

利用微生物普查铜矿的研究*

裘荣庆 王大珍

(中国科学院微生物研究所, 北京)

一、前言

随着我国工农业生产的发展,国家急需勘探和开发大量铜矿。目前在普查上所用的水化学法及金属量测量法,操作较烦,同时其分析结果也受其他金属离子干扰;光谱法虽简便,但就我国目前情况看,由于仪器供应困难,也不便野外普查使用。为此开展了利用微生物普查铜矿的研究,以求得到简易正确的方法。

1957年苏联 Г. П. 斯拉夫尼娜^[1]曾就微生物普查矿床方面进行了室内试验,其结果说明是有可能的,但著者未进行野外普查。1961年苏联 Крамаренко, Л. Е. 等^[2]在 Джунгаро-Балхашский 成矿区的稀有金属矿床地下水中,调查了4种硫杆菌(*Thiobacillus thiooxidans*, *Th. thioparus*, *Th. ferrooxidans*, *Th. denitrificans*),并认为它们可用于硫化矿床的普查。

1939年 Jaallier^[3], M. M. 做了 Cu^{++} 对黑曲霉 (*Asp. niger*) 影响方面的全面总结,谈到 Cu^{++} 能促进孢子形成色素,并与之有一定的浓度比例关系,因而可利用它作微量铜的测定。 Cu^{++} 又抑制某些微生物的生长,对某种菌说,在既定的培养条件下,受抑制程度与基质中含 Cu^{++} 量有一定比例关系。借此,也可用作铜的测定。

据此,我们筛选了测定铜的指示菌,并应用于铜矿区及其外围的水和土样上,测定了其中的含铜量,结合采样布点,达到了普查效果。

二、材料与方法

(一) 筛选指示菌

由孢子变色及抑制角度出发,根据以下目的进行筛选:

- (1) 对铜具特异性,其它金属离子无干扰。
- (2) 具有快速、准确、灵敏度高的定铜能力。

筛选方法及结果如下:

1. 比色定铜指示菌的筛选:

根据文献^[3,4]记载及我们多次试验获知,某些霉菌,如 *Asp. niger* (黑曲霉) 培养在含微量铜的培养基中,孢子颜色有明显的改变,灵敏度很高,我们就该属霉菌百余株作了筛选试验。

于灭菌之普通察氏合成培养基(其成分为: NaNO_3 3.0 克, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 克, KCl 0.5 克, FeSO_4 .

* 本文地质方面承地质部水文地质工程地质研究所张锡根同志,微生物方面承本所齐祖调先生、吕人豪同志审查,仅此致谢。

本文 1963 年 9 月 13 日收到。

7H₂O 0.01 克, K₂HPO₄ 0.5 克, 蔗糖 30.0 克, 蒸馏水 1000 毫升, 洋菜 1.5—2% pH 6 左右) 内, 加入定量灭菌铜溶液 (CuSO₄ 按 Cu⁺⁺ 计算), 作成斜面 (或液体), 接入菌种, 于 28°—30℃ 培养 4—6 天, 观察孢子变色情况, 与对照比较, 筛出的比色定铜指示菌如表 1。

表 1. 比色定铜指示菌孢子的呈色程度与铜含量的关系

培养 天数	比色定 铜指 示菌	含铜量(毫克/升) 孢子 颜色	>0.03	0.02	0.01	0.009	0.008	0.007	0.006	0.005	对 照
4	寄生曲霉(3.124) (<i>Asp. parasiticus</i>)		黝 绿	草 绿		乳鸭黄(比对照稍绿)			乳鸭黄		乳鸭黄
	炭色曲霉 (3.284) (<i>Asp. carbonarius</i>)		黑	黑带微褐	黑 褐	炭 褐(比对照稍黑)			炭 褐		炭 褐
	黑曲霉 [*] (1.47) (<i>Asp. niger</i>)		黑	黑带微褐	黑 褐 (比对照稍黑)			黑 褐		黑 褐	
5	杂色曲霉 (1.22) (<i>Asp. versicolor</i>)		海 带 绿		潭水绿	蛋壳黄(比对照稍绿)			蛋壳黄		蛋壳黄
6	薩氏曲霉 (1.19) (<i>Asp. sydowi</i> , Bainier et sartory)		黝 绿	蓝 绿	浅 绿 (比对照稍绿)			淡 棕		淡 棕	

注: 孢子颜色是根据中国科学院编译出版委员会 1957 年出版的“色谱”一书判定的。

表 1 指出: *Asp. parasiticus* 等菌在含铜 0.03—0.007 毫克/升的培养液中, 孢子之呈色程度与含铜量成比例, 当铜含量大于 0.03 毫克/升时颜色不再有改变。其中寄生曲霉与炭色曲霉培养时间短, 灵敏度高。在对照培养及加铜培养时, 除杂色曲霉与薩氏曲霉孢子呈色在培养条件有所不同, 时有不稳定外, 其余指示菌孢子的呈色程度与铜含量的关系经 3 次以上试验, 获得稳定变色结果 (表 1)。其他铜矿中所有的伴生元素对这些菌株影响的试验表明: <100 毫克/升的 Fe⁺⁺⁺(Fe⁺⁺)、Zn⁺⁺、Pb⁺⁺、Mo⁺⁺、Ni⁺⁺、Mn⁺⁺、Co⁺⁺ 及 <1 毫克/升的 Ag⁺、As⁺⁺⁺ 对该菌孢子遇铜变色之反应无干扰, 其中 Mo⁺⁺、Zn⁺⁺、Pb⁺⁺ 浓度稍高亦无影响; 这些元素含量达 1 克/升左右时, 均抑制菌株生长, <1 毫克/升的 Zn⁺⁺ 及 Mo⁺⁺ 有刺激生长作用, 但不改变孢子颜色。从含腐植质多的样品试验还表明: 该菌孢子对铜的变色反应, 不受样品中有机物质含量的影响。根据地质资料得知, 矿水中金属离子均 <1.0 毫克/升, 土中之金属离子虽较高, 但经稀释后不影响微生物测定铜的可靠性。此外, 培养液中不需加缓冲液, 只要 pH 是微酸性, 对孢子呈色即无影响; 低于 pH 4 或碱性介质有否影响, 未曾试验。故上述指示菌株作为铜矿普查中测定铜的指示菌是完全合乎要求的。

这些指示菌株应保存在无铜的, 用双蒸馏水配成的察氏合成培养基斜面上、存放于冰箱中。

2. 抑制性定铜指示菌的筛选:

铜对某些微生物有抑制作用, 如前所述, 我们选用了 40 种细菌作了筛选。

首先, 将细菌合成培养液 [其成分为: 豆芽汁^{*}(20%) 10 毫升, 麦芽汁^{**}(10%) 20 毫升, NH₄NO₃ 1.0 克, K₂HPO₄ 0.8 克, MgSO₄·7H₂O 0.2 克, 蔗糖 50 克, 酒石酸 1.0 克, 缓冲液(0.1 M C₆H₈O₇) 2.61 毫升 + 0.2 M K₂HPO₄ 17.39 毫升, pH 7.2) 10 毫升, 蒸馏水 1000 毫升], 15 磅蒸汽灭菌 30 分钟后, 加定量的无菌铜溶液 (CuSO₄ 按 Cu⁺⁺ 计算), 摇匀, 接种各种细菌, 于 30°—32℃ 培养 2—3 天, 观察有无菌膜及培养液混浊程度并与对照比较, 筛出的定铜指示菌谱如表 2。

* 豆芽汁配制法: 将豆芽捣碎, 取 20 克, 加水 100 毫升, 水浸 1 天 (可放于冰库中)。

** 麦芽汁配制法: 取无粒带芽的麦根 10 克, 加水 100 毫升, 煮沸 1.5 小时, 过滤。

表 2 抑制性定铜指示菌的生长情况与含铜量的关系

指示菌	含铜量 (毫克/升)	6	5	4	3	2	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	对 照
枯草杆菌(1.108) (<i>B. subtilis</i>)	生长情况	-	--	-	-	-	-	-	±	+	++	++++	++++
马铃薯芽孢杆菌(1.199) (<i>B. mesentericus</i>)		-	-	-	-	-	-	+	++	++++	++++	++++	++++
枯草杆菌(1.88) (<i>B. subtilis</i>)		-	-	--	-	-	±	++	++++	++++	++++	++++	++++
放射形土壤杆菌(1.150) (<i>Agrobact. radiobacter</i>)		-	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

注：“++++”、“++”表示菌生长的程度；“-”表示不长菌。

表 2 指出, *B. subtilis* 等当在培养基中加入微量铜时有强烈反应, 筛出的菌谱可测出 0.5—1 毫克/升的铜量。其后, 将这些菌株进行了多金属间相互影响的试验, 经 3 次以上试验结果表明: <100 毫克/升的 Zn^{++} 、 Mo^{++} 、 Fe^{+++} (Fe^{++})、<10 毫克/升的 Ni^{++} 及 <0.1 毫克/升的 Ag^{+} 、 As^{+++} 对这些菌株测定铜无干扰作用, 超过此量或几种元素共存则有影响。

抑制性定铜法灵敏度不够高, 稳定性也较差, 含一定量之其他元素时又有干扰作用, 远不及比色定铜法有效, 故仅能起辅助作用。

(二) 野外采样工作

采样前, 先查阅工作矿区的地质资料, 以确定是采取水样还是土样以及采样方法; 同时准备好无菌细口瓶与纸口袋等采样用具。

水样可在酸性岩地区采取具有代表性之样品, 以地表裂隙水、泉水、井水为主, 兼在矿坑、钻孔及河流小溪、各沟谷大小支流上下采样, 以便于根据异常及地下水的流向, 圈出有希望的矿化地段。同时在矿区外围地区采样, 求得背景值, 以作比较。

缺水、少水或碱性岩矿区采取底土样(去掉表层的原生土, 无植物根者), 于矿区方格布点(或不规则但各点间距接近), 其密度视情况而定; 也可于水曾流经但已干涸之处无菌采取表土。

采样时将点位标于地形图上, 将样品编号并记录深度、水温、pH 值、土的污染情况等, 密封, 运至实验室进行分析。

(三) 样品处理

水样常压灭菌半小时, 用灭菌之酸或碱调 pH 至 6 左右, 备用。

土样磨碎过 120 号筛, 称 1 克于三角瓶中, 加 1:10 HNO_3 20 毫升, 加热回流(或加热至沸再煮半小时也可, 记下滤液量), 过滤, 滤液用碳酸钙中和, 再过滤, 取滤液常压灭菌半小时, 备用。

(四) 利用比色指示菌测定样品中含铜量

于普通察氏合成培养基斜面上, 接种上述筛选出之比色定铜指示菌株, 于 28° — $30^{\circ}C$ 培养 4—6 天。

将已灭菌的双倍浓度的察氏培养液, 加等量不同稀释度经处理之水样或土样水解液(稀释度视所需精确度事先确定比例, 用微酸性无菌水稀释之。在我们的试验中, 水样按 1/2、1/5、1/10、1/25 等比例稀释, 土样水解液按 1/100、1/500、1/1000 等比例稀释)。接种后于 28° — $30^{\circ}C$ 培养, 4 天后观察孢子颜色并记录结果, 每次均作对照。最后计算含铜量以 2 株加水样或土样水解液培养之指示菌, 和加已知含铜量培养的同一菌株作孢子色的比较, 以此铜量乘样品稀释度, 求得试样中实际含铜量。

(五) 利用抑制指示菌谱测定样品中含铜量

将灭菌的合成培养液与经前处理的样品按上比例混合, 接种筛选出之定铜指示菌谱, 30° — $32^{\circ}C$ 培

表 3 某细菌污染型铜矿废水中之含铜量及 pH 值

水样号	铜 厂 区															
	铜 厂								铜 厂 区							
pH 值	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
含 Cu ⁺⁺ 量(毫克/升)	6.7	4.1	3.9	3.4	3.0	4.4	3.8	3.9	4.4	3.1	3.8	4.8	7.0	3.1	4.4	6.6
微生物法测定	<0.0075	0.035-0.06	0.02-0.03	0.1-0.3	5.0-6.2	0.15-0.3	1.5左右	6.2左右	<0.5	5左右	5-6	0.6-0.9	0.4左右	0.6-1.5	0.5-0.7	>0.3
水化学法测定	<0.01	0.034	0.03	0.28	6.0	0.17	1.7	6.5	0.29	6.0	3.6	0.65	0.38	1.4	0.68	0.65

水样号	(续) 铜 厂 区															
	铜 厂								铜 厂 区							
pH 值	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
含 Cu ⁺⁺ 量(毫克/升)	7.0	4.3	4.7	3.9	4.6	3.6	5.0	4.1	7.0	3.6	6.9	7.0	3.6	4.5	3.5	4.0
微生物法测定	3.75-5.0	1-1.5	>0.45	<0.03	>0.3	0.2-0.35	0.15-0.3	0.06左右	<0.0075	0.03-0.1	<0.0075	0.018左右	3-5	4-5	4-5	<0.06
水化学法测定	4.7	1.6	0.52	0.032	0.56	0.28	0.52	0.064	<0.01	0.03	<0.01	0.018	3.7	4.5	5.6	0.025

水样号	(续) 铜 厂 区															
	铜 厂								铜 厂 区							
pH 值	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
含 Cu ⁺⁺ 量(毫克/升)	4.2	4.8	4.0	7.0	3.8	5.8	5.0	7.0	4.7	4.8	4.9	6.8	6.4	6.0	7.0	7.0
微生物法测定	0.2-0.35	0.5-1.0	0.04左右	0.06-1.0	>1.5	0.012左右	0.05-0.15	<0.0075	<0.0075	>0.15	<0.0075	<0.0075	<0.0075	<0.0075	<0.0075	<0.0075
水化学法测定	0.095	0.38	0.02	0.27	2.8	0.015	0.09	<0.01	<0.01	0.2	0.01左右	0.012	0.006	0.004	0.008	0.31

水样号	先 告 山 铜 矿 化 点															
	先 告 山 铜 矿								化 点							
pH 值	42	41	35	36	37	38	39	40	44	55	56	57	58	59	60	61
含 Cu ⁺⁺ 量(毫克/升)	5.0	6.8	4.9	4.4	4.4	4.1	4.1	6.9	5.1	6.6	6.6	6.7	6.6	7.0	7.0	6.7
微生物法测定	0.15-0.2	<0.0075	<0.03	0.3左右	0.3左右	0.06左右	5左右	<0.0075	<0.0075	0.012	<0.0075	<0.0075	<0.0075	<0.0075	<0.0075	<0.0075
水化学法测定	0.17	0.01	0.01	0.22	0.28	0.095	5.5	0.016	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

养 2—3 天,观察抑制程度,按抑制菌谱指示之铜浓度范围算出含铜量。

(六) 确定异常值和圈出矿体位置

原生矿体经风化后便产生扩散量。扩散量外的土样及未流经矿体的地下水样品中铜离子含量一般均很低,称为背景值;反之,便溶解有不同量的铜,产生异常值。

将测定结果标于取样图上,结合地质资料(如围岩性质、地下水流向等)及分析数据情况,定出背景值与异常值的高低,按异常值分布情况,圈出矿体或矿化点的位置。

三、结果与讨论

我们选择了我国主要的铜矿类型——细脉浸染型、含铜砂岩型、矽卡岩型、黄铁矿型及多金属含铜矿床等 5 个矿区,进行了微生物法普查研究,结果如下:

(一) 某细脉浸染型铜矿区的普查

在该矿的三个矿区及某地河水中共采取了 65 个水样,分别选用 3,124 及 3,284 号指示菌以微生物比色法及抑制菌谱法测定其中的含铜量。为了验证测定结果之正确性,同时用化学法^[5](打萨宗比色法)测定样品中的铜,结果如表 3 及表 4:

表 4 用抑制法测定某细脉浸染型铜矿区水中之含铜量

指示菌号		水样号 生 长 情况	对 照	铜 厂 铜 矿 区						
				5	31	65	14	23	32	34
		1.108	++++	—	—	—	+	++++	++++	++++
		1.199	++++	—	—	—	++++	++++	++++	++++
		1.88	++++	—	++	±	++++	++++	++++	++++
		1.150	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
含铜量 (毫克/升)	微生物抑制法			5.0—6.0	0.9—1.0	>1.25	0.87	<0.5	<0.5	<0.5
	水 化 学 法			6.0	5.6	2.8	1.4	0.52	0.025	0.38

指示菌号		水样号 生 长 情况	珠 砂 红 铜 矿 区				先 告 山 铜 矿 化 点			某 河	
			45	46	54	53	36	39	40	44	46
		1.108	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
		1.199	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
		1.88	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
		1.150	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
含铜量 (毫克/升)	微生物抑制法		<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	5.0左右	<0.5	<0.5	<0.5
	水 化 学 法		0.015	0.009	<0.01	0.008	0.22	5.5	0.016	0.01	<0.01

由表 3 可看出, 65 个样品中除 9、11、23 和 31 号等 4 个样品与化学分析数据略有差异外,其余极相吻合。

由表 4 可见,利用抑制铜菌谱测得之结果与化学法相类似,但也有误差大者(如 31 号),这可能是受样品中其他金属离子之干扰;同时灵敏度也不够高。

为了便于和地质队普查结果^[6]对比,确定找矿的异常值为 0.05 毫克/升,背景值为 0—0.02 毫克/升,结合采样位置,在地形图上定出了矿体及矿化点位置(图 1, 图 2)。

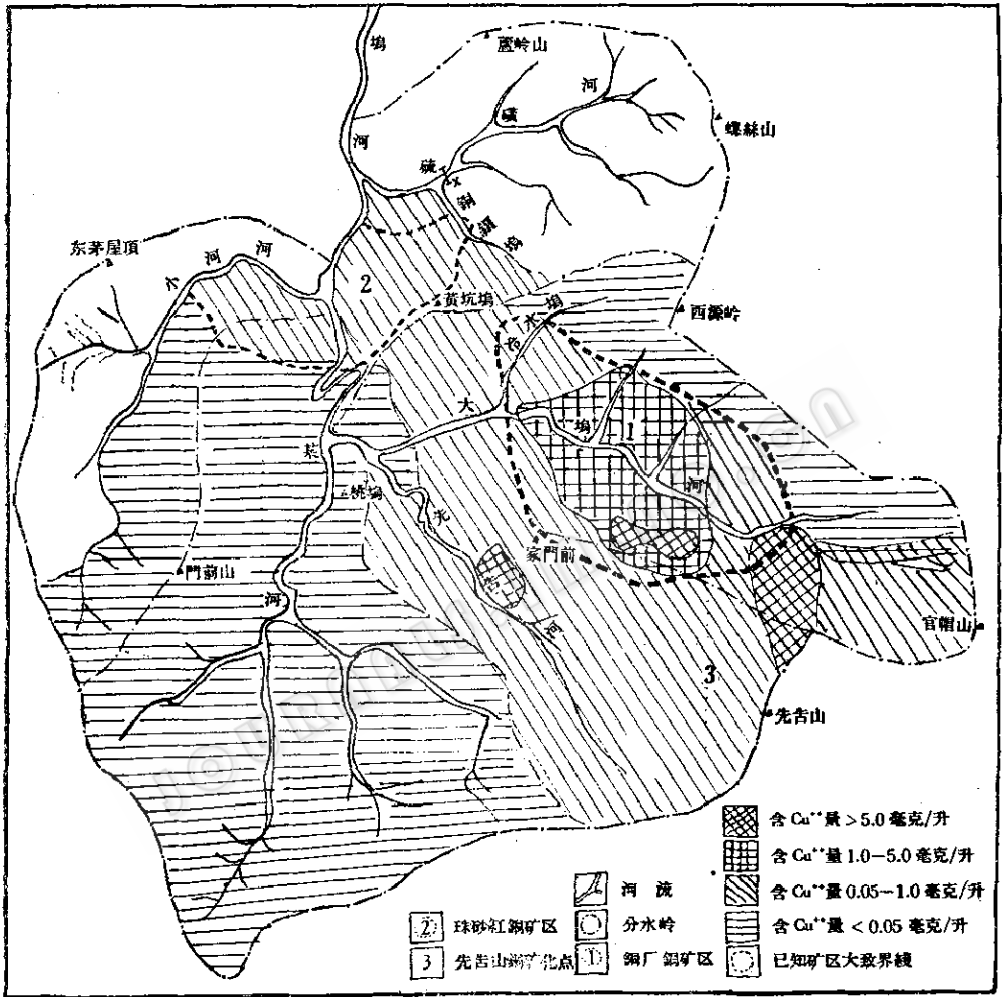


图 1 某细脉浸染型铜矿微生物法普查铜离子扩散晕图

由图 1, 2 看出,用微生物比色测定法普查结果与水化学法结果基本一致,与该矿区所属地质队普查结果也相吻合。唯珠砂红铜矿区未反映出高含量异常区,其原因主要在于铜锣塢、黄坑塢一带采样太小,无法确定异常分布规律,也就不足以肯定矿体之有无。

(二) 某含铜砂岩型铜矿区的普查

该矿区以辉铜矿为主,呈星点状或细粒浸染状分布。由于该矿没有巨大的断裂和破碎现象,岩层上为砂质页岩,一般不含水。因此我们在其中的东家村附近,采取了 90 多个土样,经前处理后用微生物比色法测定之,结果可明显看出背景值(定为 0.01—0.1 毫克/克)及异常值(定为 >0.6 毫克/克)的界线(图 3),实际上在异常值聚集地带已证实为有矿地区。

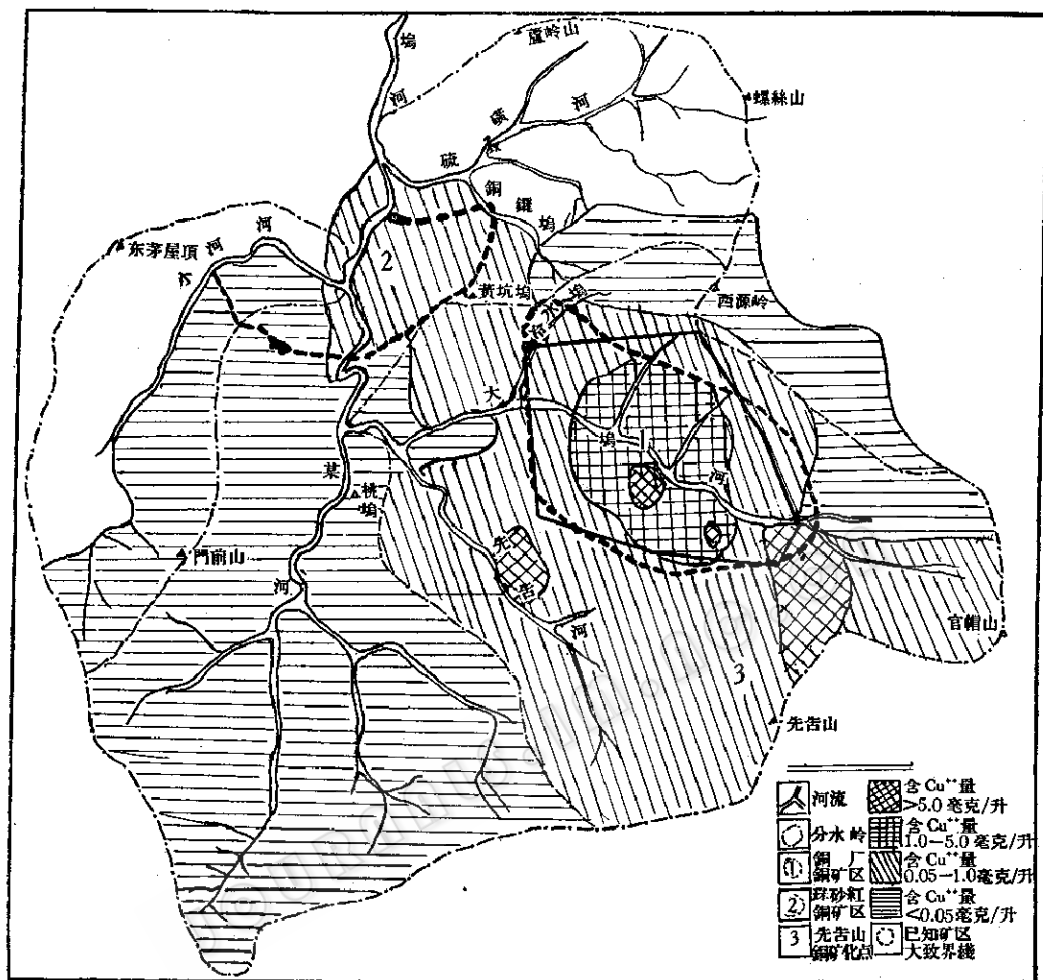


图2 某細脉浸染型銅矿水化学法普查銅离子扩散量图

(三) 某砂卡岩型銅矿区的普查

当我们至該矿区进行微生物法普查試驗时,这个矿区还在勘探中,矿体位置、走向及厚度等尚未查明。初步钻探表明,矿体位在某山东南与西面山坡砂卡岩和石灰岩接触的狭长带内,矿体长约 100 多米,寬約数米至 10 多米。我們采取了土样及水样共 55 个,于就地临时試驗室用微生物比色法测定了其中的含銅量,結果见图 4。

由图 4 可以看出,在該山东南及西面山坡各样含銅量較高,而北面各样品多在 0.01 毫克/克以下(即为背景值),此結果与初步勘探矿体之座落情况大致相似。

除以上 3 矿区外,我們还在某个多金属銅矿区及某个黃鉄矿型銅矿区进行了微生物法普查,也获得了与化学法及实际情况相似的结果。

以上表明:微生物比色法定銅的灵敏度为 0.01—0.007 毫克/升,已完全满足普查銅矿的要求!测定时又不受矿区中存在的最大浓度各金属离子的干扰。且本法較水化学法采样量少得多(每个样只需数毫升),大大有利于野外的大面积采样工作。所需之培养液可預先配制,全部样品一次接种,在此期間,工作人員完全可做其他工作,到菌株长好后,即可

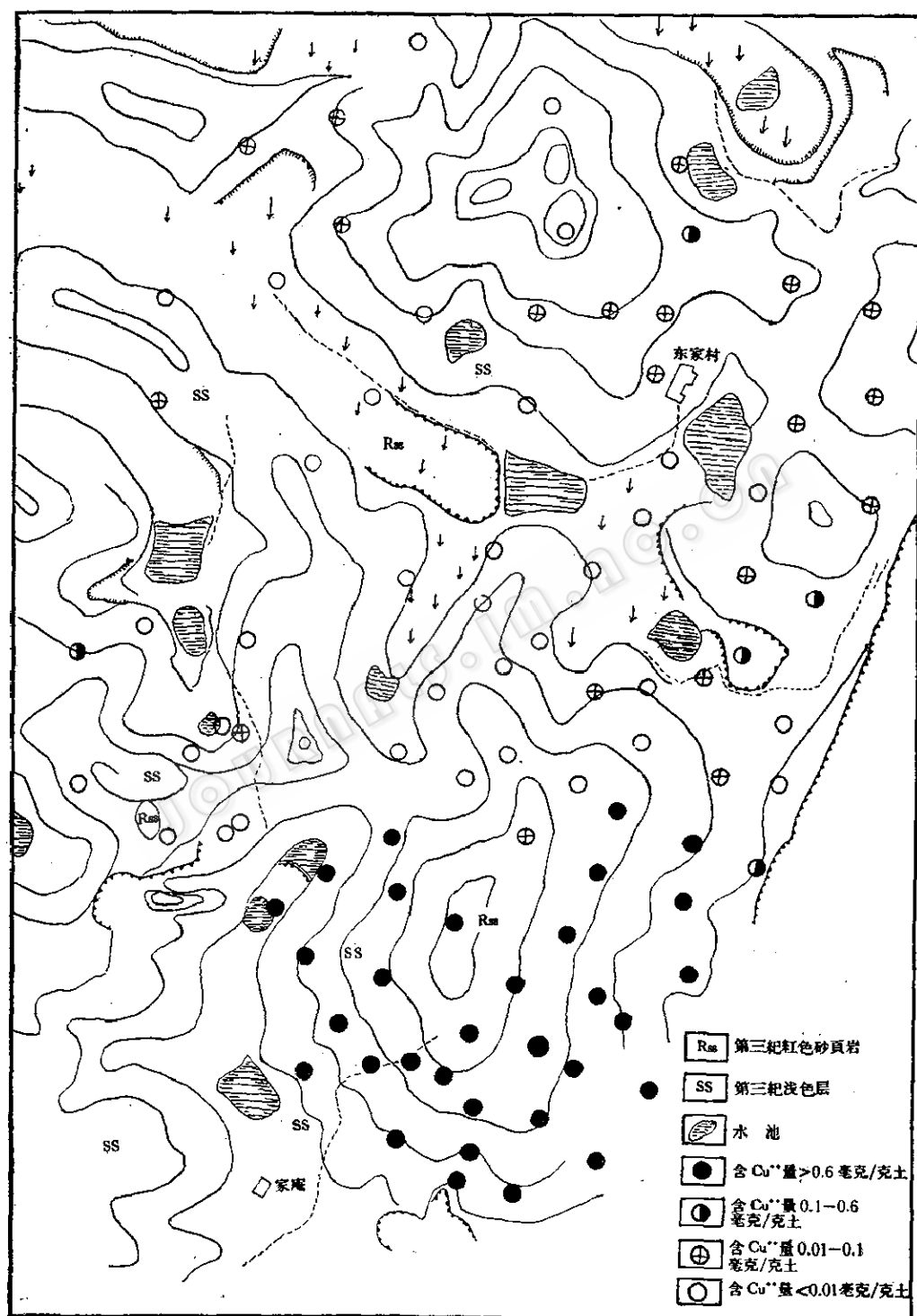


图3 某含铜砂岩型铜矿区微生物普查图

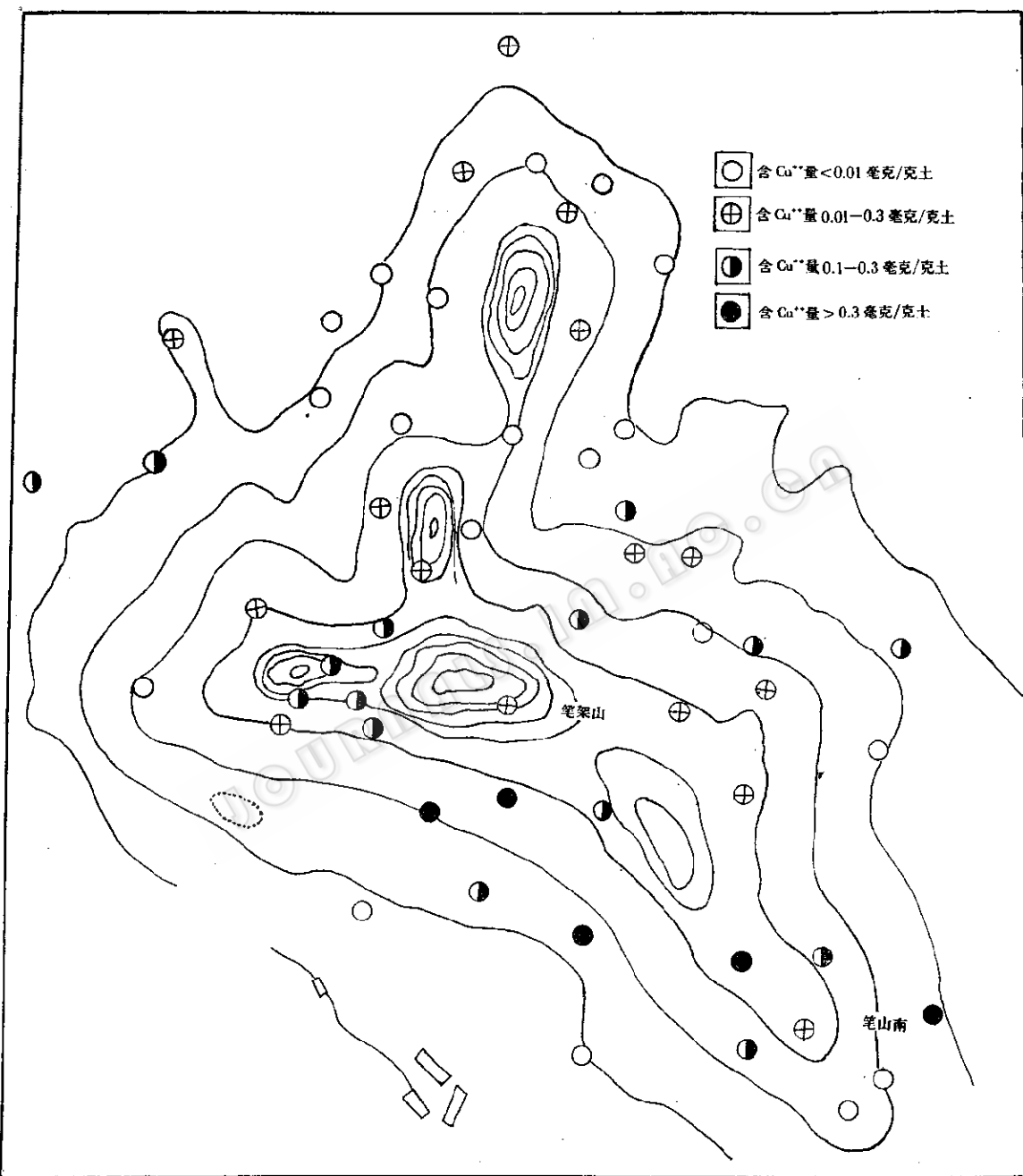


图4 某砂卡岩型铜矿区二山区微生物普查图

一次求得各样品中的含铜量;操作比较简便,也利于野外应用。

根据上述五个主要类型铜矿区微生物法普查结果得知,与水化学法、矿区实际情况及勘探结果均一致。因此我们认为微生物普查铜矿的方法是简易正确、具有实际应用价值的方法之一。

摘 要

1. 根据曲霉孢子的呈色深度与培养基中含 Cu^{++} 量成一定比例关系,从一百余种曲霉中筛选出 5 株作为定铜指示菌。当少量其他金属离子存在时,测得的 Cu^{++} 量不受影响,其结果与水化学法基本一致,灵敏度达 0.007 毫克/升。

2. 利用铜对细菌的抑制作用,由 40 余种细菌中筛选出一套抑制定铜指示菌谱,但测得的结果易受其他金属离子干扰,灵敏度较差,仅适用于土样含 Cu^{++} 量的测定。

3. 按照上述方法普查了 5 种主要类型铜矿区,所圈定的矿体或矿点和水化学法普查及已勘探结果相符合,故可作为铜矿普查方法。

参 考 文 献

- [1] Г. П. 斯拉夫尼娜:地质月刊,1959. 2.
- [2] Крамаренко, Л. Е., Теденькова, Р. И. и Призренова, И. И. Материалы порегиональной и поисковой гидрогеологии, 83—92, 1961.
- [3] Jarillier, M. M.: Annales des Fermentation, 5: 371, 1939—1940.
- [4] Foster, J. W. Chemical Activities of Fungi. 251—281, 1949.
- [5] 地质部物探所化验室:化学与勘探,1959.
- [6] 邵克忠等:地质与勘探,4, 6—13, 1959; 9, 3—8, 1959.

1) 根据地质部水文地质工程地质研究所水化学组建议,所采样品如系非酸性水,需及时加 HCl 酸化,以免铜离子沉淀。

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОИСКОВ МЕДНЫХ РУД

Цю Юн-пин Ван Да-чжэнь

(Институт микробиологии АН Китая, Пекин)

1. На основании того, что проявляющийся оттенок споры аспергиллов находится в определенном отношении с количеством меди в средах, были избраны пять культур из более ста культур аспергиллов в качестве индикаторных микроорганизмов для измерения меди, на которые не влияет наличие других ионов металлов. Полученные результаты соответствуют результатам гидрохимического метода, и чувствительность достигается до 0,007 мг/л.

2. С помощью бактериостатичности меди был выбран набор индикаторных бактерий из более 40 штаммов бактерий. Однако другие ионы металлов мешают результату измерения, и чувствительность данного метода хуже. Его целесообразно применять лишь для измерения меди, содержащейся в почвах.

3. Предыдущий метод был применен на пяти основных типах меднорудных месторождений и обведенное месторождение или место металлизации совпадает с результатами поисков гидрохимического метода. Поэтому данный метод может быть применен как способ для поисков медных руд.