

## 三种浸矿细菌协同作用的回顾及展望

朱宏飞<sup>1\*</sup> 李辉<sup>2</sup> 刘东奇<sup>3</sup>

(1. 辽宁工程技术大学环境科学与工程学院 辽宁 阜新 123000)

(2. 辽宁排山楼黄金矿业有限责任公司 辽宁 阜新 123000)

(3. 沈阳理工大学 装备工程学院 辽宁 沈阳 110159)

**摘 要:** 生物浸矿技术相比于传统的矿物加工技术具有成本低、易操作和污染小的特点,可以用来处理金精矿、低品位金矿、难处理金矿或者是高硫煤炭。为了更好地利用多种浸矿细菌的协同作用,本文综合阐述了生物浸矿的协同作用优势和存在的一些问题,对今后协同浸矿的发展做了预测。本文首先分析了3种主要浸矿细菌,包括氧化亚铁硫杆菌、氧化亚铁钩端螺旋菌和氧化硫硫杆菌等各自的生物学特性,接着重点分析了国内外近些年来浸矿细菌的协同作用研究进展情况和作用机制,最后展望了未来二十年内浸矿技术研究的发展方向。

**关键词:** 生物浸矿, 细菌, 协同作用

## A review of synergy development and prospect of three leaching bacteria

ZHU Hong-Fei<sup>1\*</sup> LI Hui<sup>2</sup> LIU Dong-Qi<sup>3</sup>

(1. Science School of Liaoning Technical University, Fuxin, Liaoning 123000, China)

(2. Liaoning Paishanlou Gold Stock Limited Company, Fuxin, Liaoning 123000, China)

(3. Equipment engineering college of Shenyang Ligong University, Shenyang, Liaoning 110159, China)

**Abstract:** Compared to traditional processing method of minerals, bioleaching is low-cost, easy-operating and low pollutioned and has began to be applied in the treatment of refractory gold ore, low-grade minerals or high-sulfur coal. To make full use of the synergy of leaching bacteria, the present work mainly addressed the synergic advantage and problems during bioleaching comprehensively and the predicted the bioleaching trend in the future. Firstly, the biological characteristics of three important leaching bacteria were analyzed, including *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. Secondly, domestic and abroad research development of bioleaching and its synergic mechanism were also discussed. Finally, possible research prospect and solution of bioleaching technology in two decades was predicted.

**Keywords:** Bioleaching, Bacteria, Synergy

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (No. 31270479)

**\*Corresponding author:** Tel/Fax: 86-418-3350577; E-mail: zhuhongfei2008@163.com

**Received:** January 14, 2016; **Accepted:** May 04, 2016; **Published online** (www.cnki.net): May 04, 2016

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31270479)

**\*通讯作者:** Tel/Fax : 86-418-3350577 ; E-mail : zhuhongfei2008@163.com

收稿日期: 2016-01-14; 接受日期: 2016-05-04; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-05-04

随着矿产资源的持续开发利用, 金属富矿和低硫的煤炭资源不断在减少, 而贫矿资源以及高硫煤炭资源必需被开发利用以解决全球性的资源需求危机问题。细菌浸矿技术在金属矿产开发和煤炭的脱硫过程中日益发挥着重要作用, 不论是在劣质贫矿资源还是优质富矿资源的处理上都起着重要的作用。细菌浸矿就是利用细菌与矿石(粉)在一个体系内发生生物化学作用, 这种作用主要是生物氧化, 促使矿石中的金属浸出或者是使目标金属或者非金属元素处于容易被加工浸出的状态; 煤粉浸矿就是利用浸矿细菌脱除煤粉中的硫, 使其转化为亚硫酸、硫酸或者是硫酸盐等可溶性的状态而从煤粉中脱离出来。根据我国现有的生产技术水平, 这种技术比较容易实现, 并具有环境友好的特点, 适应社会的可持续发展的战略要求<sup>[1]</sup>。

尽管生物浸矿技术不断地被广泛采用, 浸矿细菌的协同作用已经取得了一定的进展, 比较有效地实现了生物浸矿的目标, 但是协同浸矿方法的运用还需要进一步完善, 协同浸矿的混合菌剂还没有被开发出来, 协同浸矿过程缺乏分子生物学的监测手段, 针对目的金属的精准协同浸矿方法还没有报道, 这种浸矿方法的效率还有待提高。本文主要针对协同浸矿问题进行探讨并提出解决方法。

### 1 3种主要浸矿细菌的生物学特性

常用浸矿细菌主要是常温、嗜酸细菌, 如氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*, 简称 *A. ferrooxidans*)、氧化亚铁钩端螺旋菌(*Leptospirillum ferrooxidans*, 简称 *L. ferrooxidans*)、氧化硫硫杆菌(*Acidithiobacillus thiooxidans*, 简称 *A. thiooxidans*)等, 此外还有硫化叶菌属(*Sulfolobus*)以及硫化芽孢杆菌属(*Sulfobacillus*)的一些细菌, 前三者在浸矿过程中广泛使用并发挥着最为有效的协同作用<sup>[2]</sup>。这些浸矿细菌主要生存在适合自身生长而其它细菌不能存活的酸性矿坑水中, 在适合的温度、pH 及无机盐浓度的条件下, 以亚铁、硫、或硫化矿为能

源物质, 浸矿细菌从对这些物质的氧化过程中获得能量, 合成维持自身生长的物质, 同时产生有利于浸矿的酸或者其它一些代谢物。目前微生物浸矿有金矿、铀矿(黄铁矿)、铜矿(黑铜矿、赤铜矿)、多金属结核、难选铜-锌混合矿、大型铜-镍硫化矿、钽金属的浸出, 此外有些煤粉脱硫和污泥中的重金属脱除等也都会用到此方法<sup>[3]</sup>。

*A. ferrooxidans* 是最为重要的浸矿微生物, 不论是单独浸矿还是在细菌的协同作用中都发挥着重要的氧化作用。*A. ferrooxidans* 为无机化能自养, 专性好氧嗜酸; 这种细菌生活在 pH 1.0–5.0 的环境中, 最适 pH 2.0–2.5, 通过氧化亚铁离子或者还原性硫化物获得能量, 同时产生三价铁、亚硫酸或硫酸等物质浸出金属<sup>[4]</sup>。正是利用了这个特性, 才能完成金属矿石的浸矿以及烟雾、煤粉的脱硫过程。*A. ferrooxidans* 以二氧化碳为碳源, 以氨和铵盐为氮源, 在 9 K 或者改进的 9 K 固体或液体培养基中均能生长, 世代时间为 6.5–15 h, 菌落为黑色, 直径为 0.5 mm 左右, 菌落周围为分散的铁锈色斑渍区。氧化亚铁硫杆菌属于革兰氏阴性细菌, 菌长大约 1  $\mu\text{m}$  到数  $\mu\text{m}$ , 宽约 0.5  $\mu\text{m}$ , 杆状, 端生鞭毛, 能游动, 腺嘌呤(C)+鸟嘌呤(G)的摩尔百分含量为 57%–62%。

*L. ferrooxidans* 是生物湿法冶金过程中主要的浸矿菌种之一, 菌体大小约  $(0.25\text{--}0.30) \times (1.00\text{--}3.00) \mu\text{m}$ 。它是一类专性自养铁氧化细菌, 菌体呈螺旋状, 革兰氏阴性菌, 有鞭毛, 可运动。它可以在 pH 1.0–3.0 的环境中生长良好, 在 9 K 或者改进的 9 K 液体或固体培养基上都能生长; 由于这种细菌可以固定  $\text{N}_2$  和  $\text{CO}_2$ , 在生态系统中被称为先锋生物。在自然界中常与 *A. ferrooxidans* 及喜温硫杆菌(*Thiobacillus caldus*, 简称 *T. caldus*)等共同存在, 并参与金属及硫化物的氧化过程<sup>[5]</sup>。1999 年 Rawlings 等在报道中阐述在浸矿反应中 *L. ferrooxidans* 主导了铁氧化反应, 与亚铁离子的亲和力要高于氧化亚铁硫杆菌, 并且能比 *A. ferrooxidans* 耐受较高的酸度, 所以常在混合菌种浸矿中发挥主导作用<sup>[6]</sup>。不仅如此, *L.*

*ferrooxidans* 在以氧为电子受体时,可以耐受高达 800 mV 以上的氧化还原电位,也可以忍受更高浓度的三价铁离子的抑制作用,因此在浸矿体系中要保证 *L. ferrooxidans* 数量的优势地位,并持续保持一定的比例<sup>[6]</sup>。*L. ferrooxidans* 的最适生长温度 30 °C,有些可以忍受 40–45 °C 的高温,所以它容易适应发热性的堆浸反应,因而在浸矿中期和后期发挥着重要作用,它氧化速率的高低、对矿石的适应能力等都将直接影响生物冶金工业的生产效率和可开采范围等关键问题。

*A. thiooxidans* 是 Waksman 和 Joffe 于 1922 年首先分离得到的。它是矿质化能自养微生物,专性好氧,嗜酸,生活在 pH 0.5–6.0 之间,最适 pH 为 2.0–3.5。硫是其高效能源物质,它能够快速氧化单质硫以及还原态的硫化物而被广泛用于微生物浸矿,通过获得自身细胞生长和代谢所需要的能量,以  $\text{NH}_4^+$  为氮源,以空气中  $\text{CO}_2$  为碳源<sup>[7]</sup>。*A. thiooxidans* 在硫代硫酸

盐固体培养基上的菌落极小(一般小于 1.0 mm),透明或白黄色,在延长培养时变清亮,边缘完整;在 Starkey 液体培养基中呈均一又半透明的浑浊状,含硫培养液的 pH 值可降至 1.0 左右,也能够,能够在 Starkey 的固体培养基中生长。该菌属于革兰氏阴性菌,形态为棒状,大小为 1 mm×2 mm,宽 0.3  $\mu\text{m}$ –0.5  $\mu\text{m}$ ,长 1.0  $\mu\text{m}$ –2.0  $\mu\text{m}$ 。该菌产生的酸性溶液可以催化矿物的溶解。由于 *A. ferrooxidans* 在利用含铁的金属矿粉浸矿时会在矿粉颗粒的表面形成硫膜,从而阻碍浸矿细菌和矿粉进一步接触,形成了隔离,而嗜酸性的 *A. thiooxidans* 却可以利用硫,将阻碍浸矿的硫层分解,在浸矿过程扮演了氧化剂的角色,因而它在浸矿中的作用尤为重要<sup>[2]</sup>。基于 *A. thiooxidans* 对硫的突出氧化作用,它可以直接将高硫煤粉中的硫单质或者黄铁矿等含硫成分氧化成亚硫酸或者硫酸,从而脱除其中含有的硫。

以上 3 种主要浸矿细菌的特性总结在表 1 中。

表 1 3 种主要浸矿细菌的生物学特性  
Table 1 Biological features of three important leaching bacteria

属性 Property	氧化亚铁硫杆菌 <i>A. ferrooxidans</i>	氧化亚铁钩端螺旋菌 <i>L. ferrooxidans</i>	氧化硫硫杆菌 <i>A. thiooxidans</i>
Gram stain	Negative	Negative	Negative
Founder	Hinkle & Colmer, 1947	Balashova, 1974	Waksman & Joffe, 1922
Carbon source	$\text{CO}_2$	$\text{CO}_2$	$\text{CO}_2$
Energy	$\text{Fe}^{2+}$ 、S	$\text{Fe}^{2+}$	Elemental sulfur or reduced sulfide
Habitat	Acid mine drainage	Acid mine drainage	Acid mine drainage
Nitrogen source	$\text{NH}_4^+$	$\text{NH}_4^+$	$\text{NH}_4^+$
Advantage	Acid or multimetal ion-resisting	Tolerance to high temperature or strong acid	Strong acid or metal ion-resisting
Medium	9K <sup>[8]</sup>	9K <sup>[8]</sup>	Starkey <sup>[8]</sup>
Nutrition type	Chemoautotrophy	Chemoautotrophy	Chemoautotrophy
Shape	Short rod with round ends	Bend rod	Short rod with round ends
Optimum pH	2.0–2.5	1.0–3.0	2.0–3.5
Optimum temperature (°C)	28–35	30	28–35

除了上述的 3 种细菌以外, 像 *T. caldus* 等十几种原核生物也在浸矿体系中被陆续发现<sup>[9]</sup>。随着基因组学相关的细菌检测和鉴定手段的提高, 会有越来越多的重要浸矿细菌得到快速的识别并应用于生物浸矿。

## 2 3 种细菌协同作用的效果论证

根据现有的报道, 协同作用主要用于金属矿粉的目的金属浸取和煤粉等物质中有害元素的脱除两方面。协同作用的实验变化趋势是由简单到复杂。*A. ferrooxidans*、*L. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans* 3 种细菌中, 不论是两者还是三者协同作用优势都可以在已有的研究中得到体现, 三者协同的作用效果是目前最好的。细菌的协同作用基本就是去除非目的金属元素或者硫元素, 暴露目的金属元素, 让目的金属的获得或者含硫量的降低变得更加简便易行。1997 年 Brombacher 等就发表了用 *A. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans* 两种浸矿细菌脱除粉煤灰中的铜、镉、镍、铬和锌等金属元素, 提高粉煤灰的利用价值, 脱除重金属后的粉煤灰可以用于建筑行业, 该实验证实了这两种细菌的协同作用好于单菌的作用<sup>[10]</sup>。这项研究为协同作用的利用提供了前沿的参考; 同样是利用这两种浸矿细菌, 2005 年沈镭等报道了利用两者的协同作用去除污泥中的重金属, 如铜、镉、锰、铬和锌等。该研究比较了在不同底物浓度下用 *A. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans* 分别浸出重金属的效果, 研究了底物浓度、污泥浓度和起始 pH 值等基本因素作用下对重金属去除效果的影响。实验结果证明, *A. ferrooxidans* 去除重金属的效果比 *A. thiooxidans* 好, 在 *A. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans* 的共同作用下, 污泥中大部分的重金属得到了有效的去除。这个实验证明了浸矿细菌的协同作用可以有效地处理土壤污染问题<sup>[11]</sup>。这项研究中不同浸矿细菌的浓度配比可以作为混合浸矿菌剂研发的提示, 也就是说混合浸矿菌剂中不同的细菌浓度配比因目的而异。2010 年刘玉德等的研究也证明了在 *A. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans* 的协同作用下, 生物

刻蚀加工金属材料的速率要好于单独使用其中的任何一种细菌<sup>[12]</sup>。2012 年南开大学的 Li 等用这两种细菌不仅脱除了污泥中的重金属, 而且还证明了浸矿细菌协同作用处理的污泥中的大肠杆菌菌群数大为减少, 降低了污泥的生物细菌传染性, 为污泥在农业上的重新利用提供了安全保障<sup>[13]</sup>。*A. ferrooxidans* 和 *L. ferrooxidans* 的协同作用在金的氧化和提取中得到了证实, Deng 等利用这种浸矿方法, 在优化了离子浓度和硫脲添加剂的情况下, 把含砷和硫化物的金矿的浸矿时间缩短了 9 d, 把金的提取时间从 6 h 缩短到 1 h<sup>[14]</sup>。上述研究有利地证明了两种主要浸矿细菌的浸矿作用都好于单菌, 协同作用浸矿过程中需要多种细菌的参与, 这是细菌浸矿的发展趋势, 浸矿细菌比例需要不断优化才能达到较好的效果。

到目前为止, 许多研究普遍表明了 3 种浸矿细菌的协同作用优于单菌或者两菌的, 并且 3 种浸矿细菌在数量上存在着一定的比例关系, 这种比例关系还要受到浸出的代谢产物影响, 所以最优化的浸矿效果要经过不断摸索。早在 1998 年 Battaglia-Brunet 等就用含钴的黄铁矿证明了 3 种浸矿细菌协同作用的浸矿效果是最优的, 同时也说明了钴的浸出率与浸矿体系内某些细菌的数量存在着相互作用; 当 *L. ferrooxidans* 存在的情况下钴的浸出率随着 *A. ferrooxidans* 的增加而增加, 并且不受起始 *L. ferrooxidans* 的影响, 而当起始 *A. thiooxidans* 的浓度高于 *A. ferrooxidans* 的浓度, *A. ferrooxidans* 的作用要随着 *A. thiooxidans* 的增加而加强。 $\text{Fe}^{3+}$  在较低浓度(60 g/L)时, *L. ferrooxidans* 随着  $\text{Fe}^{3+}$  的增加而增加,  $\text{Fe}^{3+}$  在较高浓度时, *L. ferrooxidans* 反而下降了, 这个变化说明了 *L. ferrooxidans* 在后期发挥作用, 其它的杆菌在黄铁矿的起始阶段发挥作用<sup>[15]</sup>。2008 年刘政等的 3 种细菌(*A. ferrooxidans*, *L. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans*) 混养预氧化难浸金矿, 经过生物预氧化后的效果表明协同浸矿使得金的浸出率明显提高, 可以让金的浸出率都提高到 80% 以上<sup>[16]</sup>。混合菌的浸矿效果比

单菌种或者两菌种的浸矿效果都好,金的浸出率提高 2%–80%。在此研究中,由于生物预氧化较好地去除了包裹在微细金外层的硫层,使金充分暴露出来,在氰化提金时与氰化物良好接触,提高了浸矿的效果和速度,所以浸出率明显提高<sup>[17]</sup>。这项研究还确定了浸矿体系中 3 种细菌数量的最佳混合比例是 *A. ferrooxidans*:*L. ferrooxidans*:*A. thiooxidans*=2:2:1,为今后的多菌浸矿实践提供有益的参考。在前面协同浸矿的研究的基础之上,朱宏飞等利用甘氨酸进一步提高了协同作用效果,通过向浸矿体系中添加 0.4%的甘氨酸,经过这样预处理的金矿粉,氰化浸金过程中金的回收率进一步提高,回收率从 76%提高到了 91%–98.5%,同时氰化钠的用量减少了 31.3%,该技术已申请专利(专利申请号 201510653370.X)。

3 种浸矿细菌的协同作用对于有毒以及有害元素(砷和硫等)的处理表现了突出的有效性。2014 年吴威等用协同作用的 3 种细菌(*A. ferrooxidans*, *L. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans*)研究了含砷的难处理金矿,相比于单一菌种,混合细菌具有更强的砷氧化浸出能力,经过了 35 d 的处理砷浸出率达到了 70.1%–96.7%<sup>[18]</sup>。这项研究为其它金属矿石中的有毒有害元素的脱除提供了有效的方法。*A. ferrooxidans* 可以比较容易地氧化煤粉中的黄铁矿和磁黄铁矿等无机相中的硫元素,煤粉中的有机相硫常常以硫醚、硫醇和二苯并噻吩等形式存在,*A. ferrooxidans* 等协同作用的细菌可以氧化 C–S 之间的化学键,从而达到去除硫元素的目的<sup>[19]</sup>。*A. thiooxidans* 的特性使其在煤粉单质硫的氧化反应中发挥了重要作用。

2011 年中国的 Li 等用分子生物学的手段分析了协同浸矿中细菌的组分和生长变化趋势,这种芯片检测方法为今后浸矿过程的监测开创了一片新领域<sup>[17]</sup>。他们已经用群落基因组芯片(Community genome array, CGA)不仅证明了协同浸矿的优势,而且还突破了传统的检测范围,成功地检测到了 *A. ferrooxidans*、*L. ferrooxidans*、脂环酸芽孢杆菌属

(*Alicyclobacillus* spp.)和 *sulfobacillus* spp.的细菌,把协同作用的细菌扩大到了 6 个部分,该研究还表明了硫氧化细菌、铁氧化细菌、离子氧化细菌、自养细菌和好养及厌氧细菌共同构成了浸矿过程的协同作用。在浸出中,如果亚铁离子浓度或 pH 较低,*L. ferrooxidans* 比 *A. ferrooxidans* 生长要好,并且成为优势菌。反之,如果亚铁离子浓度或 pH 较高,则 *A. ferrooxidans* 生长较好。这说明培养基浓度和菌群间有密切关系<sup>[17]</sup>。细菌协同浸矿向着多菌种参与的高水平和自动化发展了,功能基因芯片就是一个证明。它具有高通量、高灵敏度、高精度和高特异性的特点,对于浸矿体系内的各个细菌的重要基因功能和作用、物化条件等可以做出准确又快速的分析<sup>[20]</sup>。不同的浸矿体系中协同作用的各种细菌生长的数量比例以及这种比例主要受哪些因素的调控还需要进一步的研究。

### 3 3 种细菌协同作用的机制分析

生物冶金中使用较为广泛的还是 *A. ferrooxidans*, *A. thiooxidans* 和 *L. ferrooxidans* 等 3 种细菌之间的协同作用。它们浸出金属硫化物的方式有间接浸出、直接浸出和协作浸出等 3 种作用机制。由于不同浸矿细菌对矿物的氧化分解能力不同,并且在矿物浸出中发挥着各自的优势,因此可以将具有不同优势特性的菌种进行混合浸矿以提高浸出率。

纵观现有报道的研究成果,任何 2 种或者是 3 种浸矿细菌都可以发挥协同作用。*A. ferrooxidans* 参与了大多数的浸矿协同作用。在 *A. thiooxidans* 和 *L. ferrooxidans* 两菌种的协作中,*L. ferrooxidans* 通过下列反应式: $2\text{Fe}^{2+} + 1/2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow 2\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$  和  $\text{S}^0 + 3/2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_4$  达到了氧化硫化矿中的  $\text{Fe}^{2+}$  成  $\text{Fe}^{3+}$  的效果,再由  $\text{Fe}^{3+}$  将  $\text{S}^{2-}$  氧化成  $\text{S}^0$ ,而 *A. thiooxidans* 可以发挥氧化作用,利用硫单质等中间产物将硫等中间价态的物质氧化成  $\text{SO}_3^{2-}$  和  $\text{SO}_4^{2-}$ ,硫元素转化成盐类物质进入液相,可以被沉淀出去,从而达到对难浸金矿的预氧化效果<sup>[21]</sup>。

*A. ferrooxidans* 被认为是浸矿体系中最重要 的细菌是由于它对金属的直接作用,通过下列反

应式:  $MS+2O_2 \rightarrow M^{2+}+SO_4^{2-}$ , 或者通过  $Fe^{3+}$  的间接作用:  $MS+2Fe^{3+} \rightarrow M^{2+}+S^0+2Fe^{2+}$ 。如果 *A. ferrooxidans* 和 *L. ferrooxidans* 组合, 它们的共同作用使  $Fe^{2+}$  的氧化速率加快,  $Fe^{3+}$  产生增多,  $Fe^{3+}$  的氧化作用使矿物表面硫层等中间产物的产生速度增加, 而且数量增多; 再由 *A. ferrooxidans* 对硫进行氧化; 如果 *A. ferrooxidans* 与 *A. thiooxidans* 组合, 硫可以被 *A. thiooxidans* 专门氧化, *A. ferrooxidans* 对金属的浸出优势加强<sup>[22]</sup>。

当这 3 种细菌混合, 金属浸出率提高的原因可能是: *A. ferrooxidans* 迅速氧化  $Fe^{2+}$ , 同时产生的硫膜又能尽快地被溶液中存在的 *A. thiooxidans* 所氧化, 避免矿物表面硫层等中间产物的积累所造成  $Fe^{3+}$  和  $H^+$  对矿石进攻的空间上的阻碍, *L. ferrooxidans* 在后期发挥作用, 并且它的生长可能受  $Fe^{3+}$  的抑制, 三者之间的有效配合增加了浸矿效率和金属的浸出率。当这 3 菌种同时加进浸矿体系时, *A. thiooxidans* 菌占 2/5 的比占 1/5 的好, 原因也可能是只有足够的 *A. thiooxidans* 才能配合 *A. ferrooxidans* 和 *L. ferrooxidans* 作用, 所以 *A. thiooxidans* 菌以比例为 2/5 出现时, 氧化速率快, 金浸出率高。如果分别按 *A. ferrooxidans*:*A. thiooxidans*:*L. ferrooxidans*=1:2:2 和 *A. ferrooxidans*:*A. thiooxidans*:*L. ferrooxidans*=2:1:1 混合, 金的浸出率可由 85% 提高到 90% 以上<sup>[21]</sup>。

Lizama 等报道用氧化亚铁硫杆菌和氧化硫硫杆菌同时浸出铜锌硫化矿, 并且二者对金属硫化物的浸出机制是不同的, 因为相同条件下它们对铜、锌、硫和铁元素的氧化能力是有区别的, 因此一个均匀和平衡的浸矿系统才能对多种金属的浸出更加有效<sup>[1]</sup>。Falco 等的铜蓝浸矿实验表明了, 在无亚铁离子添加或者是 *L. ferrooxidans* 协同作用下, *A. thiooxidans* 对铜离子的浸出能力受到限制, 而 *A. thiooxidans* 对 *L. ferrooxidans* 等浸矿细菌的活动有促进作用<sup>[23]</sup>。

随着微生物浸矿研究的发展, 人们已经进行了许多细菌协同浸矿的研究工作, 结果表明利用菌种

混合进行浸矿的效果确实要比单一菌种浸矿具有明显的优势。因为菌株的混合可以起到优势互补的作用。浸矿反应发生的空间是矿粉颗粒的表面和细菌的胞外多糖之间, 多种细菌的吸附可以为氧化反应的发生提供多样的有效空间, 无疑促进了金属浸出, 并且细菌的吸附能力和吸附的数量也决定了浸矿能力的强弱<sup>[23-24]</sup>。2007 年韩国清州大学的 Lee 等用含铜炉灰的吸附浸铜实验证明 *A. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans* 分别吸附在同一颗粒的不同位点上, 除了 17% 的吸附位点是两者都可以竞争的。这个浸矿系统的浸出效率与矿浆浓度、底物特性、 $Fe^{2+}$  和硫元素的比例有关系, 同时从一个不同的角度解释了浸矿体系中不同细菌各有其独特的浸矿位点, 也就是浸矿细菌可以在矿粉颗粒不同的空间位置上发生氧化反应以完成它们的协同作用<sup>[22]</sup>。

人们利用现有的生物信息学和分子生物学手段对生物冶金环境的组成进行了分析, 分析结果表明: (1) 生物冶金环境往往存在多种细菌, 有时尽管接种的是单一菌种的细菌, 浸出过程中往往会形成多混合菌的浸出, 这是由于真实的浸矿环境是无法灭菌的。(2) 自养菌与异养菌在代谢上的相互补充。比如 *A. ferrooxidans* 与嗜酸杆菌属 (*Acidiphilum* spp.) 的细菌就属于这种情况。由于自养菌主要为铁氧化细菌。由于浸矿过程或者是细菌的生长过程中会产生有机物, 这些有机物会对自养菌的生长产生抑制, 而异养菌, 如隐性嗜酸杆菌 (*Acidiphilium cryptum*) 能够利用自养菌产生的这些有机物, 从而消除有机物对自养菌生长的抑制作用。异养菌能够产生维生素类的生长因子对矿物的浸出起到促进作用。(3) 自养菌与自养菌的相互补充作用, 如 *A. ferrooxidans* 与 *A. thiooxidans* 的共同作用。这两种自养菌分别为铁氧化细菌和硫氧化细菌。硫氧化菌能够氧化硫膜, 为铁氧化细菌创造浸矿的深度空间, 使得浸矿反应顺利进行。(4) 自养菌与混合营养菌共同作用, 如氧化亚铁微杆菌 (*Acidimicrobium ferrooxidans*) 与 *Sulfobacillus* spp. 的细菌就符合这种情况<sup>[3,25]</sup>。混合营养菌一般为铁氧

化菌。由于自养菌从空气中获取  $\text{CO}_2$  的能力很强, 可以提供混合营养菌异养生长时所需的有机物, 因此浸矿细菌相互之间可以促进生长, 对矿物的浸出十分有利。总之, 在混和细菌的协同浸矿体系中, 浸矿的机制是复杂的, 但是铁氧化细菌和硫氧化细菌的共同作用是浸矿动力学的主要推动者, 也是浸矿体系内协同作用发挥的关键因素。

#### 4 未来二十年浸矿细菌协同作用的研究展望

混合浸矿菌剂的开发是当今生物冶金研究的重点之一。这种高效的浸矿菌剂应该是由抗胁迫并且经过驯化的优良的浸矿细菌按照目标金属的特性组合而成, 可以由 3 种(*A. ferrooxidans*, *L. ferrooxidans* 和 *A. thiooxidans*)或者多种细菌(再加上喜温硫杆菌和隐秘嗜酸杆菌等)或者真菌组成, 它们之间的代谢具有恰当的互补性, 可以有针对性地浸出某些金属, 使各种金属高效浸出。混合浸矿菌剂应该是针对金、镍、稀土、银、铀或者锰等不同的金属元素而相应地开发出来, 使浸矿细菌的组合达到最优化。

抗性浸矿细菌的获得是协同浸矿应用的另一个要务。现有的主要浸矿细菌以嗜中温的微生物居多, 以大堆浸矿的工业应用中往往在浸矿堆内部温度会持续偏高, 偏离嗜中温细菌的最适生长温度范围, 此外浸矿堆内部还会处于缺氧状态, 或者是浸矿体系中存在高浓度的、有毒害作用的金属离子, 所以需要通过各种驯化的手段, 如紫外线或者化学诱变剂等, 培养适应温度范围广、抗缺氧或抗有毒元素胁迫的浸矿细菌<sup>[25]</sup>。由于许多报道已经揭示了浸矿细菌的代谢途径和相关的基因, 所以可以通过代谢工程或者基因工程等手段对浸矿细菌进行广泛的改造和筛选, 培养高效的浸矿工程菌株。现有的驯化方法、基因工程手段和突变技术能够实现抗性浸矿细菌的筛选和菌种的选育工作。

在互联网+时代, 数码科技为智能化的浸矿反应器的开发提供了可能性, 这是提高浸矿效率的又一关键因素。高效灵敏的生物反应器应该是由抗酸、抗碱并由耐腐蚀的材料制成, 容量要足够大,

并能为浸矿细菌的生长提供一个适宜的理化环境。浸矿反应器还应该配有各种灵敏的检测设备和仪表, 便于随时在线监控和自动调整浸矿的参数, 包括 pH 值、溶氧、温度和氧化还原电位等。智能化的反应器可以及时优化浸矿体系的参数, 以保证浸矿过程连续又高效地进行。

各种组学的发展为浸矿过程控制提供方便条件。随着细菌基因组学、转录组学和生物信息学的蓬勃发展, 浸矿细菌和金属浸出相关的功能基因组不断被识别出来, 浸矿基因的表达谱可以得到探索, 这些知识的积累使得混合浸矿菌剂的开发和浸矿过程的严密监控产生质的飞跃。以 PCR 或者是 Real-time PCR 为基础的方法可以分析堆浸和搅拌器内的细菌组成, 无需在实验室中进行耗时的细菌培养。芯片技术(CGA 和 GeoChip)已经用于从混合浸矿液中检测细菌, 并发现在浸矿过程中微生物的群落和化学物质如何处在变化当中, 这种方法为检测浸矿体系中的细菌组成、群落转换、菌群数量的调控和加快浸矿效率提供了有效的方法<sup>[20]</sup>。PCR 和芯片技术可以让细菌培养、基因组提取以及核酸杂交在短时间内快速完成, 甚至一步解决。2008 年就已经有报道说明用蛋白质抗体芯片技术可以检测原生态浸矿微生物的个体、相关的大分子和小分子等, 可以快速检测出自然环境中的浸矿细菌<sup>[26]</sup>。根据现有的芯片技术可以预测在不久的将来就会有在线的检测芯片出现, 这种芯片能通过传感器快速地反应出浸矿体系中的细菌种类和数量比例, 便于随时调整浸矿体系内的各种细菌配比, 以迅速获得最佳的浸矿效果, 使目标金属有效地浸出。

#### 参 考 文 献

- [1] Lizama HM, Suzuki I. Bacterial leaching of a sulfide ore by *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*: I. Shake flask studies[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1988, 32(1): 110-116
- [2] Siezen RJ, Wilson G. Bioleaching genomics[J]. Microbial Biotechnology, 2009, 2(3): 297-303
- [3] Zhou JK. Research on selection and interaction with the minerals of three bioleaching microbes[D]. Changsha: Doctoral Dissertation of Central South University, 2004 (in Chinese)  
周吉奎. 三类生物冶金微生物菌种的选育及其与矿物作用研究[D]. 长沙: 中南大学博士学位论文, 2004

- [4] Valdés J, Pedroso I, Quatrini R, et al. *Acidithiobacillus ferrooxidans* metabolism: from genome sequence to industrial applications[J]. BMC Genomics, 2008, 9: 597
- [5] Liu Y, Liu XM, Tian KL, et al. *Leptospirillum ferrooxidans* culture and morphology observation on solid plate[J]. Microbiology China, 2003, 30(6): 70-72 (in Chinese)  
刘纁, 刘相梅, 田克立, 等. 氧化亚铁钩端螺旋菌在固体平板上的培养及形态观察[J]. 微生物学通报, 2003, 30(6): 70-72
- [6] Rawlings DE, Coram NJ, Gardner MN, et al. *Thiobacillus caldus* and *Leptospirillum ferrooxidans* are widely distributed in continuous flow biooxidation tanks used to treat a variety of metal containing ores and concentrates[A]//AmilsR, Ballester A. Process Metallurgy[M]. Berlin:Elsevier,1999: 777-786
- [7] Yin HQ, Zhang X, Li XQ, et al. Whole-genome sequencing reveals novel insights into sulfur oxidation in the extremophile *Acidithiobacillus thiooxidans*[J]. BMC Microbiology, 2014, 14: 179
- [8] Son KH, Lee CG, Cho NJ. Leaching of copper from furnace dust by pure and mixed culture of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*[J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2007, 28(10): 1777-1780
- [9] Khan S, Haq F, Hasan F, et al. Growth and biochemical activities of *Acidithiobacillus thiooxidans* collected from black shale[J]. Journal of Microbiology Research, 2012, 2(4): 78-83
- [10] Brombacher C, Bachofen R, Brandl H. Biohydrometallurgical processing of solids: a patent review[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 1997, 48(5): 577-587
- [11] Shen L, Zhang TP, Jia XS. Study on heavy metal deprivation from sludge by *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2005, 44(2): 111-115 (in Chinese)  
沈镭, 张太平, 贾晓珊. 利用氧化亚铁硫杆菌和氧化硫硫杆菌去除污泥中重金属的研究[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2005, 44(2): 111-115
- [12] Liu YD, Wang XB, Shi WT, et al. Synergism effect of *Thiobacillus thiooxidans* and *Thiobacillus ferrooxidans* on the bio-etching[J]. Transactions of Beijing Institute of Technology, 2010, 30(9): 1028-1031 (in Chinese)  
刘玉德, 王西彬, 石文天, 等. 氧化硫硫杆菌和氧化亚铁硫杆菌生物刻蚀加工的协同作用[J]. 北京理工大学学报, 2010, 30(9): 1028-1031
- [13] Li Q, Wang C, Li BB, et al. Isolation of *Thiobacillus* spp. and its application in the removal of heavy metals from activated sludge[J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(97): 16336-16341
- [14] Deng TL, Liao MX. Gold recovery enhancement from a refractory flotation concentrate by sequential bioleaching and thiourea leach[J]. Hydrometallurgy, 2002, 63(3): 249-255
- [15] Battaglia-Brunet F, D'Hugues P, Cabral T, et al. The mutual effect of mixed *thiobacilli* and *leptospirilli* populations on pyrite bioleaching[J]. Minerals Engineering, 1998, 11(2): 195-205
- [16] Liu Z, Yang SB, Tao MH, et al. Study on pre-oxidation effect of refractory gold ore by Multi-bacteria polyculture[J]. Precious Metals, 2008, 29(3): 22-25 (in Chinese)  
刘政, 杨绍斌, 陶敏慧, 等. 多菌种混养预氧化难浸金矿效果的研究[J]. 贵金属, 2008, 29(3): 22-25
- [17] Li SP, Guo N, Wu HY, et al. High efficient mixed culture screening and selected microbial community shift for bioleaching process[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2011, 21(6): 1383-1387
- [18] Wu W, Si GC, Liu QP, et al. Biooxidation refractory arsenic gold ore by mixed strains[J]. Modern Mining, 2014(7): 38-41 (in Chinese)  
吴威, 斯贵才, 刘启鹏, 等. 混合菌落氧化处理含砷金矿试验[J]. 现代矿业, 2014(7): 38-41
- [19] Zhao XF, Zhang GH, Yang LY. Development of biodesulfurization and simulation of stored-up status of organic sulfur in coal[J]. Coal Conversion, 2003, 26(3): 16-20 (in Chinese)  
赵新法, 张光华, 杨黎燕. 煤有机硫赋存形态模拟与微生物脱硫研究进展[J]. 煤炭转化, 2003, 26(3): 16-20
- [20] Zeng WM, Zhou D, Shi LJ, et al. Application of functional gene arrays in the research of biohydrometallurgy[J]. Nonferrous Metals Science and Engineering, 2013, 4(6): 8-12 (in Chinese)  
曾伟民, 周丹, 石丽娟, 等. 功能基因芯片技术在生物冶金研究中的应用进展[J]. 有色金属科学与工程, 2013, 4(6): 8-12
- [21] Ko MS, Park HS, Kim KW, et al. The role of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in arsenic bioleaching from soil[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2013, 35(6): 727-733
- [22] Lee KY, Yoon IH, Lee BT, et al. A novel combination of anaerobic bioleaching and electrokinetics for arsenic removal from mine tailing soil[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(24): 9354-9360
- [23] Falco L, Pogliani C, Curutchet G, et al. A comparison of bioleaching of covellite using pure cultures of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* or a mixed culture of *Leptospirillum ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*[J]. Hydrometallurgy, 2003, 71(1/2): 31-36
- [24] Vardanyan A, Stepanyan S, Vardanyan N, et al. Study and assessment of microbial communities in natural and commercial bioleaching systems[J]. Minerals Engineering, 2015, 81: 167-172
- [25] Zhao W, Han YF, Ma XM, et al. Research on key microbe classification and function in pyrite leaching by mixed bacteria[A]//Proceedings of the 7<sup>th</sup> China Summit Forum on Industrial Biotechnology Development[C]. Tianjin: Chinese Society of Biotechnology, 2013 (in Chinese)  
赵维, 韩一凡, 马晶梅, 等. 混和菌群浸出黄铁矿过程中关键微生物类别与功能的研究[A]//第七届中国工业生物技术发展高峰论坛论文集[C]. 天津: 中国生物工程学会, 2013
- [26] Parro V, Fernández-Calvo P, Rodríguez Manfredi JA, et al. SOLID2: an antibody array-based life-detector instrument in a Mars Drilling Simulation Experiment (MARTE)[J]. Astrobiology, 2008, 8(5): 987-999