

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
55 (12):1626–1634; 4 December 2015  
ISSN 0001–6209; CN 11–1995/Q  
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn  
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.20150066

## 高硫高砷金精矿生物预氧化条件优化

杨彩云<sup>1,2#</sup>, 董博文<sup>2#</sup>, 王梅君<sup>2</sup>, 叶志勇<sup>2</sup>, 郑天凌<sup>3,4</sup>, 黄怀国<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>西南大学生物能源与环境修复研究中心, 重庆 400715

<sup>2</sup>厦门紫金矿冶技术有限公司, 福建 厦门 361101

<sup>3</sup>滨海湿地生态系统教育部重点实验室, 厦门大学, 福建 厦门 361005

<sup>4</sup>近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门大学, 福建 厦门 361005

**摘要:**【目的】研究温度以及返回液添加量对体系中氧化效果以及金(Au)氧化浸出率的影响。【方法】针对某高硫高砷金精矿建立了一套连续生物预氧化体系(氧化时间 6 d), 比较不同的温度(40 °C 和 45 °C) 和返回液添加量(0 和 600 mL) 对生物预氧化效果的影响: 间隔 8 h 连续测定氧化体系中的氧化液、氧化渣以及氧化渣中的总 Fe、总 S、总 As 以及  $\text{SO}_4^{2-}$  和 Au 含量; 并用 16S rRNA 基因克隆文库的方法对体系中的浸矿菌群结构进行分析。【结果】结果显示, 提高温度和添加氧化返回液都会改变体系: 升高温度在一定程度上提高了体系的氧化程度, 主要表现为显著降低了尾渣中总铁、总硫含量, 显著提高了尾渣中的  $\text{S}^{6+}$  比例, 并且降低前三槽氧化体系的耗碱量; 投加返回液则会降低体系的氧化程度, 主要表现为显著提高了尾渣金品位和铁含量, 显著降低了尾渣中的  $\text{S}^{6+}$  以及 Au 浸出率; Dissimilarity 和 DCA 结果表明温度变化对体系的影响更为显著; 氧化过程中的 Au 浸出率、硫氧化率以及 As 去除率, 三者互为显著正相关; 克隆文库结果显示, 该浸矿菌群主要包括 3 类细菌: *Acidithiobacillus caldu* (71%)、*Leptospirillum ferriphilum* (23%) 和 *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* (6%), 基于 97% 相似性的 OTU 覆盖率达 93.67%。【结论】研究结果表明, 相对于添加返回液, 温度变化会更显著的改变体系反应效率。提高体系温度有利于矿物的氧化, 而添加返回液会降低 Au 浸出率。本文首次研究了连续生物预氧化过程中温度梯度和返回液添加对体系的影响, 本研究结果对中温生物预氧化工业生产的工艺优化、降低工业运行成本具有重要的指导意义。

**关键词:** 高硫高砷金精矿, 连续生物预氧化, Au 浸出率, 硫氧化率, 降趋对应分析(DCA), 16S rRNA 基因克隆文库  
**中图分类号:** X172      **文章编号:** 0001-6209 (2015) 12-1626-09

生物冶金目前已经广泛的应用于金等贵金属的浸出回收<sup>[1]</sup>, 其中核心步骤为微生物的生物氧化过程。生物氧化是利用细菌等微生物对非目的矿物进行氧化处理, 使之以离子状态进入溶液中, 而目的矿物(或元素)或被解离, 或呈裸露状态仍留存于氧

化后的渣中, 待进一步处理提取有用元素的过程<sup>[2]</sup>。生物氧化技术具有较高的资源利用率, 特别对于高硫、低品位等难冶硫化矿物, 有很大优势。目前, 利用微生物氧化作用提高金等贵金属的提取效率的生物技术已发展成为一个相对独立的生物技术

基金项目: 福建省自然科学基金(2014J06021)

\* 通信作者。Tel: +86-592-7765123; Fax: +86-592-7765106; E-mail: huanghuaiquo@163.com

作者简介: #共同第一作者。杨彩云(1985-), 女, 浙江义乌人, 博士, 主要从事微生物冶金、环境微生物相关研究。E-mail: yangyice@163.com; 董博文(1985-), 男, 山东枣庄人, 本科, 主要从事微生物冶金相关研究。E-mail: dongbw03@163.com

收稿日期: 2015-02-04; 修回日期: 2015-04-23

领域<sup>[3]</sup>, 并且日益成熟。

温度对硫化矿中的硫氧化率、浸出反应效率有重要影响<sup>[1,4]</sup>, 温度升高会促进体系中的化学反应速率<sup>[5]</sup>。因而, 我们认为适当提高反应温度或许可以提高生物预氧化效率。另外, 由于生物预氧化过程主要涉及硫氧化等放热反应, 氧化速率越快产生的热也越多<sup>[5]</sup>。为了适应浸矿细菌的生长温度, 生产过程中需要大量的冷却水调节体系温度。如果提高体系的设定温度, 将可以减少冷却费用。

工业生产中有时会将氧化后矿浆的滤液返回体系, 由于生物预氧化后产生的浸出液中含有大量  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$  以及浸矿细菌, 若矿浆过滤后的一部分浸出液返回调浆槽, 一方面, 可以减少体系硫酸和硫酸亚铁的用量、减少体系浸矿细菌损失, 有利于氧化; 另一方面, 可以减少氧化后液的处理量, 可降低废液中和成本。

高硫高砷低品位金精矿是一类典型的难处理矿物, 一系列前期研究表明生物冶金技术是针对这类难处理矿物的有效手段<sup>[6-7]</sup>。本研究用一组中温浸矿菌群对该低品位、难处理的“低金高硫”金精矿进行生物氧化, 结合细菌的群落结构信息, 研究温度以及返回液对矿物氧化、金浸出率的影响, 以达到提高氧化效率、降低运行成本的目的, 也为该矿物开展生物氧化工业化生产优化提供理论指导。

## 1 材料和方法

### 1.1 矿石及其性质

目标矿物为低品位、难处理的“低金高硫”金精矿, 粒度为  $45 \mu\text{m}$  (约占 92.6%)。主要元素及其物象分析表明该金精矿暴露金仅占 3.29%, 硫化矿包裹金 (铜铅锌硫化矿包裹 + 黄铁矿包裹) 比例达 73.49%, 石英包裹率为 22.61%; 硫基本呈  $\text{S}^{2-}$  形式存在。具体见表 1 和表 2。

表 1. 金精矿多元素分析

Table 1. Chemical and multi-element analysis of gold concentrate

Element	Content
Au / (g/t)	18.17
As / %	2.34
TS / %	40.55
$\text{S}^{2-}$ / %	39.46
Fe / %	36.81

表 2. 金物相分析结果

Table 2. Gold phase analysis of gold concentrate

Occurrence of gold in mineral	Content / (g/t)	Proportion / %
Exposed	0.600	3.29
Wrapped by carbonate	0.083	0.46
Wrapped by Cu-Pb-Zn sulfide	10.810	59.33
Wrapped by limonite	0.028	0.15
Wrapped by pyrite	2.580	14.16
Wrapped by quartz and the others	4.120	22.61
Summation	18.220	100.00

表 2. 硫物相分析

Table 3. Sulfur phase analysis of gold concentrate

Occurrence of sulfur in mineral	Content / %	Proportion / %
$\text{S}^{2-}$	39.200	98.85
$\text{S}^0$	0.035	0.09
$\text{S}^{6+}$	0.420	1.06
Summation	39.655	100.00

### 1.2 菌群

生物预氧化菌群从某铜矿堆浸现场获得, 在厦门紫金矿冶技术有限公司微生物实验室内保存。

### 1.3 培养基

菌液培养用 9K 培养基:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3 g/L, KCl 0.1 g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g/L, Ca  $(\text{NO}_3)_2$  0.01 g/L, pH 1.6 - 1.8。在连续预氧化实验过程中添加的培养基 B:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3.6 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.7 g/L, KCl 1.7 g/L。

### 1.4 主要试剂和仪器

引物 27F 和 1492R<sup>[8]</sup> 由 invitrogen (US) 合成, dNTPs Mixture 由 TaKaRa (日本) 生产, DNA 聚合酶由 tiangen (天根生化科技有限公司) 生产, DNA 提取试剂盒 FastDNA SPIN Kit for Soil 来自 Mo Bio (US), DNA 纯化试剂盒 DNA 纯化通用 Kit HYK-002 来自厦门鹭隆生物科技发展有限公司, 其它试剂为国产分析纯。

连续生物预氧化设备为不锈钢材质, 由常州智博瑞仪器制造有限公司生产。pH 计与电位计由梅特勒-托利多 (Mettler Toledo, Switzerland) 生产。PCR 仪购自 Biometra (Germany), 琼脂糖凝胶电泳购自 Bio Rad (US), 离心机购自 Hettich (MIKRO 220R, Germany) 和 Eppendorf (Centrifuge 5424 R, Germany)。

### 1.5 连续生物预氧化

1.5.1 菌液培养: 前 3 槽按 10% 接种量, 在  $40^\circ\text{C}$ 、

pH 1.6 和搅拌转速 550 r/min 条件下用 9K 培养基培养, 菌液培养 48 h 至对数生长期(约  $0.4 \times 10^8$  个/mL) 后备用。

**1.5.2 氧化反应体系建立:** 连续生物预氧化反应体系主要包括 6 个容积为 10 L 的不锈钢生物氧化槽

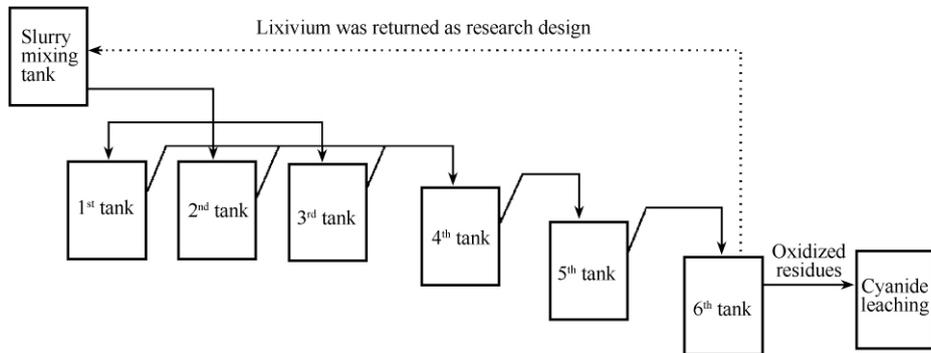


图 1. 连续生物预氧化基本流程

Figure 1. The process of batch bioleaching.

当前 3 槽菌液的氧化还原电位不低于 600 mV 后, 向槽内加入终浓度为 16% 的金精矿 (6 L) 矿浆, 氧化培养 3 d。第 4 天, 每槽取出 1/3 体积矿浆转入第 6 槽, 前 3 槽中缺失体积以 9K 培养基及金精矿补足; 在第 5 天, 从前 3 槽中各取出 1/3 矿浆转入第 5 槽, 缺失体积由 9K 培养基及金精矿补足; 在第 6 天, 从前 3 槽每槽取出 1/3 矿浆转入第 4 槽, 缺失体积由 9K 培养基及金精矿补足; 从第 6 天开始每隔 30 min 从第 6 槽取样 175 mL, 前面 5 槽按原来并联与串联方式依次转移相同量的矿浆, 前 3 槽缺失体积用培养基和金精矿补足。

实验过程中探讨体系温度和返回液添加量对氧化效率的影响: 具体为前 200 h 内体系的温度维持在 40 °C, 不添加返回液; 201 - 424 h 体系的温度升为 45 °C, 不添加返回液; 425 - 576 h, 体系温度维持在 45 °C, 每 8 h 添加 600 mL 返回液。

**1.5.3 氧化体系监控:** 连续试验期间测定体系的电位、pH, 并用氧化钙对前三槽体系 pH 进行调控 (1.3 - 1.6), 记录加碱量; 间隔 8 h 对第 6 槽取样过滤, 滤液送检总 Fe、 $\text{SO}_4^{2-}$  以及 As; 滤渣混匀氰化。氰化条件: 使用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  调整体系 pH 值 10 - 11, 液固比 4, 氰化时间 24 h, 氰化钠浓度 2 ‰, 活性炭密度 45 g/L; 氰化渣测定金、砷、总硫、 $\text{S}^{6+}$ 。

## 1.6 菌群结构研究

**1.6.1 细菌总 DNA 提取:** 将 40 °C 连续反应体系的

(运行时有效体积为 6 L), 其工作排列方式如图 1: 前 3 槽并联, 后 3 槽串联, 即矿浆首先平均到达前 3 槽, 再分别进入第 4 槽汇合依次流入第 5、6 槽。每个槽配备曝气装置和搅拌装置, 水浴加热使各槽保持预定的工作温度。

6 个槽中的矿浆收集后混合, 取 2 mL 离心 ( $13000 \times g$ , 15 min) 收集沉淀, 加入 TENP 溶液 (Tris 50 mmol/L, EDTA 20 mmol/L, NaCl 100 mmol/L, PVP 1%, pH 10.0), 重悬沉淀后离心去上清, 重复 TENP 的洗涤操作, 直至上清液的 pH  $\geq 7$ 。

将洗涤后的含矿样品按 FastDNA SPIN Kit for Soil 试剂盒要求提取其中的细菌总 DNA。完成提取后将 3 份 DNA 样品混合, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测结果。

**1.6.2 16S rRNA 基因扩增:** PCR 过程中模板 DNA 分别用未稀释、5 倍和 10 倍稀释的 DNA。扩增体系为引物 27F、1492R 各 0.25  $\mu\text{L}$ , 10 mmol/L dNTPs 1  $\mu\text{L}$ , 10  $\times$  PCR 缓冲液 5  $\mu\text{L}$ , Taq DNA 聚合酶 1.25 U, DNA 模板 10  $\mu\text{L}$ , 将体系补足至 50  $\mu\text{L}$ 。基因扩增程序为: 95 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min, 共 30 个循环; 72 °C 8 min。扩增结果用琼脂糖凝胶电泳进行检测。

**1.6.3 克隆文库构建:** 将 16S rRNA 基因扩增产物送至上海美吉生物公司构建克隆文库, 随机挑取 80 个克隆, 进行测序。

## 1.7 数据分析

生物预氧化实验检测数据分析借助 R 语言软件 (版本 3.1.1) [9] 完成, 以 Origin 8.0 软件绘图, 细菌序列的处理主要借助 DNAMAN 8.0、BioEdit 7.0、Mothul. 34.4、MEGA 5.1 等软件, 此外还需要 The

University of Oklahoma 的 Institute for Environmental Genomics (<http://ieg.ou.edu/>) 开发的序列处理和统计分析网站。

## 2 结果和讨论

从该矿物的组成特点和前期实验结果得出, 该矿物属于冶炼难度较高的难冶金精矿。由于该矿硫含量过高, 热压预氧化法会产生大量的热量和硫酸, 极大增加加热冷却和酸中和成本; 若采用配矿或浮选方式降低硫含量再进行热压处理, 则会在前处理过程中大幅度降低矿物的金品位, 导致热压工艺处理的克金成本较高。因此本研究选用生物预氧化进行处理实验。

### 2.1 温度和返回液体积条件对体系的总体影响

细菌对矿物的氧化机理包括直接氧化和间接氧

化, 即细菌直接将还原态硫氧化为硫酸, 或先将  $\text{Fe}^{2+}$  氧化成  $\text{Fe}^{3+}$ , 通过  $\text{Fe}^{3+}$  实现矿物中还原态硫的氧化<sup>[10]</sup>。氧化过程伴随着体系中 Fe 的氧化与还原、矿物中还原态硫的氧化、砷的去除以及金颗粒的暴露。

该生物预氧化体系共运行了 576 h (2014. 3. 24 – 2014. 4. 17), 历时 25 d, 共从连续反应完成后 6#槽取样 72 份并完成检测 (表 4)。从结果可以看到, 经过 6 d 的搅拌预氧化, 该矿物平均金浸出率高达 88.2% – 92.9%、渣金品位可低至约 2 g/t, 可以达到工业生产中金浸出水平要求。

氧化体系的检测结果主要包括氧化液的总 Fe、 $\text{SO}_4^{2-}$  和总 As 浓度; 氧化渣的 Fe、As、总硫和  $\text{S}^{6+}$  所占比例; 总体的硫氧化率、金浸出率以及 As 去除率。为了对比不同条件下体系氧化情况的差异, 将不同条件 3 组检测结果进行 *T*-test 分析, 结果如表 4。

表 4. 体系各参数基于温度和返回液体积的 *T*-test 分析

Table 4. *T*-test analysis of parameters affected by temperature and lixivium return

Parameters		<i>T</i> /°C*			Returned lixivium/mL**		
		40	45	<i>P</i>	0	600	<i>P</i>
Composition of lixivium	Fe/(g/L)	30.5 ± 1.2	25.4 ± 2.1	<0.01	25.4 ± 2.1	26.3 ± 1.8	0.12
	$\text{SO}_4^{2-}$ /(g/L)	88.2 ± 2.8	73.8 ± 5.3	<0.01	73.8 ± 5.3	77.6 ± 4.3	0.01
	As/(g/L)	2.9 ± 0.3	2.5 ± 0.2	<0.01	2.5 ± 0.2	2.3 ± 0.1	<0.01
Cyanide residue	Au/(g/t)	2.0 ± 0.6	2.0 ± 0.4	0.79	2.0 ± 0.4	2.7 ± 0.6	<0.01
	Fe/%	19.6 ± 1.5	17.9 ± 1.9	<0.01	17.9 ± 1.9	19.4 ± 2.4	0.03
	As/%	0.58 ± 0.04	0.6 ± 0.05	0.04	0.6 ± 0.05	0.61 ± 0.04	0.65
	TS/%	22.0 ± 2.1	19.9 ± 2.1	<0.01	19.9 ± 2.1	21.0 ± 3.4	0.21
	$\text{S}^{6+}$ /%	6.9 ± 1.1	8.1 ± 0.8	<0.01	8.1 ± 0.8	7.2 ± 0.7	<0.01
	$\text{S}^0$ /%	9.7 ± 2.9	8.6 ± 3.3	0.178	8.6 ± 3.3	11.2 ± 6.0	0.09
	Sulfur oxidation rate/%	75.7 ± 7.1	78.6 ± 8.2	0.18	78.6 ± 8.2	71.9 ± 15.0	0.09
Gold leaching rate/%	92.9 ± 3.0	92.3 ± 2.7	0.42	92.3 ± 2.7	88.2 ± 5.6	<0.01	
Arsenic removal rate/%	84.4 ± 3.8	82.0 ± 3.8	0.03	82.0 ± 3.8	80.3 ± 5.2	0.24	

\* : no lixivium return; \*\* : reaction temperature – 45 °C.

元素检测结果表明, 温度和返回液都会影响体系的各项参数。T 检验结果显示, 升高温度显著降低了氧化尾液中的总铁 (约 5 g/L)、总砷 (约 0.4 g/L) 以及  $\text{SO}_4^{2-}$  (约 15 g/L) 的浓度 ( $P < 0.01$ ), 尾渣中总铁 (约 2%)、总硫 (约 2%) 比例有所下降 ( $P < 0.01$ ), 而  $\text{S}^{6+}$  (约 1%) 有所上升 ( $P < 0.01$ ); 总的砷去除率随温度的升高而降低约 2% ( $P = 0.03$ )。生物对硫化矿的氧化主要表现为矿物中硫的氧化, 硫氧化率与金浸出率一般呈显著正相关。因此, 体系的氧化程度提高后, 会使最后尾渣中还原态硫的比例降低、 $\text{S}^{6+}$  比例升高、总 S 减少 (转变为  $\text{SO}_4^{2-}$  进入溶液)。从表 4 的尾渣品位结果可以得出, 整个氧化体系的氧化程度随温

度升高而上升。

返回液的投加使氧化尾液中  $\text{SO}_4^{2-}$  (约 4 g/L) 浓度升高、砷 (约 0.2 g/L) 浓度降低; 尾渣金品位和铁比例有所上升, 分别提高了 0.7 g/t 和 2%, 而  $\text{S}^{6+}$  下降约 1%。总体而言, 添加返回液降低了体系氧化程度, 并使 Au 浸出率显著下降约 4%。说明返回液添加后氧化体系中各金属离子的积累可能会严重抑制浸矿细菌的生长和氧化功能。

另外, 体系每 8 h 的耗碱量, 在 45 °C 0 mL 返回液添加条件下 (41.1 g CaO) 远远低于 40 °C 0 mL 返回液添加 (67.1 g CaO) 和 45 °C 600 mL 返回液添加条件下 (67.9 g CaO)。

## 2.2 氧化体系中各参数的相关性

矿物的生物氧化体系复杂,但是也有规律

可循,表5中显示了各组间的相关性分析结果。

表5. 生物氧化体系各参数相关性

Table 5. Correlation of parameters in bio-oxidation system

Parameters	Composition of lixivium / (g/L)			Cyanide residue						S	Au	As
	Fe	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	As	Au (g/t)	Fe (%)	As (%)	TS (%)	S <sup>6+</sup> (%)	Reduced (%)	oxidation rate (%)	leaching rate (%)	removal rate (%)
Composition of lixivium (g/L)	1											
Fe	1											
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.95**	1										
As	0.77**	0.62**	1									
Cyanide residue Au / (g/t)	-0.08	-0.06	-0.11	1								
Fe / %	0.19	0.31**	0.021	0.60**	1							
As / %	-0.4**	-0.29*	-0.32**	0.46**	0.55**	1						
TS / %	0.29*	0.35**	0.18	0.57**	0.92**	0.33**	1					
S <sup>6+</sup> / %	-0.27*	-0.42**	-0.01	-0.3*	-0.85**	-0.32**	-0.73**	1				
Reduced S / %	0.11	0.15	-0.02	0.7**	0.83**	0.43**	0.88**	-0.54**	1			
S oxidation rate / %	-0.11	-0.15	0.02	-0.7**	-0.83**	-0.43**	-0.88**	0.54**	-10**	1		
Au leaching rate / %	0.08	0.08	0.16	-0.9**	-0.61**	-0.44**	-0.63**	0.26*	-0.88**	0.88**	1	
As removal rate / %	0.21	0.19	0.22	-0.68**	-0.56**	-0.58**	-0.57**	0.17	-0.86**	0.86**	0.89**	1

\* : 0.01 < P < 0.05; \*\* : P < 0.01.

表5显示,氧化过程中,体系的很多组间都表现出了显著的正相关或负相关。硫化矿生物预氧化过程中Au包裹物的打开伴随着S和As的离子化进入溶液,一般情况下其硫氧化率以及As去除率越高Au浸出率也越高。因而从表5可以看到硫氧化率、Au浸出率以及As去除率之间呈显著正相关;氧化尾液各组分(总铁、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>和总砷)之间也呈显著正相关,说明这三者在氧化液中的释放量都与氧化程度成正比;而当矿物的氧化程度较低时,留在固相中的铁、砷以及硫的含量会更多,进而尾渣中未暴露

的Au品位更高,因此表现为尾渣中Au与Fe、As、TS和还原态S含量呈显著正相关,而无论是尾渣还是氧化液中的S<sup>6+</sup>都与体系的氧化程度成正比,因而尾渣中Au与S<sup>6+</sup>显著负相关。

## 2.3 不同条件下氧化体系的差异

以上数据基于不同温度(40℃和45℃)以及有无返回液等条件进行分组对比,两组条件分别为:无返回液-40℃ vs. 无返回液-45℃;45℃-返回液0 mL vs. 45℃-返回液600 mL。两组数据的相异度(Dissimilarity)计算结果如表6。

表6. 温度和返回液影响因素下体系的相异度

Table 6. Dissimilarity test of parameters affected by temperature and lixivium return

Factors	Methods	mrpp		adonis		anosim	
		delta	P	F	P	R	P
Temperature	bray	0.06	<0.01	10.83	<0.01	0.23	<0.01
	horn	0.01	<0.01	8.64	0.038	0.23	<0.01
	euclidean	27.54	<0.01	10.28	<0.01	0.23	<0.01
Lixivium return	bray	0.06	0.02	5.42	<0.01	0.09	0.08
	horn	0.02	0.02	13.74	0.01	0.06	0.15
	euclidean	29.98	0.02	5.27	0.01	0.07	0.14

以上数据可以看出,多数计算方法得出了温度和返回液条件对体系的浸出数据的影响具有统计学意义(P < 0.05),其中温度的影响尤为明显。该条件引起的体系差异具有高度统计学差异(P值几乎都小于0.01);从DCA(图2)可以简单的区分40℃

和45℃条件下的氧化体系;而在有/无返回液情况下不同的样品点混在一起,氧化体系区别不明显。说明温度变化对体系的影响大于返回液添加。

## 2.4 氧化体系的细菌群落结构分析

对该连续体系的六槽矿浆进行采集并混合,用

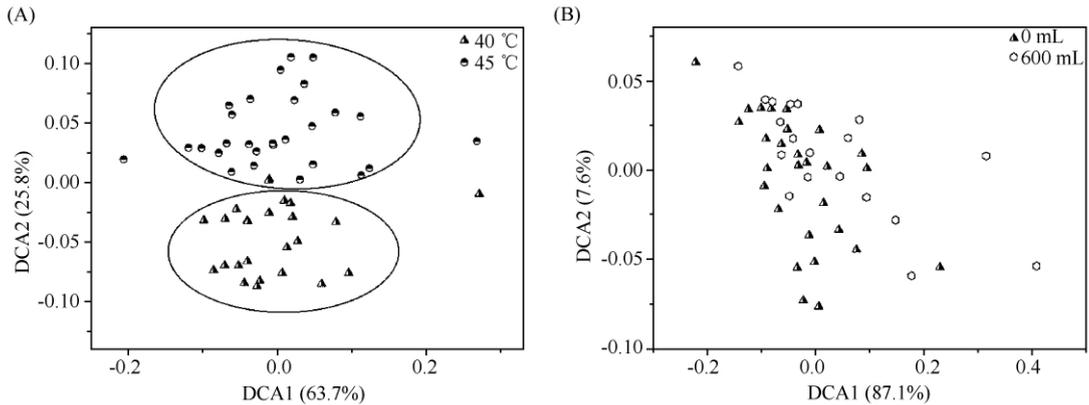


图 2. 氧化体系基于温度 (A) 和返回液体积 (B) 的降趋对应分析 (DCA)

Figure 2. Detrended correspondence analysis (DCA) of parameters in bio-oxidation system affected by temperature (A) and lixivium return (B).

克隆文库法分析其中的细菌组成。由于微生物预氧化体系为酸热的极端环境，其中的细菌种类多样性一般不高，因此挑取了 80 个克隆建立克隆文库。结果显示该菌群主要有 3 类细菌组成 (图 3)：*Acidithiobacillus caldu* (嗜酸性喜温硫杆菌，占 71%，相似性 99.23% - 100%)、*Leptospirillum ferriphilum* (嗜铁钩端螺旋菌，占 23%，相似性 99.37% - 100%)、*Sulfobacillus thermosulfidooxidans* (嗜热硫氧化菌，占 6%，相似性 99.32% - 100%)。它们是涉及硫化矿物氧化、金属回收过程最重要的三类细菌<sup>[10]</sup>。

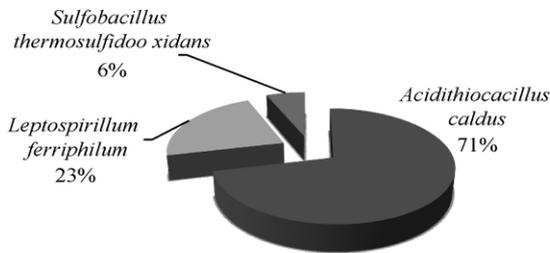


图 3. 浸矿菌群种类组成

Figure 3. Bacterial community structure of mineral-oxidation.

基于 97% 的相似性，这些序列归为 5 个 OTU，其中 *A. caldu* 和 *S. thermosulfidooxidans* 各占 2 个 OTU，*L. ferriphilum* 占 1 个 OTU。根据公式： $C = [1 - (n/N)] \times 100\%$  (其中，N 为序列的克隆总数，n 为 OTU 数量)，经计算得出本次克隆文库的覆盖率达 93.67%，说明文库的规模满足于该样品中细菌种类组成的研究。总的来说，由于生物预氧化

环境苛刻，为高酸高重金属的极端环境，其菌群中细菌多样性不高。将这些序列进行比对后构建的系统发育树如图 4 所示。

其中，*At. caldu* 是生物采矿中最常见的一类细菌，能够氧化矿物中还原态的无机硫化物，其中有某些种类可以氧化  $Fe^{2+}$ ，其生长 pH 范围为 1.0 - 2.5，最适 pH 为 1.5。与 *Leptospirillum spp.* 一样，*At. Caldu* 在 40 - 50 °C 的浸矿环境中广泛存在<sup>[11]</sup>。另外，Foucher 等发现该菌是 45 °C 环境中主要的硫氧化细菌，并且有非常高的丰度<sup>[12]</sup>。

*L. ferriphilum* 是中度嗜热嗜酸化能自养、硫氧化细菌，能够氧化还原无机硫化物以获得生长所需的能量，最适生长温度为 37 °C；一般应用于铁矿石的浸出<sup>[13]</sup>，是南非商业性生物氧化槽应用 (40 °C) 中的重要作用细菌。*S. thermosulfidooxidans* 呈杆状，最适生长温度为 53 °C，pH 范围为 1.0 - 2.5，最适 pH 为 1.5；这类细菌既能氧化亚铁，也能氧化元素硫，适量的酵母浸出物可促进其生长；另外实验证明，该菌在厌氧条件下还可还原  $Fe^{3+}$ ，并可有效清除铁矾沉淀<sup>[4]</sup>。

邱冠周等<sup>[14]</sup> 现将 *At. Caldu* 与 *L. ferriphilum* 组合后可以提高黄铁矿中铜的浸出效率。Franzmann 等<sup>[5]</sup> 结合实验和 Ratkowsky 方程研究了温度对几种常见浸矿微生物的铁、硫氧化率的影响，结果显示 *At. Caldu* 在 48.8 °C 时对  $S^0$  的氧化速率达到最大；*L. ferriphilum* 和 *S. thermosulfidooxidans* 分别在 38.6 °C

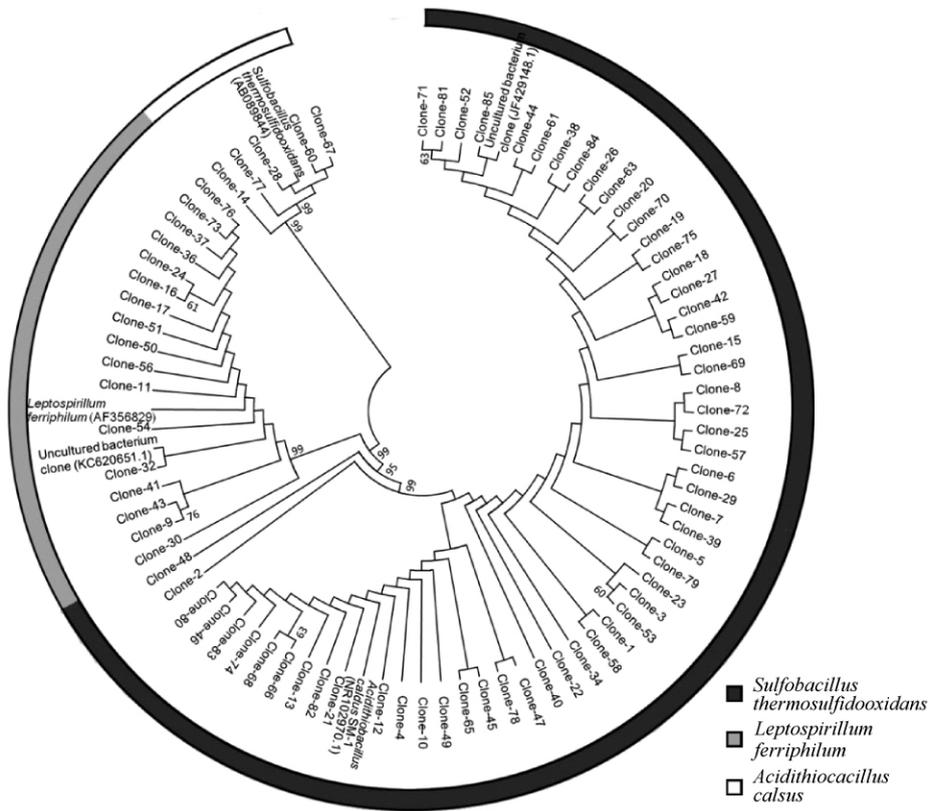


图 4. 生物预氧化菌群 16S rRNA 基因进化树

Figure 4. Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of mineral-oxidation bacterial community.

和 51.2 °C 时对  $Fe^{2+}$  的氧化速率达到最大。因而，浸矿温度从 40 °C 提高到 45 °C 后，*At. Caldu* 和 *S. thermosulfidooxidans* 对  $S^0$  和  $Fe^{2+}$  的氧化效率能得到提高，而 *L. ferriphilum* 对  $Fe^{2+}$  的氧化效率会下降。结合 Franzmann 等的氧化率-温度曲线进行评估，发现 40 °C 和 45 °C 两个条件下，这 3 种菌的氧化速率加和结果差异并不大。因此，可以初步解释本研究中体系温度的升高，并未显著改变体系的氧化能力。

### 3 结论

利用中温浸矿菌群对高硫高砷金精矿进行预氧化时，温度升高和返回液添加都会影响生物氧化体系 (dissimilarity test)，DCA 结果显示温度的影响更显著。体系温度提高至 45 °C，会显著降低尾渣中总铁、总硫，显著提高了尾渣中的  $S^{6+}$ ，即在一定程度上提高体系的氧化程度。体系添加返回液后，会显著提高尾渣金品位和铁含量，显著降低了尾渣中的

$S^{6+}$  以及 Au 浸出率，即会抑制矿物的氧化过程。菌群结构分析后发现该浸矿菌群主要包括 *At. caldu*、*L. ferriphilum* 和 *S. thermosulfidooxidans*，它们的最适氧化温度分别为 48.8、38.6、51.2 °C，因此当体系的温度提高至 45 °C，会提高 *At. caldu* 和 *S. thermosulfidooxidans* 的氧化能力，降低 *L. ferriphilum* 的氧化能力，这初步解释了提高温度后为何并没有大程度地改变体系的氧化情况。

总体而言，利用中温浸矿菌群对高硫高砷金精矿进行预氧化时，根据菌群结构及其氧化条件特点，可以适当提高生物预氧化的温度，促进矿物的氧化，并且还可以降低工业生产过程中的体系冷却费用以及体系的耗碱量。本研究首次以工业生产为导向，结合浸矿菌群种类信息，研究了提高温度和添加返回液对矿物氧化体系的影响，对中温生物预氧化工艺优化和降低工业运行成本具有重要的指导意义，对生物冶金技术的进一步改进和工业推广有重要的借鉴价值，具有重要的经济、社会和生态意义。

## 参考文献

- [1] Karthikeyan OP, Rajasekar A, Balasubramanian R. Bio-oxidation and biocyanidation of refractory mineral ores for gold extraction: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2014, 45 (15) : 1611-1643.
- [2] 杨松荣. 含砷难处理金矿石生物氧化工艺及应用. 北京: 冶金工业出版社, 2006.
- [3] Rawlings DE, Johnson DB. *Biomining*. Berlin: Springer, 2007.
- [4] Collinson DM, Usher KM, Nichols PD, Watling HR. Habituation of *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* to 4-nonylphenol in ferrous ion growth medium. *Process Biochemistry*, 2011, 46 (1) : 108-115.
- [5] Franzmann PD, Haddad CM, Hawkes RB, Robertson WJ, Plumb JJ. Effects of temperature on the rates of iron and sulfur oxidation by selected bioleaching *Bacteria* and *Archaea*: application of the ratkowsky equation. *Minerals Engineering*, 2005, 18 (13-14) : 1304-1314.
- [6] Grigor'eva NV, Tsaplina IA, Panyushkina AE, Kondrat'eva TF. Optimization of bioleaching and oxidation of gold-bearing pyrite-arsenopyrite ore concentrate in batch mode. *Microbiology*, 2014, 83 (5) : 550-557.
- [7] Yu RL, Wu FD, Chen A, Shi LJ, Zeng WM, Gu GH, Qin WQ, Qiu GZ. Effect of mixed moderately thermophilic adaptation on leachability and mechanism of high arsenic gold concentrate in an airlift bioreactor. *Journal of Central South University*, 2015, 22 (1) : 66-73.
- [8] Yang CY, Li Y, Zhou YY, Zheng W, Tian Y, Zheng TL. Bacterial community dynamics during a bloom caused by *Akashiwo sanguinea* in the Xiamen sea area, China. *Harmful Algae*, 2012, 20 : 132-141.
- [9] R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2014.
- [10] Ni ZY, Gu GH, Yang HS, Qiu GZ. Bioleaching of pyrrhotite by *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*. *Journal of Central South University*, 2014, 21 (7) : 2638-2644.
- [11] Rawlings DE. Characteristics and adaptability of iron-and sulfur-oxidizing microorganisms used for the recovery of metals from minerals and their concentrates. *Microbial Cell Factories*, 2005, 4 (1) : 13.
- [12] Foucher S, Battaglia-Brunet F, d'Hugues P, Clarens M, Godon JJ, Morin D. Evolution of the bacterial population during the batch bioleaching of a cobaltiferous pyrite in a suspended-solids bubble column and comparison with a mechanically agitated reactor. *Hydrometallurgy*, 2003, 71 (3) : 5-12.
- [13] Ojumu TV, Petersen J. The kinetics of ferrous ion oxidation by *Leptospirillum ferriphilum* in continuous culture: the effect of pH. *Hydrometallurgy*, 2011, 106 (1) : 5-11.
- [14] Zhou QG, Bo F, Bo ZH, Xi L, Jian G, Fei LF, Hua CX. Isolation of a strain of *Acidithiobacillus caldus* and its role in bioleaching of chalcopyrite. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2007, 23 (9) : 1217-1225.

# Condition optimization for bio-oxidation of high-S and high-As gold concentrate

Caiyun Yang<sup>1,2#</sup>, Bowen Dong<sup>2#</sup>, Meijun Wang<sup>2</sup>, Zhiyong Ye<sup>2</sup>, Tianling Zheng<sup>3,4</sup>, Huaiguo Huang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Research Center of Bioenergy & Bioremediation, Southwest University, Chongqing 400715, China

<sup>2</sup>Xiamen Zijin Mining & Metallurgy Technology Co. Ltd., Xiamen 361101, Fujian Province, China

<sup>3</sup>Key Laboratory of the Ministry of Education for Coastal and Wetland Ecosystems, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, China

<sup>4</sup>State Key Laboratory for Marine Environmental Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, China

**Abstract:** [Objective] To study the effects of temperature and lixivium return on the concentrate bio-oxidation and rate of gold cyanide leaching. [Methods] The bioleaching of a high-sulphur (S) and high-arsenic (As) refractory gold concentrate was conducted, and we studied the effects of different temperature (40 °C and 45 °C) and lixivium return (0 and 600 mL) on the bio-oxidation efficiency. The bacterial community structure also was investigated by 16S rRNA gene clone library. [Results] The results showed that both the temperature and lixivium return significantly influenced the oxidation system. The temperature rising elevated the oxidation level, while the addition of lixivium depressed the oxidation. Dissimilarity and DCA (detrended correspondence analysis) indicated the effect of temperature on oxidation system was much greater than lixivium. The bacterial community was comprised by *Acidithiobacillus caldu* (71%), *Leptospirillum ferriphilum* (23%) and *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* (6%) indicated by the clone library, and the OTU coverage based on 97% sequence similarity was as high as 93.67%. [Conclusion] Temperature rising to 45 °C would improve the oxidation efficiency while lixivium return would decrease it. This study is helpful to provide an important guiding value for the industry cost optimization of mesophile bacterial oxidation and reduction process.

**Keywords:** high-sulphur and high-arsenic gold concentrate, continuous bio-oxidation, leaching rate of Au, rate of sulfur oxidation, detrended correspondence analysis (DCA), 16S rRNA gene clone library

(本文责编:张晓丽)

Supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province (2014J06021)

\* Corresponding author. Tel: +86-592-7765123; Fax: +86-592-7765106; E-mail: huanghuaiguo@163.com

Received: 4 February 2015/Revised: 23 April 2015