

doi:10.11835/j.issn.1000-582X.2014.05.014

硅酸盐结构对硅酸盐细菌生长代谢及脱硅的影响

张贤珍^{1,2}, 林海¹, 孙德四², 张敏²

(1. 北京科技大学 土木与环境工程学院, 北京 100083; 2. 九江学院 化学与环境工程学院, 江西 九江 332005)

摘要: 硅酸盐矿物的结构会影响硅酸盐细菌的生长。选用一株硅酸盐细菌 JG-02, 观察该细菌分别在含高岭石、石英、铝土矿的培养基中生长规律, 监测培养过程中的理化参数以及浸出前、后固体矿样的表面变化, 来了解硅酸盐细菌对不同结构的硅酸盐矿物的作用。结果表明: 该菌株在不同矿物环境中生长规律基本一致, 但细菌数量、产酸、产多糖的能力差别较大, 菌株在含高岭石的培养基中生长较好、产酸产多糖较多, 浸出液中 SiO₂ 含量最多 (40.8 mg/L), 而在含石英的培养基中则较少, 但红外结果显示试验菌株与高岭石、石英发生了相似的作用。因此, 层状结构硅酸盐矿物比架状结构的更利于 JG-02 的生长、侵蚀。

关键词: 硅酸盐细菌; 高岭石; 石英; 铝土矿; 生长代谢; 脱硅

中图分类号: Q939; TD925 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-582X(2014)05-098-06

Structural effects of silicate minerals on the growth, metabolism and desilicification of a strain of silicate bacterium

ZHANG Xianzhen^{1,2}, LIN Hai¹, SUN Desi², ZHANG Min²

(1. School of Civil and Environmental Engineering, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China; 2. School of Chemistry & Environmental Engineering, Jiujiang University, Jiujiang 332005, China)

Abstract: Silicate mineral structures affect silicate bacterial growth. A study is carried out on the growth of a strain of silicate bacteria named JG-02 in the media containing kaolin, quartz, bauxite respectively by monitoring the physical and chemistry parameters, surface changes of silicate minerals during bioleaching. The results show that the strain has the similar growth curves in different media, but the number of bacteria, acid and polysaccharide production capacity vary greatly. The strain produces more acid, polysaccharide and maximum SiO₂ (40.8 mg/L) in kaolin medium. The quartz's is less. However, similar changes are shown on surfaces of kaolin and quartz by infrared ray. Therefore, the growth of JG-02 and mineral erosion will happen more easily on the surfaces of layered silicate minerals than the frameworks.

Key words: silicate bacterium; kaolin; quartz; bauxite; growth metabolism; desilicification

收稿日期: 2013-12-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (51064011)

作者简介: 张贤珍 (1970-), 男, 北京科技大学博士研究生, 九江学院副教授, 主要从事生物选矿研究, (E-mail) cqzxx2000@126.com。

近年来微生物在环境^[1]、矿业^[2-3]等领域渐露头角。自然界中微生物种类繁多,其中硅酸盐细菌能分解土壤中长石、石英、高岭石、云母等硅酸盐矿物,把不溶性硅等转变成可溶性的成分^[4]。与铝土矿作用的硅酸盐细菌通常包括 *B. circulans*, *B. mucilaginosus* 与 *B. edaphicus*^[5],它们与硅酸盐矿物作用的研究多集中在微生物代谢产物的酸解与絮凝、胞外聚合物的络合作用以及细菌与矿物的直接/间接作用等方面^[6-7]。连宾等认为矿物中硅的溶出主要是硅酸盐细菌的各种代谢产物对矿物的溶蚀作用以及多种生物化学因素的协同作用^[8-9];而硅酸盐矿物结构对细菌作用的影响则较少受到关注。

硅酸盐矿物有着不同种类的结构,在与硅酸盐细菌作用时,方式、机理也有差异,溶硅、脱硅效果也不一样^[10-12]。铝土矿中的硅酸盐主要以高岭石(层状结构)、石英(架状结构)形式存在。为了解硅酸盐细菌在不同结构的硅酸盐中的生长规律和脱硅效率,选用一株硅酸盐细菌,考察实验条件下该菌种在高岭石、石英与铝土矿原矿等矿物环境下的生长代谢规律,通过检测发酵培养液中代谢产物种类与含量、SiO₂、pH值、细菌浓度以及分析细菌-矿物相互作用后矿物的表面微观形态与结构的变化,了解硅酸盐矿物晶体结构对细菌生长活性、代谢能力及对矿物分解溶硅的影响,为铝土矿微生物脱硅提供有价值的实验依据。

1 实验材料与方法

1.1 材料

菌株:实验用硅酸盐细菌菌株 JG-02 筛选自江西高安铝土矿样,经生理生化实验与 16SrRNA 鉴定属胶质芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)。

矿样:高岭石、石英与铝土矿,其中高岭石与石英购买于中国地质博物馆,经 XRD 分析,纯度均在 98%以上;铝土矿由河南中州铝土矿选矿厂提供,其物相组成(X射线衍射分析结果)为水铝石 64.93%、方解石 1.45%、高岭土 12.54%、石英 9.67%、伊利石 5.73%、赤铁矿 3.62%、其他 2.06%。

培养基:1[#]培养基(蔗糖 5.0 g, Na₂HPO₄ 2.0 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, NaCl 0.1 g, CaCO₃ 0.1 g, pH 为 7.2, 去离子水 1 000 mL),其他培养基是在 1[#]培养基中分别加入 5.0 g 200 目的铝土矿^(2[#])、石英^(3[#])与高岭石^(4[#])矿粉。

1.2 实验方法

1)硅酸盐细菌的培养。取 90 mL 1[#]培养基装入 250 mL 锥形瓶中,灭菌,接种实验菌株振荡培养 3~5 d (28 °C, 200 r/min)制成种子液;分别用 150 mL 锥形瓶取 50 mL 1[#]、2[#]、3[#]、4[#]培养基,灭菌,接种细菌种子液(1×10⁶ 个/mL)振荡培养(28 °C, 200 r/min);控制组接种相同量的灭活细菌种子液。

振荡培养 0, 1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 12, 15 d。分别测定各时间点发酵液中的细菌数(*N*)、SiO₂的含量、pH值,同时测定发酵培养 10 d 后溶液中有机酸、多糖的含量。

2)有机酸的测定。取发酵液 20 mL 加 12 mol/L 的硫酸 10 mL,搅拌后静置 1 h,然后加入 1 mol/L 硫酸 100 mL,低温搅拌 30 min,离心,上清液于 50 °C 真空浓缩至 10 mL,然后用阳离子交换树脂柱以除去氨基酸。用 0.03% H₃PO₄ 洗脱样品,洗脱液真空浓缩至 5 mL,用 HPLC 法测定 4 种有机酸(草酸、柠檬酸、酒石酸、苹果酸)的含量^[13-14]。

3)多糖的测定。发酵液用 95%乙醇沉淀,离心(3 900 r/min, 15 min),收集多糖,50 °C 烘干,得粗荚膜多糖,称重^[15];

浸出液中硅测定:硅钼蓝分光光度法。

矿样表面分析:细菌浸出 15 d 后,从发酵液中过滤取出矿样,用无菌蒸馏水洗去矿物表面可溶性离子后风干,用电镜与红外进行扫描观察与分析。

2 结果与讨论

2.1 细菌浸出试验

含有不同矿样的 3 种培养基中硅酸盐细菌生长曲线呈现相似趋势(图 1),迟缓期、对数期与稳定期分别在 0~2 d、2~7 d、7~12 d,然后进入衰亡期;与此同时,随着细菌数量的增长,培养液的 pH 逐渐下降,至细菌数量最多时达最低值,随后渐有回升。但对比图 1 中的细菌数量、浸出液的 pH 值,会发现 3 种浸出液中因所加硅酸盐矿样的不同,培养基中细菌生长情况还是存在差异,进入稳定期时细菌数量最多的是含高岭石的

4[#] 培养基, 含石英的 3[#] 培养基中细菌数量最少; 对应的浸出培养液 pH 也呈现出类似的情况, 含高岭石的 4[#] 培养基中最低, 含石英的培养液最高; 含铝土矿的 2[#] 培养液整体看与含高岭石的情形相差不大, 应该与铝土矿中含有一定量的高岭石有关。

依据图 1 培养液的 pH 曲线可知, 在 3 种矿样培养体系中硅酸盐细菌生长过程中都会产酸, 其中高岭石的体系产酸能力最强; 在细菌生长的衰亡期, 培养液的 pH 值都会上升, 说明菌株在营养缺乏的情况下会利用自身的代谢产物作为营养物质, 从而降低培养液的酸度。

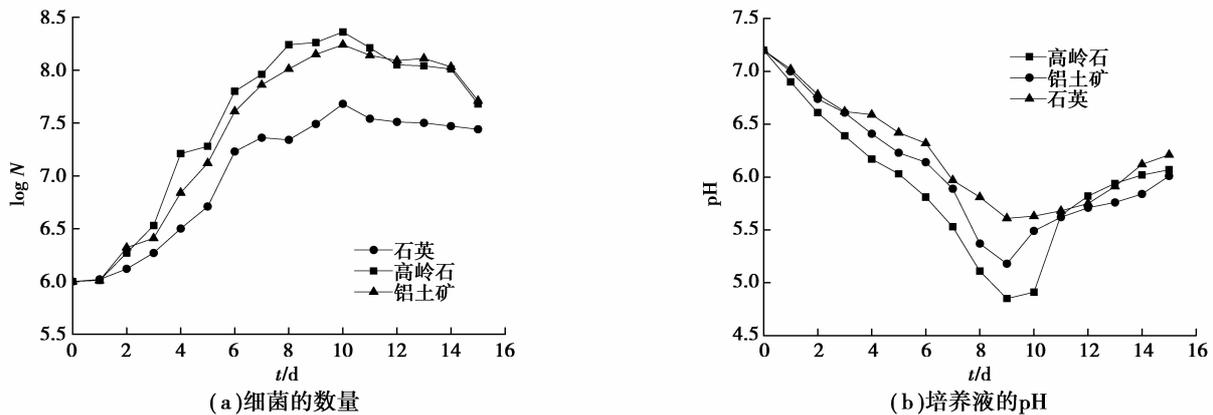


图 1 不同硅酸盐对试验菌株生长的影响(细菌的数量、培养液的 pH)

3 种含不同硅酸盐矿样的浸出培养液中二氧化硅含量的变化如图 2 所示(为了解硅酸盐细菌在浸出过程中的作用, 图中给出了 3 种培养液的控制组中的变化): 控制组的 3 个体系中的二氧化硅含量几乎保持不变, 大约 5 mg/L; 实验组的 3 个体系中, 随着振荡培养时间的增加, 培养液中的二氧化硅含量逐渐上升, 至极大值后渐渐下降。由此可见, 培养液中的二氧化硅含量的增加应该是硅酸盐细菌作用的结果, 且因培养液中 3 种矿样的结构差异导致细菌作用效果不一, 高岭石的浸出效果最好, 为 40.8 mg/L, 石英的浸出最难, 为 28.7 mg/L。分析表明该试验菌株对高岭土的溶硅作用最强, 与石英作用最弱, 至于振荡浸出后期二氧化硅的含量降低与细菌的胞外聚合物的絮凝作用有关。

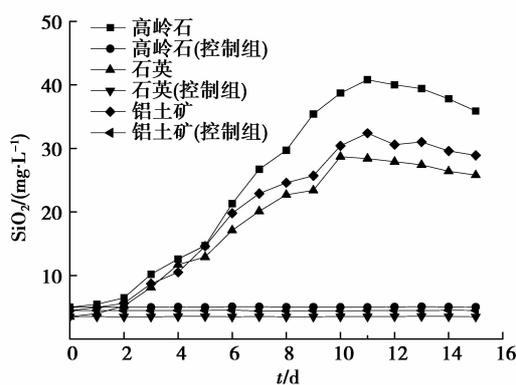


图 2 不同矿物环境中浸出液中的 SiO₂ 质量浓度

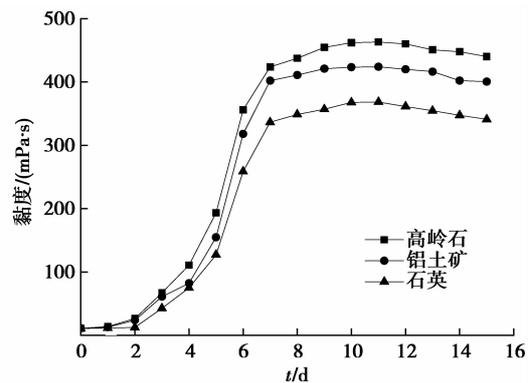


图 3 不同矿物环境中发酵液的粘度

2.2 矿样对细菌代谢产物的影响

发酵培养过程中培养液的黏度伴随细菌的增殖而快速增加(图 3), 说明振荡培养中菌株产生了大量的多糖类物质; 高岭石体系的培养液粘度最大, 硅酸盐菌株产多糖能力最强, 其次为铝土矿, 最后是石英。通过对比第 10 天的培养液中的粘度与多糖量, 也可以证实此结论(表 1)。

表1 浸出10 d后发酵液中黏度与多糖量

项 目	发酵培养条件			
	不加矿物	高岭石	石英	铝土矿
粘度/(mPa·s)	337.10	462.10	367.80	423.40
多糖量/(mg·L ⁻¹)	5.46	9.31	7.43	8.83

硅酸盐细菌代谢产生的有机酸通常被认为是其能浸矿溶硅的因素之一^[3]。选取培养液 pH 最小时(第9天)测定培养液中的有机酸的含量(表2)。结果显示,在不加矿物与加矿物的培养基中,试验菌株产有机酸的种类与含量有较大的差异:在不加矿物的1[#]培养基中,菌株不产生柠檬酸,在含硅酸盐矿物的2[#]、3[#]、4[#]培养基中,菌株能分泌柠檬酸;同时,不同的矿物环境对菌株产酸能力的影响也不一样,在高岭土环境中草酸、苹果酸含量最高,铝土矿中酒石酸、柠檬酸含量做多,而石英促进菌株产酸能力相对最弱。说明不同的矿物能改变硅酸盐细菌代谢并产生特定的有机酸。

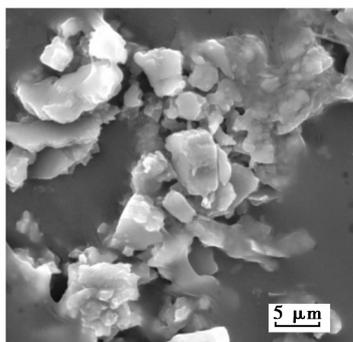
表2 浸出10 d后发酵液中有机的含量

mg/L

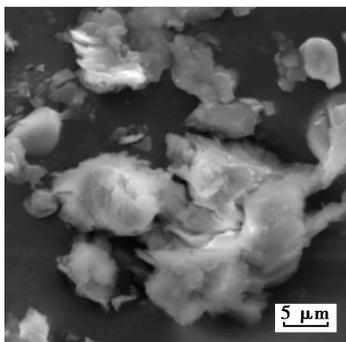
有机酸	发酵培养条件			
	不加矿物	高岭石	石英	铝土矿
草酸	47.34	82.17	54.67	70.13
酒石酸	634.58	921.36	845.68	952.08
苹果酸	79.34	107.21	93.57	102.63
柠檬酸	—	60.01	48.69	62.04

2.3 浸出作用后矿样形态分析

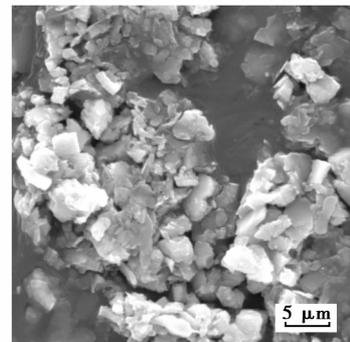
对浸出前的矿样与振荡培养15 d后的矿样进行扫描电镜分析(图4),可以看出试验硅酸盐菌株对高岭



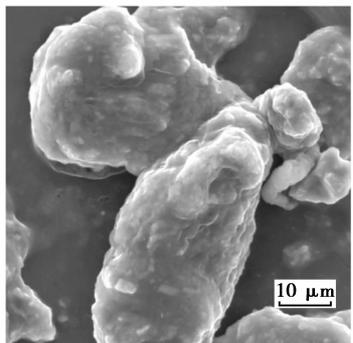
(a)高岭石被细菌作用前的电镜图



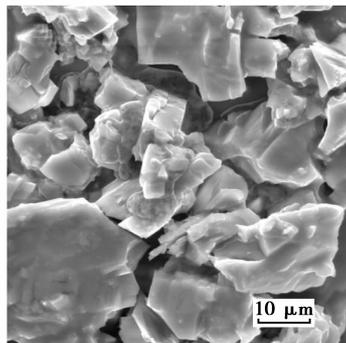
(b)高岭石被细菌作用后的电镜图



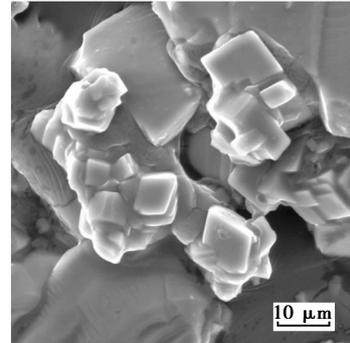
(c)铝土矿被细菌作用前的电镜图



(d)铝土矿被细菌作用后的电镜图



(e)石英被细菌作用前的电镜图



(f)石英被细菌作用后的电镜图

图4 浸出前后矿样的电镜图

石、铝土矿有较明显的浸溶作用,矿样颗粒的尖锐部分变得圆润,特别是缝隙、角落等不平滑的部位作用明显;但对石英表面的作用则不是很清晰。分析其原因可能是层状结构的高岭石相对于架状结构的石英来讲,层与层之间的结合程度不及 Si-O 键、Al-O 键牢固,容易被细菌利用,形成浸溶/风化的突破口;铝土矿中除主要成分水铝石外,也存在一定比例的高岭石等容易被硅酸盐细菌分解的矿物。因此,对硅酸盐细菌来讲,不同结构的硅酸盐的利用效率是不一样的。这种推测与莫彬彬等^[16]研究相吻合:在相同条件下,对不同晶体结构的硅酸盐矿物,硅酸盐细菌存在着明确的风化序列,像高岭石、伊利石这样的层状结构较石英、钾长石等架状结构的容易风化,且在风化过程中有转换晶体结构的可能(譬如转化成石英等其他硅酸盐矿物)。

换句话说,硅酸盐细菌对硅酸盐矿物的分解作用,因其结构差异存在一定的选择性。由此可见,硅酸盐细菌在铝土矿的浸矿脱硅的过程中,首先是附着在矿物的表面,利用代谢产生的有机酸、多糖等与矿物进行酸化、螯合等作用寻找矿物中键合薄弱的地方:从形态上来看,通常为棱角、裂隙等表面积较大的地方;从结构来看,则主要是在不同矿物的结合处或结合较弱的地方。一旦解离发生,形成微小颗粒后,就利用多糖等聚合物包裹起来,便于分散^[16-19]。

同样从红外光谱(图 5、6)也可以发现石英、高岭石在细菌浸出前、后表面键合情况的变化。两图中浸出前、后的谱图都大致相似,但均可在浸出后的曲线 1 350 cm^{-1} 左右存在明显的吸收峰。故此,尽管在扫描电镜图中不能观察出石英上的细菌浸溶作用,图 5 则可清晰的证明,石英在硅酸盐细菌作用后的表面存在化学键/官能团的变化,出现了一个明显的吸收峰,这应该是细菌代谢产物与石英表面螯合或发生化学变化引起的。同样,高岭土被细菌作用后也具有相似的变化。结果表明硅酸盐细菌对两种硅酸盐矿物均有酸化或配位的作用。也就是讲硅酸盐细菌浸矿脱硅过程中,细菌的代谢产物有机酸、多糖等是溶硅的主要因素。

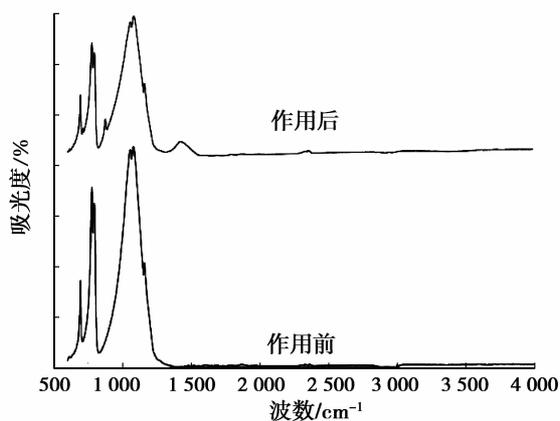


图 5 石英在细菌作用前、后的红外光谱图

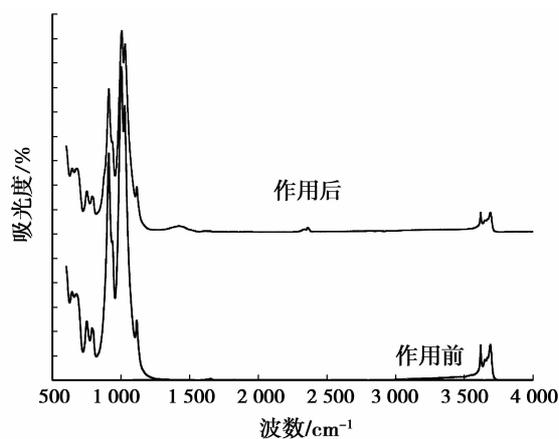


图 6 高岭石在细菌作用前、后的红外光谱图

3 结 论

1) 试验硅酸盐菌株在 3 种不同培养环境中生长规律相似,但其细菌的数量以及产酸的能力因培养环境差异而不同:在含高岭石的环境中生长较好、细菌数量较多、产酸能力、产多糖的能力较强,而在含石英的环境中细菌数量较少、产酸与产多糖亦较弱。

2) 在生长过程中,试验菌株在硅酸盐矿物存在时,其代谢产物中出现了柠檬酸,且因硅酸盐矿物种类的不同,其产生的草酸、酒石酸、苹果酸与柠檬酸的含量不同;酸化作用是硅酸盐细菌浸矿脱硅的能力之一。

3) 红外光谱显示无论层状结构还是架状结构的硅酸盐矿物,试验菌株都可以与其表面发生作用,通过酸化、配位等从高岭石、石英以及铝土矿中释放一定量硅。其中对高岭石的作用最为明显,对石英的作用最弱。

参考文献:

[1] 汤琪. 生物脱氮除磷新技术[J]. 重庆大学学报, 2006, 29(9): 138-143.

TANG Qi. Advance in new technology of biological nutrient removal [J]. Journal of Chongqing University, 2006, 29(9): 138-143.

[2] Ehrlich H L. How microbes influence mineral growth and dissolution [J]. Chemical Geology, 1996, 132(1/2/3/4): 5-9.

- [3] 胡纯,龚文琪,李育彪,等.高磷鲕状赤铁矿还原焙烧及微生物脱磷试验[J].重庆大学学报,2013,36(1):133-139.
HU Chun, GONG Wenqi, LI Yubiao, et al. Experiments on reduction roasting and bio-dephosphorization of high-phosphorus oolitic hematite [J]. Journal of Chongqing University, 2013, 36(1): 133-139.
- [4] Ehrlich H, Demadis K D, Pokrovsky O S, et al. Modern views on desilicification: biosilica and abiotic silica dissolution in natural and artificial environments [J]. Chemical Reviews, 2010, 110: 4656-4689.
- [5] 何琳燕. 硅酸盐细菌的分离、鉴定及基因标记的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2003.
- [6] Jain N, Sharma D K. Biohydrometallurgy for nonsulfidic minerals: a review [J]. Geomicrobiology Journal, 2004, 21(3): 135-144.
- [7] 周跃飞, 王汝成, 陆现彩. 微生物-矿物接触模式影响矿物溶解机制的实验研究[J]. 高校地质学报, 2007, 13(4): 658-661.
Zhou Y F, Wang R C, Lu X C. Influence of Microbe-Mineral Contact Model on Mineral Dissolution: A Primary Study on Microperthite Dissolution by *Paenibacillus polymyxa* [J]. Geological Journal of China Universities, 2007, 13(4): 658-661.
- [8] Lian B, Donald L S, FU P Q. Application and mechanism of silicate bacteria in agriculture and industry [J]. Guizhou Science in China, 2000, 18(1/2): 44-53.
- [9] Lian B, Wang B, Pan M, et al. Microbial release of potassium from K-bearing minerals by thermophilic fungus *Aspergillus fumigatus* [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2008, 72(1): 87-98.
- [10] Lin Q M, Rao Z H, Sun Y X, et al. Identification and practical application of silicate-dissolving bacteria [J]. Agriculture Sciences in China, 2002, 1(1): 81-85.
- [11] Lian Bin, Donald L S, FU P Q. Application and mechanism of silicate bacteria in agriculture and industry [J]. Guizhou Science in China, 2000, 18(1/2): 44-53.
- [12] 朱云, 曹维政, 鲁安怀, 等. 胶质芽孢杆菌-蒙脱石相互作用实验研究[J]. 岩石矿物学杂志, 2011, 30(1): 122-126.
ZHU Yun, CAO Weizheng, LU Anhuai, et al. A study of the interaction between montmorillonite and a strain of *Bacillus mucilaginosus* [J]. Acta Petrologica Et Mineralogica, 2011, 30(1): 122-126.
- [13] 孙德四, 余盛禄, 孙剑奇. 不同矿物对硅酸盐细菌 JXF 菌株生长的抑制作用[J]. 黄金, 2008, 29(1): 45-48.
SUN Desi, YU Shenglu, SUN Jianqi. Inhibitory effect of different minerals on silicate bacterium JXF strain growth [J]. Gold, 2008, 29(1): 45-48.
- [14] 孙德四, 张贤珍, 张强. 硅酸盐细菌代谢产物对硅酸盐矿物的浸溶作用研究[J]. 矿冶工程, 2006, 26(3): 27-29.
SUN Desi, ZHANG Xianzhen, ZHANG Qiang. Leaching effects of metabolites of silicate bacterium on silicate minerals [J]. Mining and Metallurgical Engineering, 2006, 26(3): 27-29.
- [15] 惠明, 侯银臣, 田青, 等. 硅酸盐细菌 GSY-1 胞外多糖的性质及其对铝土矿的脱硅效果[J]. 河南师范大学学报. 2010, 38(1): 142-145.
HUI Ming, HOU Yincheng, TIAN Qing, et al. Characteristics of exo-polysaccharides from the silicate bacterium GSY-1 and its leaching effects on bauxite mineral [J]. Journal of Henan Normal University, 2010, 38(1): 142-145.
- [16] 莫彬彬, 连宾. 长石风化作用及影响因素分析[J]. 地学前缘, 2010, 17(3): 281-289.
MO Binbin, LIAN Bin. Study on feldspar weathering and analysis of relevant impact factors [J]. Earth Science Frontiers, 2010, 17(3): 281-289.
- [17] 程良娟, 李福春, 李莎. 硅酸盐细菌在矿物表面上的吸附及其选择性[J]. 高校地质学报, 2007, 13(4): 669-674.
CHENG Liangjuan, LI Fuchun, LI Sha. Adsorption of silicate bacteria on surface of orthoclase and biotite and its selectivity [J]. Geological Journal of China Universities, 2007, 13(4): 669-674.
- [18] 吴涛, 陈骏, 连宾. 微生物对硅酸盐矿物风化作用研究进展[J]. 矿物岩石地球化学通报, 2007, 26(3): 263-268.
WU Tao, CHEN Jun, LIAN Bin. Advance in studies on the function of microbes to the weathering of silicate minerals [J]. Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry, 2007, 26(3): 263-268.
- [19] 连宾, 陈骏, 傅平秋, 等. 微生物影响硅酸盐矿物风化作用的模拟试验[J]. 高校地质学报, 2005, 11(2): 181-186.
LIAN Bin, CHEN Jun, FU Pingqiu, et al. Weathering of Silicate Minerals by Microorganisms in Culture Experiments [J]. Geological Journal of China Universities, 2005, 11(2): 181-186.