

高铁离子浓度下氧化亚铁硫杆菌的生长行为

谢海云¹, 刘中华¹, 周峨²

(1. 昆明理工大学材料与冶金工程学院, 云南 昆明 650093;
2. 中国科学院过程工程研究所多相反应重点实验室, 北京 100080)

摘要:测定了氧化亚铁硫杆菌在高铁离子浓度下的生长曲线、溶液 pH 的变化、T.f.菌对亚铁氧化情况及溶液氧化还原电位(*Eh*)的变化规律. 实验发现 T.f.菌在 $[\text{Fe}^{2+}] < 70 \text{ g/L}$ 及 $\text{pH}=1.6\sim 2.0$ 、接种量 10%的条件下生长良好, 培养时间为 10 d 后细菌浓度可以达到 $(0.8\sim 31.6)\times 10^7$ 个/ml.

关键词:氧化亚铁硫杆菌; 生长行为; 亚铁离子

中图分类号: Q933; TQ929 文献标识码: A 文章编号: 1009-606X(2004)01-0043-04

1 前言

氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*, 简称为 T.f.)广泛分布在温泉、火山裂缝、金属硫化矿和煤矿的酸性矿坑水中, 最适生长温度 $28\sim 35^\circ\text{C}$ ^[1], 细胞呈杆状, 细胞尺寸 $(0.3\sim 0.5) \mu\text{m}\times(1.0\sim 2.0) \mu\text{m}$, 化能自养, 专性好氧, 嗜酸, 中等嗜热, 在生物冶金过程中起重要作用^[2].

生物湿法冶金中, T.f.菌在 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} 的过程中获得自身生长繁殖所需能量, Fe^{2+} 的氧化速度表征其代谢活性. 已有研究^[3]表明, T.f.菌的浸出机理中重要的一方面是细菌代谢产生的 Fe^{3+} 对矿物的间接氧化作用. 但 T.f.菌在高浓度铁离子溶液中的生长情况如何, 能否用富铁菌液浸矿及效果如何, 还未见有关此方面的研究报道. 基于此, 本研究设计了独立的氧化过程, 研究高浓度铁离子环境下氧化亚铁硫杆菌的生长行为, 一方面提供该环境中 T.f.菌的生长特征, 另一方面使氧化条件达到最佳, 尝试为驯化后高浓度 Fe^{3+} 的 T.f.菌液用于浸矿生产实践提供借鉴依据^[4].

2 材料与方法

2.1 培养条件

实验菌种取自云南某铜矿, 经转代培养后使用.

培养基为 9K 培养基, Fe(II) 来源: 用 $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (化学纯)配制, 培养温度 $30\sim 32^\circ\text{C}$, 培养时间 10 d, 接种浓度 10^7 个/ml, 接种量 10%, 显微镜记数.

培养方式: 在 500 ml 锥形瓶中装入按上述条件配制的 300 ml 培养液, 置于 8002 型恒温水浴锅内(30°C), 用 AC0-5502 型空气泵鼓气及控制鼓气量, pHB-4 型精密酸度计测 pH 值, 定期补加蒸馏水弥补损耗的水份.

2.2 不同初始 Fe^{2+} 浓度下氧化亚铁硫杆菌生长曲线的测定

测定细菌的生长曲线对掌握高铁离子浓度下细菌生长规律很重要. 实验将转代培养后的细菌分别接入初始 $[\text{Fe}^{2+}]=30\sim 100 \text{ g/L}$ 、初始 $\text{pH}=1.6$ 的培养基中, 种菌浓度 10^7 个/ml, 接种量 10%. 定时检测培养基中的细菌数及亚铁量, T.f.菌的生长曲线如图 1 所示. 图 1 表明, 在接种的初期(1~3 d), T.f.菌在新环境中需要适应过程, 此时的细菌数量保持恒定或有一定量的减少, 细菌的生长处于停

收稿日期: 2003-04-28, 修回日期: 2003-07-21

基金项目: 云南省应用基础研究基金资助项目(编号: 2000E0030M)

作者简介: 谢海云(1973-), 女, 甘肃省天水市甘谷县人, 在职博士研究生, 讲师, 有色金属冶金专业.

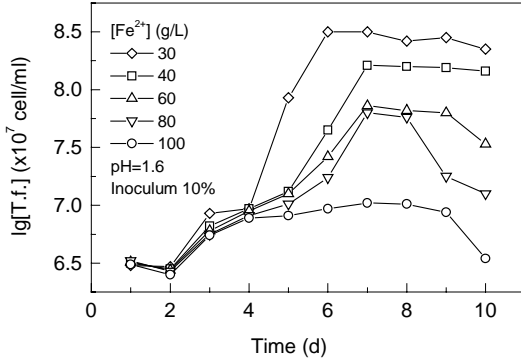


图1 氧化亚铁硫杆菌生长曲线
Fig.1 The growth curve of T.f.

滞期；随着对环境的适应，细菌的生长逐渐进入对数期(4~6 d)，细菌大量繁殖。随后进入稳定生长期和衰退期(7~10 d)。随初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 增加，T.f.菌进入对数期的时间延长，细菌的数量减少。铁离子浓度增加，对T.f.菌的生长有抑制作用。

3 结果与讨论

3.1 不同初始亚铁离子浓度对溶液 pH 的影响

实验在初始 $[\text{Fe}^{2+}] = 10 \sim 90 \text{ g/L}$ 范围考察了溶液 pH 值的变化，见图 2。由图可知，细菌培养过程中，初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 由 10 g/L 增至 90 g/L，pH 曲

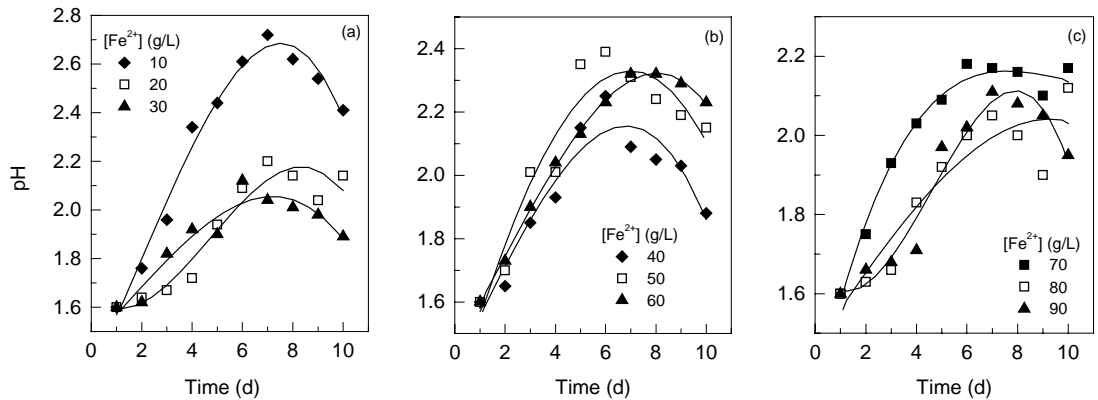
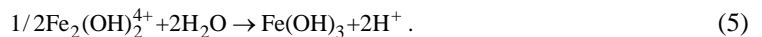
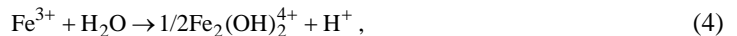


图2 T.f.培养过程中溶液 pH 值的变化

Fig.2 The change in liquid pH vs. culture time in the culture of T.f. (pH≈1.6, inoculum 10%)

经分析，培养初期在细菌参与下进行 Fe^{2+} 氧化反应，消耗酸引起 pH 上升，随培养时间延长，溶液中 Fe^{3+} 离子增多， Fe^{3+} 离子发生一系列水解反应，使溶液酸性增强，见式(1)~(5)。



生成的 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 不稳定，与培养基中存在的 SO_4^{2-} 、 Fe^{3+} 和 NH_4^+ 结合生成黄钾铁矾类物质：

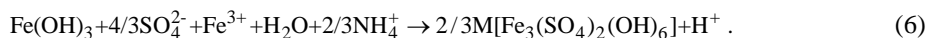


图 2(c)中曲线最大值小于图 2(b)中最大值,可解释为初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 由 10 g/L 增加至 90 g/L,随 Fe^{2+} 的氧化, Fe^{3+} 增多, Fe^{3+} 的水解加剧,根据式(6), H^+ 增加,pH 值降低.

3.2 初始 pH 对细菌生长及亚铁氧化的影响

培养基的初始 pH 值是影响细菌生长及活性的重要参数. 实验在不同的初始亚铁浓度的培养基中, 种菌浓度 10^7 个/ml、接种量 10%条件下, 考察了不同初始 pH 值对 T.f.菌生长的影响. T.f. 菌以亚铁的氧化来获取生命所需能量, Fe^{2+} 的氧化表征 T.f. 细菌的生长. 表 1 为一组典型的数据.

表 1 不同初始 pH 时亚铁氧化结果

pH	1.2	1.6	1.8	2.0	2.4	3.0
Average oxidation rate of ferrous ion [g/(L·d)]	1.81	2.74	2.25	1.79	1.30	1.42

由表可见,初始 pH 为 1.6 时亚铁的氧化率最大,表明 T.f. 菌生长较旺盛. 初始 pH 过高或过低都不利于细菌的生长. 高 pH 对细菌的抑制作用显著,当初始 pH 值较高时,易发生 Fe^{3+} 的水解反应. 实验发现,初始 pH 为 2.4 或 3.0,反应初期即有大量的沉淀生成,初始 pH 值越低越不易产生沉淀,但细菌生长的停滞期较长,生长速度较缓慢.

3.3 接种量对亚铁氧化的影响

当初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 为 30 g/L、初始 pH 为 1.6 时,接种量分别为 5%、10%和 15%,细菌对亚铁的氧化率分别为 1.86、2.74 和 2.21 g/(L·d),所以接种量以 10%为宜.

3.4 初始 Fe^{2+} 浓度对 T. f. 菌生长及亚铁氧化的影响

初始 Fe^{2+} 浓度对细菌生长繁殖及铁的氧化影响较大. 实验在初始 pH 值 1.6、培养时间 10 d、培养温度 30°C、接种量 10%及 Fe^{2+} 浓度为 10~110 g/L 范围内考察了对 T.f.菌生长及亚铁氧化的影响,结果如表 2 所示.

表 2 不同初始亚铁浓度时 T. f. 菌对亚铁的氧化率

Initial $[\text{Fe}^{2+}]$ (g/L)	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110
Bacteria density ($\times 10^7$ cell/ml)	18.40	20.60	31.60	16.20	13.80	13.30	14.30	9.60	4.00	1.20	0.80
Final $[\text{Fe}^{2+}]$ (g/L)	3.50	6.20	8.30	21.10	27.20	34.00	45.00	61.40	76.70	86.70	98.40
$[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]$	1.86	2.23	2.61	0.90	0.84	0.76	0.56	0.30	0.19	0.15	0.12
Oxidation rate of Fe^{2+} (%)	65.00	69.00	72.33	47.25	45.60	43.33	35.72	23.25	15.56	13.30	10.55

Note: initial pH=1.6, culture time 10 d, culture temperature 30°C, inoculum 10%.

由表可知,当初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 从 10 g/L 增至 110 g/L 时,T.f.菌数目明显减少,细菌的生长活性降低. 初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 为 10~30 g/L 时, Fe^{2+} 的氧化率较高. 当初始 Fe^{2+} 浓度为 30 g/L 时, Fe^{2+} 的氧化率达 72%. 溶液中初始 Fe^{2+} 浓度在 10~70 g/L 时, $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}] > 0.50$, Fe^{2+} 的氧化率大于 35%. 随溶液中初始 Fe^{2+} 浓度进一步升高, $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]$ 值及 Fe^{2+} 氧化率明显下降,当初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 为 110 g/L 时, Fe^{2+} 氧化率只有 10.55%,铁离子浓度过高,抑制了 T.f.菌的生长,导致对铁的氧化能力降低.

3.5 不同初始亚铁离子浓度对溶液氧化还原电位(Eh)的影响

实验在初始 Fe^{2+} 浓度为 10~110 g/L 范围内考察了溶液氧化还原电位 Eh 的变化情况,结果如图 3 所示,表明在实验所选时间范围内,溶液氧化还原电位 Eh 先上升后缓慢降低. 经分析,细菌生长过程中,溶液中主要发生的反应为式(1),根据能斯特方程和反应式中各物质的热力学数据,计算溶液的氧化还原电位如式(7),表明随着 T.f.菌将溶液中的 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} , Fe^{3+} 浓度增加, $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]$ 比值增加,导致溶液氧化还原电位 Eh 值上升. 实验结果与此理论分析一致.

$$Eh = 0.767 + 0.059 \lg([\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]). \quad (7)$$

当初始 Fe^{2+} 浓度从 30 g/L 增大至 110 g/L 时, 溶液最大氧化还原电位 E_h 由 592 mV 降低至 513 mV, 这可以由表 1 结果得到解释. 因 $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]$ 值随初始亚铁浓度的增加而减小, 根据式(7)进行理论计算, E_h 值减小. 实验结果与此相符.

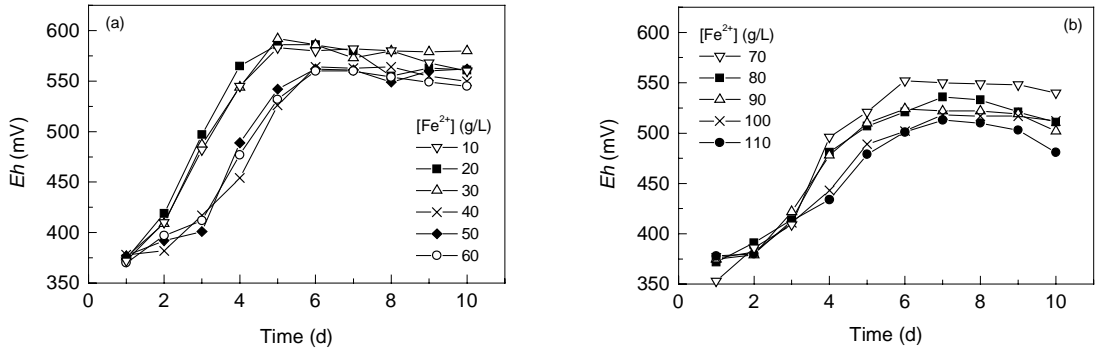


图 3 T.f. 菌培养过程中溶液氧化还原电位的变化

Fig.3 Plot of solution potential in culture of T.f.

4 结论

- (1) 随初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 增加, T.f. 菌进入对数期的时间延长, 细菌的数量减少.
- (2) 在实验某一固定初始 Fe^{2+} 浓度下, pH 值呈先增加后降低趋势; 当初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 从 10 g/L 增至 90 g/L 时, Fe^{3+} 的水解加剧, 溶液 pH 值降低.
- (3) T.f. 菌培养的最佳初始 pH 值为 1.6 左右; 适接种量为 10%.
- (4) 初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 在 10~70 g/L 时, $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}] > 0.50$, Fe^{2+} 氧化率大于 35%. 初始 $[\text{Fe}^{2+}]$ 为 30 g/L 时, Fe^{2+} 氧化率达 72.33%. 随初始 Fe^{2+} 浓度升高, $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]$ 值及 Fe^{2+} 氧化率明显下降.
- (5) 初始亚铁离子浓度大于 70 g/L 时, 对 T.f. 菌的生长有抑制作用.
- (6) 在实验某一固定初始 Fe^{2+} 浓度下, 溶液氧化还原电位 E_h 呈先上升后缓慢降低的趋势. 当初始 Fe^{2+} 浓度从 10 g/L 增至 110 g/L 时, $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]$ 值减小, 溶液最大氧化还原电位 E_h 值降低.

参考文献:

- [1] 姜成林, 徐丽华. 微生物资源开发利用 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001. 153-157.
- [2] 王恩德. 环境资源中的微生物技术 [M]. 北京: 冶金工业出版社, 1997. 26.
- [3] 魏以和, 钟康年. 生物技术在矿物工程中的应用 [J]. 国外金属矿选矿, 1996, (1): 2-3.
- [4] 周峨. 耐高浓度铁离子的菌种驯化及其浸矿实验研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2002. 56.

Growth of *Thiobacillus ferrooxidans* in High Concentration Ferrous Ion Culture Medium

XIE Hai-yun¹, LIU Zhong-hua¹, ZHOU E²

(1. Faculty of Met. & Metall. Eng., Kunming Univ. Sci. & Technol., Kunming, Yunnan 650093, China;

2. Multi-phase Reac. Lab., Inst. Proc. Eng., CAS, Beijing 100080, China)

Abstract: The growth behavior of *Thiobacillus ferrooxidans* (T.f.) in high concentration ferrous ion solution was studied and the change of pH, potential and oxidation of ferrous ions in the solution were also investigated. It is found that T.f. can grow normally under the conditions of $[\text{Fe}^{2+}] < 70$ g/L, pH=1.6~2.0 and suitable inoculum of 10%. The final bacteria density after 10 d culture may be up to $(0.8\sim31.6)\times 10^7$ cell/ml.

Key words: *Thiobacillus ferrooxidans*; growth behavior; ferrous ion