,在柠檬酸作用下的溶液中 Mg 离子也最高。 Mg 离子的存在会导致较高浓度的钙,图 1 却表现出了溶液中 Ca 离子浓度为琥珀酸>柠檬酸>乳酸>草酸≈对照组。究其原因,是因为柠檬酸根更容易与 Ca 离子发生反应,生成难溶的柠檬酸钙沉淀,导致溶液中 Ca 离子浓度降低。在乳酸作用下溶液中的 Ca 离子浓度大于在草酸作用下的 Ca 离子浓度,是因为溶液中的 Ca 离子与草酸或草酸根离子会结合形成稳定的沉淀化合物,当溶液中 Ca 离子浓度达到沉淀浓度时,溶液中同时发生着溶解反应和沉淀反应。由上述可知,有机酸促进方解石溶解的机制主要有:①有机酸提供酸解方解石的质子,即酸溶作用;②与方解石中的金属阳离子(主要是 Ca 离子)形成金属有机复合物,即络合作用。

2.2.3 溶蚀率的计算

溶蚀率是指溶解后残余固体的质量减少量与固体溶解前质量的比值,计算公式如下:

$$\omega = (m_0 - m_1) / m_0 \cdot 100\%$$

式中, ω —溶蚀率, m_1 —溶解后残余固体质量(g), m_0 —溶解前方解石质量(g)。

4 种有机酸对方解石的溶蚀率结果如图 2 所示,草酸、乳酸和琥珀酸对方解石都发生了不同程度的溶解,表现为颗粒失重,溶蚀率越大, pH 值升高的也就越多,这与陈传平等(2008)的结果相一致。其中草酸、乳酸和琥珀酸的溶蚀率分别为 27.03%、19.63%、

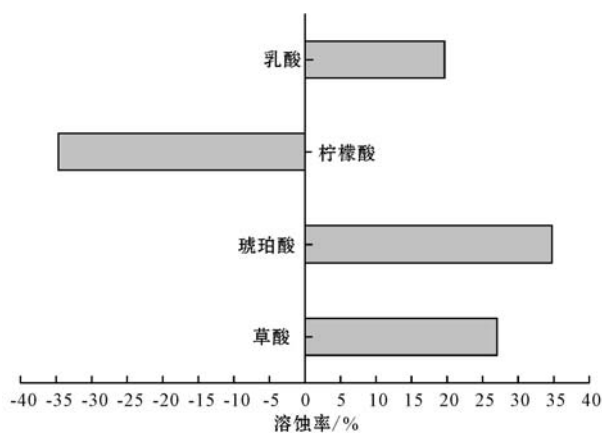


图 2 方解石经 4 种有机酸溶解后的溶蚀率

Fig. 2 Dissolution ratio of calcite after being dissolved in solution of four organic acids

34.75%,表现为琥珀酸>草酸>乳酸。琥珀酸的溶蚀率大于草酸主要有两点原因,一是由于草酸钙沉淀的生成;二是琥珀酸的含量大于草酸。草酸的溶蚀率大于乳酸,主要原因是草酸为二元羧酸,草酸或草酸根离子会与溶液中 Ca 离子结合生成沉淀,促使方解石发生溶蚀。对于柠檬酸作用下的方解石,因为柠檬酸钙难溶物的生成,残余固体质量甚至增加,溶蚀率为 -34.75%。这与上述离子溶出结果相一致。

2.2.4 FTIR 分析

FTIR 图谱中含有峰重叠的现象,为了更清楚地对红外谱图中的峰进行辨认,我们利用 Peakfit 软件对峰重叠区域($1000 \sim 1800 \text{ cm}^{-1}$)进行分峰拟合处理,拟合度均达 0.995。由图 3 可知,在乳酸和琥珀酸作用下的方解石的红外基团没有发生明显改变,而在草酸作用下,方解石在 1325 和 1485 cm^{-1} 峰位处有吸收,并在 1635 cm^{-1} 处的峰发生了红移。前者表明草酸中某些基团(如 COO^-)吸附到了方解石表面,或者是形成的草酸钙引起了振动;后者是草酸与方解石作用过程中有氢键形成。

方解石经柠檬酸作用后残余固体表面基团的 FTIR 分析结果如图 4a 所示。从图 4a 中可以看出,残余固体与方解石相比,表面基团发生了很大的变化,特别是在 $1600 \sim 500 \text{ cm}^{-1}$ 区域,其中 1543 cm^{-1} 的 $\text{C}=\text{O}$ 振动、 1189 cm^{-1} 的 $\text{C}-\text{C}$ 振动、 610 cm^{-1} 的 $\text{C}-\text{H}$ 伸缩振动等特征峰都证明了柠檬酸钙的生成。

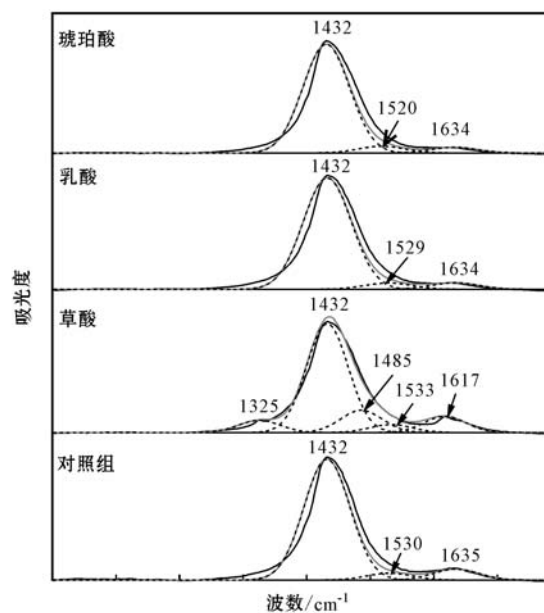


图 3 几种有机酸溶解方解石后残余固体的 FTIR 结果
Fig. 3 FTIR spectrum of calcite after being dissolved in several organic acids

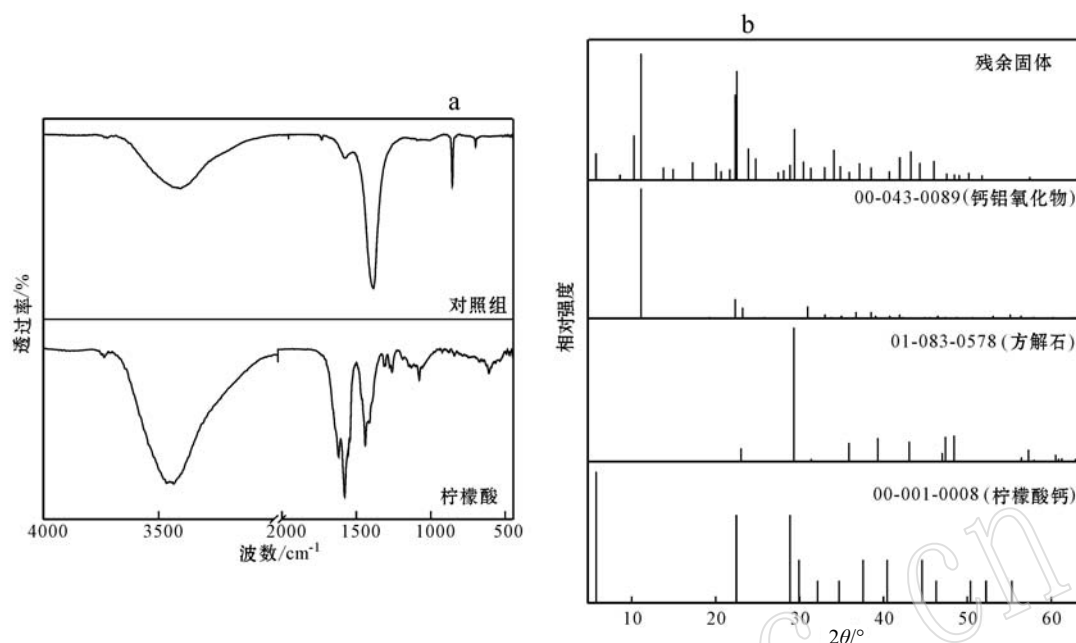


图4 柠檬酸溶解方解石后残余固体 FTIR 结果和 XRD 结果

Fig. 4 FTIR spectrum and XRD spectrum of calcite after being dissolved in citric acid

柠檬酸钙一般在方解石表面沉淀。利用 XRD 对残余固体进行分析,结果(图 4b)表明,最终的残余固体与方解石、柠檬酸钙和钙铝氧化物的图谱相匹配,说明生成的沉淀中确实有柠檬酸钙;并且随着反应的进行,溶液中 pH 值升高到一定程度时,方解石不能继续溶解,因此最终沉淀还含有方解石成分;钙铝氧化物的生成可能是在柠檬酸与方解石反应的过程中络合成的一种新的化合物,具体解释还有待进一步探讨。这一系列的变化都说明柠檬酸对方解石发生了溶解。

2.2.5 SEM 观察

对照组方解石颗粒(图 5)呈块状,且粒径分布较均匀,约 $2.5 \mu\text{m}$,在草酸、乳酸、琥珀酸作用下的方解石表面形貌与对照组相比未发生明显变化(图中未列出)。柠檬酸溶解方解石后,生成的柠檬酸钙呈独立纤维状生长,占据了方解石颗粒间的整个空间。此外还发现了片状化合物出现,可能是柠檬酸钙经溶解结晶生成的方解石或者是络合形成的钙铝氧化物,这与上述 FTIR 结果和 XRD 结果相一致。

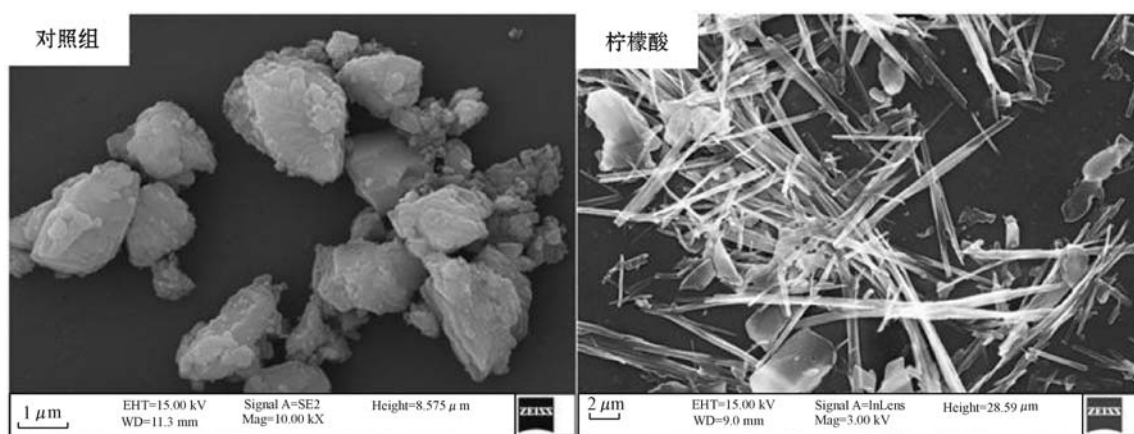


图5 方解石经柠檬酸反应后 SEM 形貌

Fig. 5 Morphology of calcite after being dissolved in citric acid solution

3 结论

(1) 3 种常见细菌的主要胞外有机酸有草酸、乳酸、柠檬酸和琥珀酸。

(2) 4 种有机酸对方解石细颗粒作用完后 pH 值均升高, 溶液中 Ca^{2+} 离子含量增加, Ca^{2+} 离子浓度为琥珀酸 > 柠檬酸 > 乳酸 > 草酸 \approx 对照组。

(3) 不同有机酸对方解石的溶解效果不同, 其中草酸、乳酸和琥珀酸对方解石颗粒都发生了不同程度的溶解, 表现为颗粒失重, 柠檬酸对方解石溶解后, 发生了重结晶行为, 并使残余固体呈纤维状。

(4) 在草酸和柠檬酸作用下, 残余固体表面发生了 COO^- 和 OH^- 或 C-H 基团的吸附, 尤其是柠檬酸在 $1\ 600 \sim 500\ \text{cm}^{-1}$ 区域。

References

- Al-Khaldi M H, Nasr-El-Din H A, Mehta S, *et al.* 2007. Reaction of citric acid with calcite[J]. *Chemical Engineering Science*, 62: 5 880~5 896.
- Barwise A J, Compton R G and Urwin P R. 1990. The effect of carboxylic acids on the dissolution of calcite in aqueous solution. Part 2-d, l-and meso-tartaric acids[J]. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 86(1): 137~144.
- Burns K, Wu Y and Grant C S. 2003. Mechanisms of calcite dissolution using environmentally benign polyaspartic acid: a rotating disk study[J]. *Langmuir*, 19(14): 5 669~5 679.
- Chatelain J C, Silberberg I H and Schechter R S. 1976. Thermodynamic limitations in organic acid/carbonate systems[J]. *Society of Petroleum Engineers Journal* August, 16(4): 189~195.
- Chen Chuanping, Gu Xu, Zhou Sumin, *et al.* 2008. Experimental research on dissolution dynamics of main minerals in several aqueous organic acid solutions[J]. *Acta Geologica Sinica*, 82(7): 1 007~1 012(in Chinese with English abstract).
- Feng Deming, Zhang Yang, Zhao Huiming, *et al.* 2009. Determination of organic acids in rice wine by reverse phase high performance liquid chromatography[J]. *China Brewing*, (3): 157~161(in Chinese).
- Fredd C N and Fogler H S. 1998a. The influence of chelating agents on the kinetics of calcite dissolution[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 204: 187~197.
- Fredd C N and Fogler H S. 1998b. The kinetics of calcite dissolution in acetic acid solutions[J]. *Chemical Engineering Science*, 53: 3 863~3 874.
- Harris F N. 1961. Application of acetic acid to well completion, stimulation and reconditioning[J]. *Journal of Petroleum Technology* July, 13(7): 637~639.
- Kelebek H, Selli S, Canbas A, *et al.* 2009. HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan[J]. *Microchemical Journal*, 91: 187~192.
- Lian Bin. 1998. A study on how silicate bacteria GY92 dissolves potassium from illite[J]. *Acta Mineralogica Sinica*, 18(2): 234~237(in Chinese with English abstract).
- Lian Bin, Chen Jun, Fu Pingqiu, *et al.* 2005. Weathering of silicate minerals by microorganisms in culture experiments[J]. *Geological Journal of China Universities*, 11(2): 181~186(in Chinese).
- Lian Bin, Chen Ye, Zhu Lijun, *et al.* 2008. Progress in the study of the weathering of carbonate rock by microbes[J]. *Earth Science Frontiers*, 15(6): 90~99(in Chinese with English abstract).
- Ma Heng, Li Fuchun, Su Ning, *et al.* 2009. Morphological evolution during the formation of carbonate spherulite in *Citrobacter freundii* culture[J]. *Geological Journal of China Universities*, 3(15): 429~436(in Chinese with English abstract).
- Okkers E H, Golubev S V, Pokrovsky O S, *et al.* 2011. Do organic ligands affect calcite dissolution rates? [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75: 1 799~1 813.
- Perry-Iv T D, Duckworth O W, McNamara C J, *et al.* 2004. Effects of the biologically produced polymer alginic acid on macroscopic and microscopic calcite dissolution rates[J]. *Environmental Science & Technology*, 38(11): 3 040~3 046.
- Pokrovsky O S, Golubev S V and Jordan G. 2009. Effect of organic and inorganic ligands on calcite and magnesite dissolution rates at 60°C and 30 atm p_{CO_2} [J]. *Chemical Geology*, 265: 33~43.
- Warscheid T H and Braams J. 2000. Biodeterioration of stone: a review[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46: 343~368.

附中文参考文献

- 陈传平, 固旭, 周苏闽, 等. 2008. 不同有机酸对矿物溶解的动力学实验研究[J]. *地质学报*, 82(7): 1 007~1 012.
- 冯德明, 张洋, 赵惠明, 等. 2009. 反相高效液相色谱法测定黄酒中的有机酸[J]. *中国酿造*, (3): 157~161.
- 连宾. 1998. 硅酸盐细菌 GY92 对伊利石的释钾作用[J]. *矿物学报*, 18(2): 234~237.
- 连宾, 陈骏, 傅平秋, 等. 2005. 微生物影响硅酸盐矿物风化作用的模拟试验[J]. *高校地质学报*, 11(2): 181~186.
- 连宾, 陈烨, 朱立军, 等. 2008. 微生物对碳酸盐岩的风化作用[J]. *地学前缘*, 15(6): 90~99.
- 马恒, 李福春, 苏宁, 等. 2009. *Citrobacter freundii* 作用下球状碳酸盐矿物的形态演化过程研究[J]. *高校地质学报*, 3(15): 429~436.