

黄铁矿的细菌氧化

钟慧芳 蔡文六 李雅芹

(中国科学院微生物研究所, 北京)

本文研究了氧化亚铁硫杆菌 (*Thiobacillus ferrooxidans*, T-M) 菌株在黄铁矿 I 和 II 上的生长和氧化的效果。用粒径-300 网目的矿粉, 进行了 5% 矿浆浓度的摇瓶浸出试验, 获得细胞量 10^1 — 10^7 个/ml, 浸出铁分别为 18.9 g/L 和 18.6 g/L, 比无菌对照快 56—60 倍, 说明黄铁矿只靠空气化学氧化极其缓慢。浸出的铁和生成硫酸量的计算值与化学理论值基本相似。扩大矿石粒径至 -20 mm, 用矿量 20 kg 的柱式细菌连续浸出近一年的结果表明, 浸出铁速度稳定在 0.6—1.5 g/L/d, pH 值下降至 0.95—1.0 的最佳水平。最佳浸出 pH 为 2.0, pH 范围 1.0—5.0。适应菌株 T-py 在黄铁矿上生长比原始菌 T-M 的生长迟缓期缩短, 加速了铁的浸出和硫酸产生的速度。在黄铁矿浸出系统中, 未发现元素硫存在。此文还讨论了细菌氧化黄铁矿的机制。

关键词 细菌浸矿; 氧化亚铁硫杆菌; 黄铁矿细菌氧化

四十年来, 许多学者研究证明^[1-6]化能自养型细菌硫杆菌属 *Thiobacillus* 的氧化亚铁硫杆菌 (*T. ferrooxidans*) 和氧化硫硫杆菌 (*T. thiooxidans*) 具有加速金属硫化矿床和煤矿床中伴生的金属硫化物和黄铁矿的氧化作用, 导致酸性矿水的形成和矿床破坏, 造成金属矿产资源的流失。因此, 对金属硫化矿物和黄铁矿的生物氧化研究, 不仅充实了生物地球化学的理论, 同时在应用实践中具有重要意义。Silverman^[7] 通过用氧化亚铁硫杆菌的无铁活性细胞对处理掉可溶性铁的黄铁矿的氧化, 探讨了黄铁矿的细菌氧化机制。Norio Wako 等人^[8-10] 研究发现氧化硫硫杆菌能参与氧化亚铁硫杆菌氧化黄铁矿的系统, 提高了氧化亚铁硫杆菌氧化黄铁矿的效果, 认为是氧化硫硫杆菌排泄的有机物质对氧化亚铁硫杆菌和固体颗粒之间的直接相互作用, 起着一种生理-生化的作用。

本文主要报导氧化亚铁硫杆菌对黄铁矿的氧化作用, 并讨论其氧化机制。

材料与方 法

(一) 矿石和样品制备

用于试验的黄铁矿 I (采自湖南省桃江县) 和黄铁矿 II (采自陕西省略阳县) 的化学成分分析于表 1。用于细菌培养, 摇瓶浸出试验的黄铁矿样磨碎至 -300 目。用于柱式细菌浸出的黄铁矿 II 破碎至粒径为 20 mm。

(二) 菌株

所用的原始菌株 T-M, 是从中国某一矿区酸性矿坑水中分离, 经鉴定为氧化亚铁硫杆菌 (*Thiobacillus ferrooxidans* T-M)^[11]。原始菌株 T-M 利用黄铁矿作能源基质培养近一年的适应菌株: 简称 T-py 菌株。

(三) 培养基和培养条件

采用 Leathen 培养基^[12]培养细菌。两种能源基质: 硫酸亚铁 100 g/L 和 -300 目黄铁矿矿粉, 矿浆浓度 5%。两种能源基质与无机盐培养基按比例配制, 分开灭菌。硫酸亚铁溶液用灭菌的 G-5 玻璃漏斗过滤灭菌。黄铁矿粉用间歇灭菌法灭菌。两种培养物的接种量分别为 10%, 然

本文于 1986 年 5 月 21 日收到。

表 1 黄铁矿样品的化学分析

Table 1 Chemical analysis of pyrite sample

样品 Sample	化学成分 Chemical composition (%)									
	Fe	S	Cu	SiO ₂	Zn	Pb	As	Sb	MgO	CaO
黄铁矿 I Pyrite I	37.90	41.92	0.199	10.85	0.333	0.10	0.008	0.001	0.18	0.10
黄铁矿 II Pyrite II	37.56	43.04	0.280	14.43	1.460	0.12	0.076	0.015	1.13	0.06

后置 30℃ 旋转摇床 (150—180r/min) 上培养。

(四) 细菌对黄铁矿的氧化

1. 摇瓶浸出: 首先制备无铁细胞悬液, 将培养好的 T-M 菌株的活性细胞硫酸高铁培养液和 T-py 菌株的活性细菌黄铁矿培养液, 分别以 10000—13000r/min 离心 25 分钟, 用 pH2.0 稀硫酸液洗涤沉淀物, 离心, 重复三次。将沉淀物悬于稀硫酸中, 静置, 将上层悬浮液离心得白色菌体沉淀物, 按所需浓度制备成无铁细胞悬液备用。取新鲜无铁无机盐培养基 90 ml, 加入已灭菌的含 5 g 黄铁矿矿粉的 250 ml 三角瓶中, 接入无铁细胞悬液 (作为种菌液) 10 ml, 最终矿浆浓度 5%。无菌对照中加入 0.2g 硫酸汞作抑制剂。浸出前将摇瓶称重记录, 然后置于 30℃ 摇床上培养浸出。定时取下称重。用蒸馏水补充蒸发水份, 静置 20 分钟, 取样分析总铁、亚铁、高铁和硫酸根等。

2. 柱式浸出: 在两个内径 15 cm、高 1 m 的有机玻璃柱内, 装入 20 Kg 黄铁矿 II (矿石粒径 -20 mm), 加入无铁新鲜培养基 4.5 L, 按接种量 10%, 加入 T-py 黄铁矿培养液 0.5 L, 淹没通气浸出。

(五) 分析方法

用重铬酸钾容量法测定铁; 铬酸钡容量法测定硫酸根; 用国产 ZD-2 型酸度计测定 pH; 用 Tomas 血球计数器计细胞数。

结 果

(一) 细菌对黄铁矿的氧化作用

黄铁矿 I 和 II 的细菌浸出摇瓶试验结果 (图 1, 图 2) 表明, 细菌浸出初始 pH 5.0, 在 10 天生长迟缓期中, 细菌生长和铁的浸出速度都较缓慢, 进入生长对数期, 细

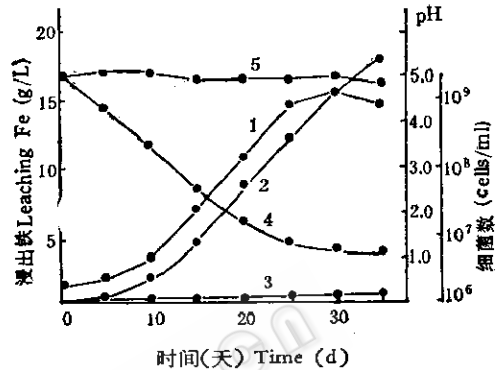


图 1 *Thiobacillus ferrooxidans* T-M 对黄铁矿 I 的氧化

Fig. 1 Oxidation of pyrite I by *Thiobacillus ferrooxidans* T-M

1. 细菌数 Bacterial counts
2. 可溶性铁, 接种 Soluble iron, inoculated
3. 可溶性铁, 无菌对照 Soluble iron, sterile control
4. pH, 接种 Inoculated
5. pH, 无菌对照 Sterile control

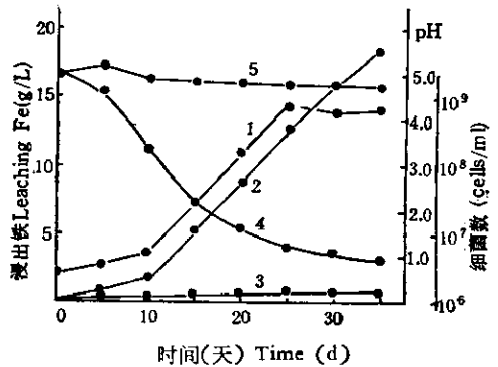


图 2 *Thiobacillus ferrooxidans* T-M 对黄铁矿 II 的氧化

Fig. 2 Oxidation of pyrite II by *Thiobacillus ferrooxidans* T-M

1. 细菌数 Bacterial counts
2. 可溶性铁, 接种 Soluble iron, Inoculated
3. 可溶性铁, 无菌对照 Soluble iron, sterile control
4. pH, 接种 Inoculated
5. pH, 无菌对照 Sterile control

胞迅速增加, 分别高达 8×10^8 个/ml 和 9×10^8 个/ml。浸出的铁量随细菌的生长呈直线上升, 与细菌生长曲线平行。浸出 35 天时, 浸出的铁量分别为 18.9 g/L 和 18.6 g/L, 比无菌对照分别快 60 和 56 倍。浸出液的 pH 值在培养一开始就迅速下降, 35 天时 pH 分别达到 0.9 和 1.0。

矿的重要因子之一, 分别配成初始 pH 1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0 和 6.0 共八组新鲜培养基, 加入黄铁矿粉, 接入无铁细胞悬液, 最终矿浆浓度 5%, 摇瓶培养结果 (图 4) 表明, 除 pH 1.0 和 6.0 外, 在其他 pH 条件下都能有效地浸出黄铁矿, 最佳 pH 为 2.0。

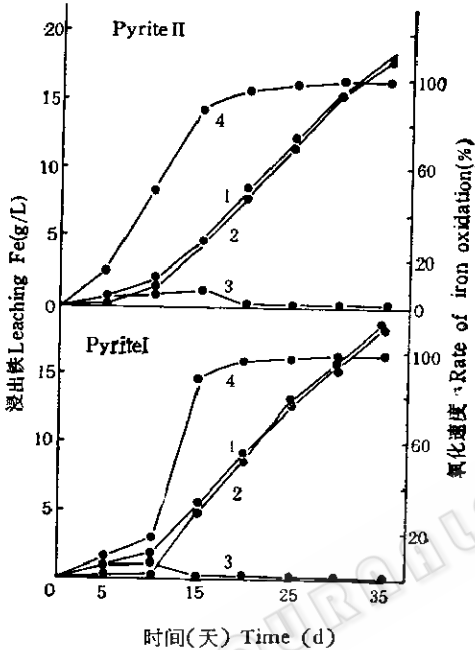


图 3 *Thiobacillus ferrooxidans* T-M 菌株在黄铁矿 I 和 II 上的生长和亚铁氧化的关系
Fig. 3 The relationship between ferrous iron oxidation and the growth of *Thiobacillus ferrooxidans* T-M on pyrite I and II

- 1. 可溶性总铁 Total soluble iron
- 2. 可溶性高铁 Soluble ferric iron
- 3. 可溶性亚铁 Soluble ferrous iron
- 4. 铁氧化率 Rate of iron oxidation

从图 3 可见, 浸出前, 培养液中只有亚铁 0.5 g/L。在 10 天迟缓期中, 亚铁几乎不被细菌氧化。当细菌生长进入对数期中, 亚铁被氧化成高铁的速度呈直线上升。与浸出总铁的速度基本重合, 亚铁氧化率达 90—100%。

(二) 初始 pH 对黄铁矿氧化的影响
不同初始 pH 值是影响细菌氧化黄铁

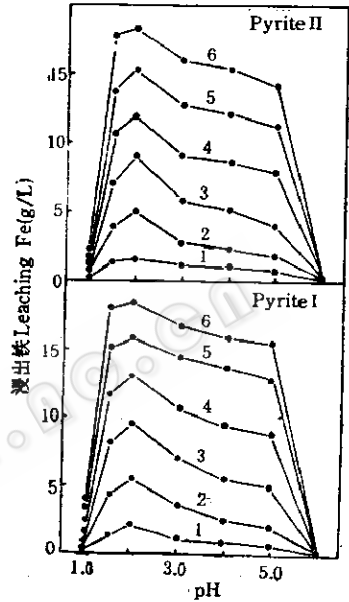


图 4 初始 pH 值对 *Thiobacillus ferrooxidans* T-M 氧化黄铁矿 I 和 II 的影响
Fig. 4 Effect of initial pH value on pyrite I and II oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* T-M
1. 5 天(d); 2. 10 天(d); 3. 15 天(d); 4. 20 天(d); 5. 25 天(d); 6. 30 天(d)

(三) 细菌氧化黄铁矿的产物分析

细菌氧化黄铁矿 I 和 II 的效果可用细菌浸出的摇瓶试验结果(表 2) 说明。浸出 30 天的累计总铁量分别为 18.4 g/L 和 18.35 g/L。生成的硫酸根累计总量分别为 59.74 g/L 和 59.25 g/L。从浸出不同天数的测定结果发现一种趋势, 即浸出黄铁矿 I 和 II 中的铁 1 g, 约生成硫酸根量(平均值)分别为 3.25 g 和 3.23g。而用于试验的黄铁矿 I 和 II 的理论计算值, 总铁量分别为 18.95 g/L 和 18.78 g/L。硫酸根量分别

表 2 黄铁矿细菌浸出液中的产物分析

Table 2 Analysis of products in bacterial leaching solution of pyrite

矿样 Ore sample	时间 Time (d)	pH	Fe ²⁺ (g/L)	Fe ³⁺ (g/L)	总铁 Total (Fe ²⁺ +Fe ³⁺) (g/L)	SO ₄ ²⁻ (g/L)	浸出铁 Leaching iron (g/L)	产生硫酸根 Produced SO ₄ ²⁻ (g/L)
黄铁矿 I Pyrite I	0	2.00	0.50	0.10	0.60	1.45	0	0
	5	1.20	1.35	1.27	2.62	7.50	2.02	6.65
	10	1.45	0.60	5.56	6.26	18.70	3.63	11.40
	15	1.30	0.20	10.14	10.34	32.05	4.09	13.15
	20	1.20	0.20	13.50	13.70	43.64	3.36	11.02
	25	1.10	0.15	16.40	16.60	53.14	2.90	9.50
	30	1.00	0.05	18.95	19.00	61.19	2.40	8.05
黄铁矿 II Pyrite II	0	2.00	0.50	0	0.50	1.33	0	0
	5	1.70	1.20	0.85	2.05	6.18	1.55	4.85
	10	1.50	0.60	4.95	5.55	17.48	3.50	11.30
	15	1.35	0.40	9.10	9.50	30.03	3.95	12.55
	20	1.20	0.20	12.40	12.60	39.88	3.10	9.85
	25	1.15	0.05	15.77	15.82	50.38	3.22	10.50
	30	1.00	0.05	18.83	18.88	60.58	3.06	10.20

为 65.3 g/L 和 64.6 g/L, 1 g 铁相当硫酸根量分别为 3.45 g 和 3.41 g。计算值与理论值接近。

将细菌浸出黄铁矿系统中收集和洗涤的沉淀物风干后,用 X-射线衍射仪测定光谱曲线表明,沉淀物中,绝大部分是黄钾铁矾 [KFe₃(SO₄)₂·(OH)₆], 还有黄铁矿,无元素硫。

(四) 原始菌株 T-M 与适应菌株 T-py 对黄铁矿 I 和 II 氧化作用的比较

原始菌株 T-M 与适应菌株 T-py 在黄铁矿上的生长结果见图 5。细菌的生长迟缓期分别是:前者为 5 天,后者为 2 天。图 6 表明 T-py 菌株浸出的铁的曲线从一开始就呈直线上升,至 25 天,黄铁矿 I 和 II 中的铁已浸出完全,此时的浸出液 pH 分别下降至 0.98 和 1.0,而 T-M 菌株则需 30 天才能将黄铁矿 I 和 II 中的铁浸出完全, pH 分别下降至 1.1 和 1.0。由此可见,适应菌株 T-py 在黄铁矿上生长时,浸出铁和 pH 下降的速度均较原始菌株快。

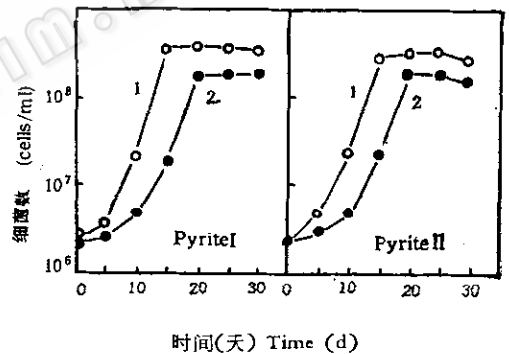


图 5 原始菌株 T-M 与适应菌株 T-py 在黄铁矿 I 和 II 上的生长比较

Fig. 5 Comparison of the growth of original strain T-M and adaptive strain T-py on pyrite I and II

1. T-py; 2. T-M

(五) 黄铁矿 II 细菌氧化的柱浸试验

在上述摇瓶试验基础上,采用柱式通气浸出装置,进一步观察细菌连续浸出黄铁矿的效果。浸出前,首次加入新鲜自来水,按量加入无机营养盐,接种菌后,最终固液比为 4:1。浸出液含有亚铁 1.04 g/L,高铁 0.41 g/L,总铁量 1.45 g/L,细胞量

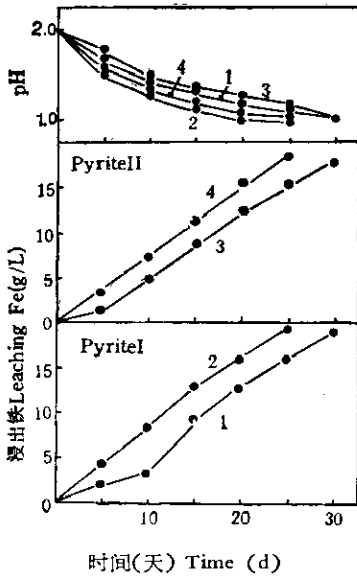


图6 原始菌株 T-M 与适应菌株 T-py 对黄铁矿 I 和 II 氧化的比较

Fig. 6 Comparison of pyrite I and II oxidation by original strain T-M and adaptive strain T-py

- 1. 原始菌株 Original strain T-M
- 2. 适应菌株 Adaptive strain T-py
- 3. 原始菌株 Original strain T-M
- 4. 适应菌株 Adaptive strain T-py

10^6-10^7 个/ml。试验结果见图7。经过20天的生长迟缓期至第27天的浸出期间,细胞量迅速增加至 10^8-10^9 个/ml,亚铁被细

菌迅速氧化成高铁,氧化率达95—100%,总铁量达6.88 g/L, pH 下降至1.0。此时细胞生长和氧化活性达到最佳状态,将柱内浸出液全部排出,再加入等体积新鲜自来水和相应的无机营养盐,不用再接种菌,此时浸出液的 pH 为1.7,只经1天短暂的迟缓期后,细胞的生长、浸出铁和 pH 下降的速度均达到上述的最佳状态。如此连续浸出近一年,一直保持稳定的最佳水平。铁浸出速率保持在0.6—1.5 g/L/d,浸出液 pH 保持在1.0—0.95之间。

讨 论

从五十年代起,各国就开始黄铁矿的生物氧化研究,认为其氧化作用极其缓慢。本文进行的原始菌株 T-M 浸出黄铁矿 I 和 II 的效果指出,细菌浸出铁的速度比无菌对照快56—60倍,说明黄铁矿只靠空气氧化是极其缓慢的。表2指出,细菌浸出的总铁量计算值与所用矿量含铁的理论值基本相符,说明黄铁矿中的铁已完全浸出。这些结果与 Atkins^[23] 报导的 *T. ferrooxidans* 可以将不同地质成因的黄铁矿完全氧化的结果相符。而且柱式细菌连续浸出均

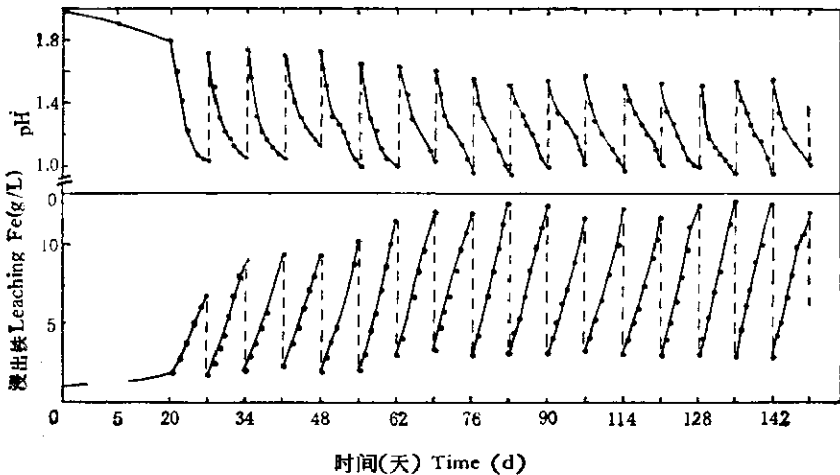


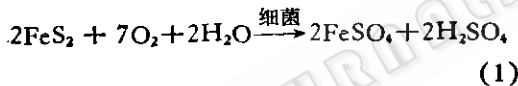
图7 采用柱浸法 *Thiobacillus ferrooxidans* T-M 连续氧化黄铁矿 II 的效果

Fig. 7 Continuous oxidation of pyrite II in column by *Thiobacillus ferrooxidans* T-M

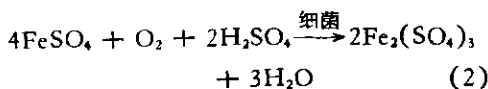
不影响细菌的生长和氧化,说明细菌具有较强的氧化能力,尤其适应菌株 T-py 在黄铁矿上的生长比原始菌株 T-M 的生长迟缓期缩短了 3 天,加速了细菌的生长和铁的浸出速度,说明提高细菌对黄铁矿的氧化能力是可能的。

初始 pH 值对细菌浸出黄铁矿的效果有明显的影 响,在 pH 1.0—5.0 范围内,细菌均能对黄铁矿进行氧化。可见在天然环境中,这类细菌是金属硫化矿床和煤矿床酸性矿水的重要生物成因,也是地球生物化学作用的重要参与者。

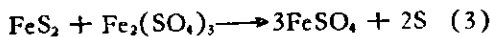
细菌氧化黄铁矿的机制有两种:一种间接氧化,即用细菌的代谢产物——硫酸高铁对黄铁矿进行化学氧化。一种直接氧化,即细菌的细胞和黄铁矿固体基质之间的紧密接触而发生生物化学氧化。从本文细菌浸出黄铁矿的结果可见,首先应是细菌的直接氧化作用,反应如下:



在此浸出系统中,初始 pH 5.0,细菌生长迟缓期长达 10 天,浸出液中的铁增加缓慢,且主要为亚铁,但 pH 值却迅速下降,说明在此期中,细菌从氧化黄铁矿中的硫化物获得能源,生成硫酸,使铁呈亚铁状态溶浸出来。当细菌生长进入对数期时,细菌将亚铁氧化成高铁,铁氧化率达 95—100%,其反应式为:

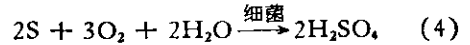


硫酸高铁与黄铁矿进行氧化还原反应,生成硫酸亚铁和元素硫:



反应式 (3) 生成的硫酸亚铁又按式 (2) 继

续被细菌氧化成高铁。生成的元素硫也被细菌氧化成硫酸,使浸出液的 pH 不断下降。



但用 X-射线衍射仪分析浸出系统中的沉淀物结果表明,除绝大部分为黄钾铁矾 $[\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2 \cdot (\text{OH})_6]$ 外,还有黄铁矿,但无元素硫。因此,我们认为,在通气良好的培养情况下,产生的元素硫立即被细菌氧化。

我们认为,细菌对黄铁矿的直接作用和间接作用是交替的,或同时进行的。其中主要是细菌加速黄铁矿和金属硫化矿的氧化,并且在生物湿法冶金和煤炭生物脱硫中发挥重要的作用。

参 考 文 献

- [1] Colmer, A. R. and M. C. Hinkle: *Science*, 106 (2751): 253—256, 1947.
- [2] Zimmerley, S. R. et al.: US Patent 2829964, 1958.
- [3] Popeff, D. R.: *Canadian Nuclear Technology*, 5 (4): 31—33, 1966.
- [4] Karyi, F.: *Enzyme. Microbiol. Technol.*, 4(1): 13—19, 1982.
- [5] Noik, T. et al.: *Water Res*, 7(1): 21—28, 1983.
- [6] Olem, H. et al.: *Biotechnology and Bioengineering*, 19(10): 1475—1491, 1977.
- [7] Silverman, M. P.: *J. Bacteriology*, 94(4): 1046—1051, 1967.
- [8] Wako, N. et al.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 28 (4): 331—343, 1982.
- [9] ———, *ibid.*, 29(3): 177—185, 1983.
- [10] ———, *ibid.*, 30(1): 63—77, 1984.
- [11] 毛炬凡等: *微生物学报*, 19 (2): 166—174, 1979.
- [12] Leachen, W. W. et al.: *J. Bacteriology*, 72(5): 700—703 1956.
- [13] Atkins, A. S.: *Matallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena*, (ed. by Murr. L. E. et al.), Academic Press, New York, p. 403—425, 1978.

BACTERIAL OXIDATION OF PYRITE

Zhong Huifang Cai Wenliu Li Yaqin

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing*)

A strain of *Thiobacillus ferrooxidans* T-M grows well on pyrite I and II, and oxidized them to give soluble iron. When pyrite I or II of -300 mesh, at 5% pulp density was oxidized by this organism under shaking conditions for 30 days, cell counts reached 10^8 — 10^9 cell/ml and soluble iron amounted to 18.9 g/L and 18.6 g/L, respectively. The iron leached was 56—60 times higher than that of the sterile control, which showed oxidation of pyrite by air was very slow. The amounts of iron leached and sulfuric acid formed were close to the theoretical values. Continuous leaching in column was under taken with 20 kg of -20 mm particle size of pyrite. The

levels of released iron and dropped pH varied stably in the range of 0.6—1.5 g/L/d and 0.95—1.0, respectively, during about one year. The optimum pH for leaching is 2.0 with a range 1.0—5.0. The adaptability of strain T-py for pyrite have shortened the growth lag-phase in the process of pyrite oxidation. No elemental sulfur appeared in the system of pyrite leaching. Their mechanisms were discussed based on our experiments.

Key words

Bacterial leaching; *Thiobacillus ferrooxidans*; Pyrite oxidation