

钾细菌-矿物接触模式对富钾页岩分解行为的影响

满李阳^{1,2}, 曹晓燕^{1,2}, 孙德四¹

- (1. 九江学院 化学与环境工程学院, 九江 332005;
2. 中南大学 化学化工学院, 长沙 410083)

摘 要: 在细菌-矿物接触模式和用微孔滤膜将细菌和矿物隔离的非接触模式下, 研究钾细菌(CGMCC1.2411)对富钾页岩浸出分解的影响, 并对浸出过程中富钾页岩表面生物膜和钝化膜的形成原因及其对 K、Si 和 Al 的溶出影响进行分析。结果表明: 与非接触模式相比, 细菌-矿物接触模式下钾细菌的对数生长期延长了 2 d, 且具有较高的产酸、产蛋白质和多糖的能力。比较细菌-矿物接触模式和细菌-矿物非接触模式可知, 细菌-矿物接触模式更有利于促进富钾页岩的浸出, 但对 K、Si 和 Al 的溶出贡献存在一定的差别。在浸出的 0~6 d 内, K、Al 的溶出主要受间接作用的影响; 在浸出的 6~15 d 内, 主要受直接作用的影响; 在整个浸出周期内, Si 的溶出主要受间接作用的影响。在细菌-矿物接触模式下, 矿物表面形成的生物膜对富钾页岩的溶蚀及 K、Si 和 Al 的溶出具有促进作用; 细菌代谢产物对 Al 的溶出具有抑制作用, 溶出的 Al 易于在细菌代谢产生的胞外多糖絮凝作用下生成水合铝石, 有机酸铝沉淀是导致富钾页岩表面钝化和抑制富钾页岩进一步溶解的原因之一。

关键词: 富钾页岩; 钾细菌; 生物膜; 表面钝化; 生物浸出机制

中图分类号: TD925.5

文献标志码: A

Effect of potassium-solubilizing bacteria-mineral contact mode on decomposition behavior of potassium-rich shale

MAN Li-yang^{1,2}, CAO Xiao-yan^{1,2}, SUN De-si¹

- (1. School of Chemistry and Environmental Engineering, Jiujiang University, Jiujiang 332005, China;
2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract: The microbial decomposition of potassium-bearing silicate minerals includes the direct mechanism and the indirect mechanism, but the contribution of each mechanism to the mineral weathering is still in controversy. The effect of potassium-solubilizing bacteria on decomposition of potassium-rich shale in the bacteria-mineral contact/uncontact model was studied by employing microfiltration membrane to segregate mineral powders from bacteria, and the selective analysis of mineral surface biofilm and passivation and their effects on release of K, Si and Al were also investigated. The results show that the potassium-solubilizing bacterium grows in the exponential phase for more than two days, and has higher ability of producing acids, proteins and polysaccharides in the bacteria-mineral contact model, comparing with the bacteria-mineral uncontact model. The bacteria-mineral contact model is more profitable for leaching of potassium-rich shale than the uncontact model, but its relative contribution to the release of different elements of K, Si and Al is different. The release of K and Al is controlled mainly by the indirect mechanism during bioleaching process in 0~6 d, and mainly by the direct mechanism in 6~15 d. However, the release of Si is determined mainly by the indirect mechanism in the whole bioleaching process. The biofilm formation on mineral surface can promote the corrosion of potassium-rich shale

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51264014, 31360064); 2013 年地方高校国家级大学生创新创业训练计划项目(201311843004)

收稿日期: 2013-07-12; **修订日期:** 2013-11-06

通信作者: 孙德四, 教授, 博士; 电话: 15170295286; E-mail: lixianzhisds@126.com

and the release of K, Si and Al in the bacteria-mineral contact model. The bacterial metabolites have an inhibiting effect on the release of Al, and have an effective flocculation effect on Al. The precipitates of diaspore and organic acid aluminum are one of the primer causes of surface passivation of potassium-rich shale, and the surface passivation has obviously inhibition effect on the dissolution of potassium-rich shale.

Key words: potassium-rich shale; potassium-solubilizing bacteria; biofilm; surface passivation; bioleaching mechanism

钾和硅是促进农作物生长及影响其产量和品质的两个重要营养元素。耕层土壤蕴藏着丰富的钾资源,但绝大部分(90%以上)是水难溶性的或不溶性的,不能被农作物吸收利用^[1-2]。目前,我国钾肥生产量只占世界的 0.34%,而消耗量占世界的 14.7%,可见,我国的活性钾非常短缺,主要依赖进口。而活性硅能够通过强化植物细胞壁、激活防卫机制以适应各种非生物因子的胁迫,从而提高植物的抗逆性。如施用硅肥可以增强水稻抗倒伏能力及其对病虫害的抵抗能力、改善株型、提高光能利用率,并有增产和改善品质的作用。随着人们对硅在农作物生长中所起重要作用的认识,在许多国家,硅肥生产量及使用量按每年 20%~30% 的幅度增加^[3-4]。硅是地壳表面的第二大元素,但与天然钾资源一样,绝大部分是赋存于水溶性极低的硅酸盐矿物中,为非活性硅,不能直接被农作物所吸收利用。目前,国内外主要采用高能耗、高污染的物理化学方法从含钾矿物中提取钾。有关使用微生物技术提取钾的实验研究或工业应用和有关利用微生物从硅酸盐矿物中提取活性硅鲜见报道。与传统物理与化学工艺相比,生物浸出具有工艺简单、成本低、环境友好及除杂选择性好等优点^[5-6]。因此,开发环境友好的含钾矿物的生物提钾、溶硅技术对发展生态与经济农业具有十分重要的意义。硅酸盐矿物的微生物风化分解过程是一个复杂生物物理与化学过程,矿物的微生物转化、次生矿物的形成与其中离子的释放是多种因素协同作用的结果。因此,对微生物转化矿物钾与硅的作用机理研究是改进生物转化工艺和提高转化效率的重要依据。

通过对比已报道的含钾硅酸盐矿物微生物风化的实验结果可知,有较好的矿物风化分解能力且对 K、Si、Al 具有一定溶出效果的微生物均为异养菌(主要是细菌及真菌)。细菌中的胶质芽孢杆菌 *Bacillus mucilaginosus* 和环状芽孢杆菌 *Bacillus circulans* (又称钾细菌或硅酸盐细菌)对硅酸盐矿物的分解能力最强;真菌中的菌根真菌 *Piloderma* sp.、岩生真菌 *Rock-eating fungi* 和黑曲霉 *Aspergillus niger* 等对矿物中的不溶性钾、硅、铝具有较好的活化作用,其中,黑曲霉对钾矿物的溶蚀能力较其他菌种要强,且具有

较高的 K 释放效率^[7-11]。LIAN 等^[9]曾综述报道前苏联与保加利亚学者 ULBERG, YAKHONTOVA 和 GENCHEV 等利用不同来源的 *Bacillus circulans* 和 *fungi* 浸出高岭石与伊利石的研究结果,发现摇瓶浸出 30 d 后,不同来源的菌种的浸矿效果存在显著的差异, *Bacillus circulans* 最高可浸出矿物中 >50% 的 SiO₂, 而 *fungi* 对 SiO₂ 的浸出率最高也可达 30% 左右;而 ALEKSANDROV 等研究发现,利用硅酸盐细菌摇瓶浸出黑云母等含钾硅酸盐矿物,连续浸出 40 d, K、Si、Al 的浸出率最高分别只有 10.22%、9.24% 和 9.24%,且矿物的溶蚀和金属的浸出主要发生在浸出的前 5 d,但如果定期(每隔 5 d)更换或补充新鲜培养液 6~8 次,则 SiO₂、Al₂O₃、K₂O 的浸出率分别可达到 50.28%、57.83% 和 51.74%。近年来,肖国光等^[11]、钟婵娟等^[12]、莫彬彬等^[13]、胡捷等^[14]和 ZHOU 等^[15-16]分别采用不同来源的野生和诱变的硅酸盐细菌和真菌摇瓶浸出铝硅酸盐矿物, K、Si、Al 各金属元素的浸出率与上述结果基本一致,硅酸盐细菌的释钾(硅)效果要好于真菌。以上微生物主要用于制备微生物菌肥,较少有关利用它们从硅酸盐矿物中提取活性钾和硅的研究报道。目前,已有大量有关硅酸盐矿物微生物风化机理研究报道,如不同来源异养菌之所以对矿物的分解能力不同,是由于它们的生长代谢差异所致^[11-14];微生物主要通过有机酸的酸解、胞外聚合物的络解和氧化还原等多种因素的协同作用方式风化分解硅酸盐矿物^[15-16];微生物代谢产酸、产胞外聚合物和氧化还原酶(蛋白质)的能力大小是影响其对矿物分解效果的关键因素,其中蛋白质是菌体主动运输 K 离子所必需的,对微生物吸收利用矿物中的 K 具有至关重要的影响^[17-21]。此外,硅酸盐矿物的风化分解过程包含微生物的直接粘附作用和微生物代谢物溶蚀的间接作用两部分,矿物中 Fe、Si 的溶出主要受间接作用机制的影响, K、Al 的溶出主要受直接作用机制的影响。直接作用机制指微生物与硅酸盐矿物直接接触时,在细胞-矿物界面形成特殊的微环境(如特殊的 pH 值、代谢物浓度等),通过质子交换、配体络合和菌体生长的机械破坏作用影响矿物的风化;间接作用机制是指微生物不与矿物接触时对矿物风化的影响,主要指小分

子有机酸通过质子交换作用溶蚀矿物^[22-23]。

本文作者在含钾矿物细菌浸出的探索性试验中发现, 在浸矿中期, 细菌-矿物直接接触模式的浸出体系中有明显的细菌-矿物聚集体形成, 矿物颗粒表面覆盖了一层很厚的菌胶团(生物膜), 此时浸出液中 K、Si 和 Al 离子的质量浓度明显增加; 在间接接触模式下, 在浸矿后期, 微孔滤膜表面有白色絮状沉淀物产生, K、Si 和 Al 等元素的溶出受到明显的抑制, 说明矿物颗粒表面有可能产生钝化现象。但至今尚无有关生物膜和钝化膜对含钾矿物细菌浸出效率的影响研究报道。为此, 本文作者通过微孔滤膜阻止细菌和矿物的直接接触, 选用一株钾细菌(购买于中国普通微生物种保藏中心 CGMCC)为浸矿菌种, 研究不同浸出阶段细菌-矿物接触/隔离模式对细菌生长代谢活性和 K、Si 和 Al 等元素的溶出动力学的影响, 并通过对浸渣和沉淀物的 SEM、EDS 和 XRD 检测, 探讨富钾页岩矿物颗粒表面生物膜和钝化膜的形成对 K、Si 和 Al 溶出效果的影响及不同浸出阶段富钾页岩浸出的可能机制。

1 实验

1.1 实验矿样

实验所用钾矿物为富钾页岩, 购自浙江大学地质标本厂, 矿样产地为安徽寿县, 呈浅褐色, 斑状结构。根据 X 射线衍射分析, 其主要矿物组成为: 钾长石 66.12%, 伊利石 12.25%, 石英 8.26%, 白云母 5.28%; 通过原子吸收和分光光度法分析其化学组成, 结果见表 1。

表 1 富钾页岩的主要化学成分

Table 1 Main chemical components in rich potassium igneous rock (mass fraction, %)

SiO ₂	Al ₂ O ₃	K ₂ O	TiO ₂	Fe ₂ O ₃	
59.14	16.58	8.17	1.59	2.59	
CaO	MgO	Na ₂ O	MnO	P ₂ O ₅	Total
4.55	2.13	4.87	0.11	0.36	99.20

1.2 实验菌种及培养基

实验所用钾细菌(CGMCC 1.2411)购买于中国普通微生物菌种保藏管理中心。在起始 pH 值为 7.0, 温度 30 ℃ 条件下, 钾细菌经含浓度 5%(质量分数)富钾页岩的 Asby's 基础培养基^[11-12]转移驯化 3 次(每周

期为 7 d), 以适应富钾页岩为其能源物质。浸矿培养基为去除含钾成分的 Asby's 基础培养基, 其组成成分为蔗糖 5.0 g/L, Na₂HPO₄ 2.0 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.5 g/L, NaCl 0.1 g/L, Na₂CO₃ 0.1 g/L, pH 7.0。

1.3 浸出试验

设计以下 3 组试验: 1) 细菌-矿物直接接触试验组(M1); 2) 细菌-矿物间接接触试验(M2), 试验过程中不更换微孔滤膜; 3) 细菌-矿物间接接触试验(M3), 在试验过程中每隔 2 d 更换 1 次微孔滤膜。对于试验 M2 和 M3, 微孔滤膜材质为聚偏氟乙烯, 孔径为 0.22 μm, 使用前先用酒精浸泡 8 h, 再经 1 mmol/L 盐酸浸泡 3 h 后, 用去离子水反复清洗后待用。浸出试验时, 将 5.0 g 富钾页岩用滤膜包裹并密封后放入锥型瓶中, 微孔滤膜可阻隔细菌及大分子代谢产物与矿粉颗粒的直接接触。3 组浸矿试验条件如下: 在 250 mL 锥型瓶中加入 100 mL 浸矿培养基, 矿浆浓度为 5%(质量分数), 接菌量为 1×10⁴/mL 左右, 温度 30 ℃, 摇床转速 200 r/min。驯化培养后的钾细菌用富钾页岩矿浆质量浓度为 5%的 Asby's 浸矿培养基培养至对数生长期, 后经滤纸(*d*=5 μm)过滤和离心收集细菌(转速为 10000 r/min)。收集到的细菌用经盐酸调 pH=7.0 的蒸馏水清洗 2 次后保存在 Asby's 浸矿培养基中, 作为接种用细菌。浸出试验过程中挥发的水分用去离子水补充。以上每组试验均设 3 个平行样。

1.4 物理化学分析方法

浸出液中的 K、Si 和 Al 离子采用 ICP-AES(仪器型号为 JY38S)测定, 并分别以 K₂O、SiO₂ 与 Al₂O₃ 进行计量^[22]; 浸出液的多糖浓度通过 UV-2102 紫外可见分光光度计, 苯酚-硫酸法测定^[14]; 浸出液的蛋白质浓度用 UV-2102 紫外可见分光光度计, 考马斯亮蓝 G250 染色法测定^[14]; 浸出液的 pH 值用 PHS-3C 型 pH 计(上海雷磁仪器厂)测定; 浸出液中的细菌数量在 XS-212 生物显微镜(南京江南永新光学仪器)下用平板计数法测定; 用 SEM(TESCAN 公司, 型号为 VEGAIIISU)与 XRD(日本 Rigaku 生产的 D/Max-2500 型 X 射线衍射仪)观察细菌菌浸出前后矿样的表面微观形态变化。其中, 细菌-矿物聚集体和矿物颗粒表面生物膜的 SEM 样品制备如下: 从试验 M1 浸矿培养液下部取细菌和矿物残渣的混合物, 用去离子水洗去表面的可溶性离子后, 置于直径 1 mm 载玻片上, 自然晾干后供电镜观察用。细菌对矿物表面溶蚀程度的 SEM 和 XRD 样品的制备如下: 对细菌作用后的富钾页岩浸渣用含质量分数为 40%的烧碱溶液清洗 3 次,

然后用去离子水进行再次清洗, 目的是去除吸附在矿物颗粒表面的细菌及大分子代谢产物(生物膜), 然后用真空冷冻干燥机进行冷冻干燥。

2 结果与讨论

2.1 浸矿过程中细菌生长与代谢活性的变化

在浸出试验过程中, 体系细菌浓度和代谢活性变化如图 1 和 2 所示, 其中细菌代谢活性是指产酸与产胞外聚合物能力分别用浸出液的 pH、蛋白质和多糖浓度表示。

由图 1 可看出, 试验 M1、M2 和 M3 中细菌浓度的变化规律基本一致, 在浸出前期, 细菌浓度一直上升, 对于试验 M2 和 M3, 从第 7 d 后开始下降; 而试验 M1 从 9 d 后才开始下降。这一结果说明细菌-矿物直接接触有利于延长细菌的对数生长期。同时, 试验 M1 中浸出液的细菌浓度明显要比试验 M2 和 M3 中的小, 其原因是 M1 中的细菌有一部分吸附在矿物表面, 从而导致浸出上清液中游离细菌数目的减少。按照文献[23]的方法, 实际测定试验 M1 中细菌总浓度(浸出液中细菌浓度+矿物颗粒吸附的细菌数量), 发现试验 M1 中细菌最高总浓度(10^{10} /mL)大约要比试验 M3 中细菌的最高浓度(10^9 /mL)高 1 个数量级。在浸出试验中发现, 在浸出初期, M1 体系中的富钾页岩矿粉颗粒表面吸附了大量的细菌和细菌聚集体, 随着浸出时间的延长, 矿粉颗粒表面覆盖了一层由细菌代谢产生的厚凝胶层(即生物膜, 见图 5)。而在试验 M2 和 M3 中, 由于微孔滤膜阻隔了细菌和大分子代谢产物与矿粉颗粒的直接接触, 矿粉颗粒表面没有形成生物膜,

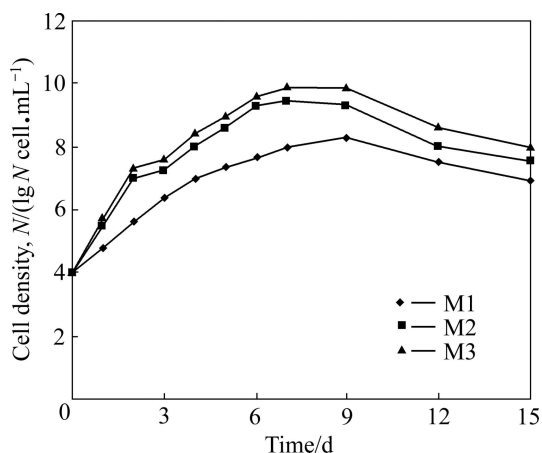


图 1 不同试验体系浸出液中的细菌浓度

Fig. 1 Bacterial concentrations in supernatants of different experiments

这也可能是导致其细菌生长活性较低的原因之一。

图 2 结果表明, 试验菌株在 3 组不同的浸出体系中均有一定的产酸和产胞外聚合物(主要是多糖和蛋白质)的能力, 且变化规律基本一致。试验 M1、M2 和 M3 中细菌代谢产酸、产蛋白质和多糖的量都随浸出时间的延长而先升高后下降, 在 9 d 左右达到最大值, 浸出液的 pH 值分别为 3.9、4.8 和 4.3; 蛋白质浓度分别为 6.48、3.96 和 5.40 mg/L; 多糖浓度分别为 7.57、3.26 和 6.15 g/L。试验 M1 中细菌的代谢能力明显比试验 M2 和 M3 的强, 表明细菌与富钾页岩直接

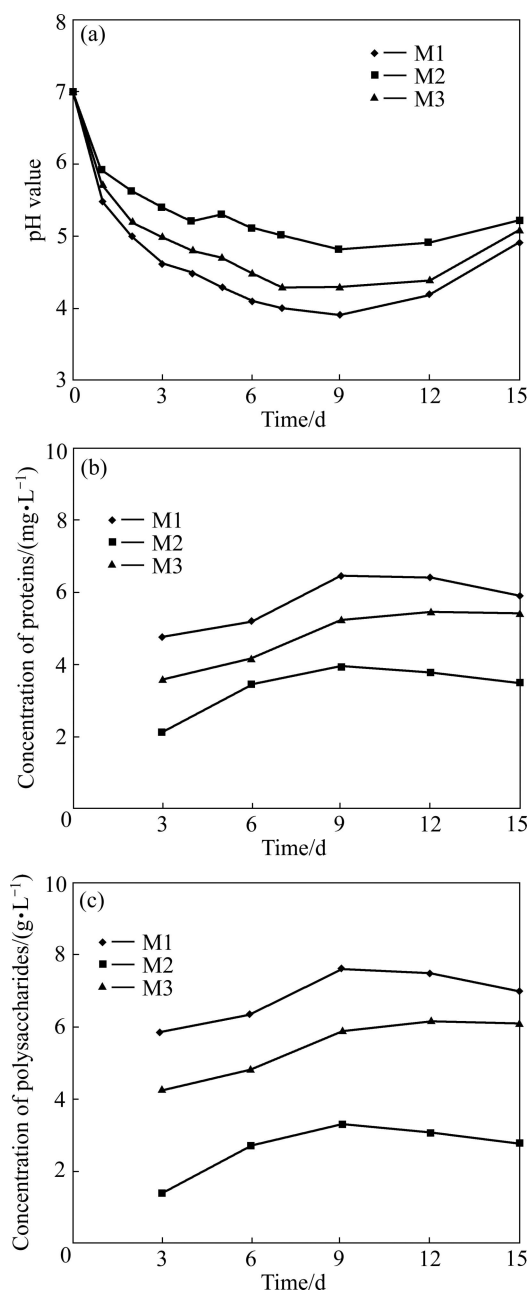


图 2 不同试验体系浸出液的 pH 值以及蛋白质与多糖浓度

Fig. 2 pH values (a) and concentrations of proteins (b) and polysaccharides (c) in supernatants of different experiments

接触可以获得更高的代谢活性。这与钟婵娟等^[12]和胡捷等^[14]的前期报道结果一致,认为不同来源的钾细菌在发酵培养和浸矿过程中可以代谢产生草酸、苹果酸、酒石酸和柠檬酸及大分子胞外多糖物质,在细菌-矿物直接接触模式下,含钾硅酸盐矿物可以显著促进细菌产代谢产物的能力。浸出后期(12 d后),浸出液的pH值明显升高,而多糖和蛋白质浓度明显下降。其原因是:此时细菌生长环境处于贫营养状态,导致微生物不得不利用自身代谢产生的有机酸和大分子胞外聚合物;同时,贫营养状态会迫使硅酸盐细菌去利用硅酸盐矿物中的营养元素(K、P、Fe和Ca等)来维持其自身的生命活动,而细菌-矿物接触模式(与隔离模式相比)更有利于细菌直接从硅酸盐矿物获取这些营养元素,这也可能是导致细菌在试验M1中的代谢活性要比试验M2和M3要高的原因之一^[11, 21]。在浸出试验过程中,发现试验M2和M3微孔滤膜表面有絮状沉淀物生成,且沉淀物随浸出时间的延长而增加,特别是在浸出后期,增加明显。该沉淀物经XRD分析主要为 Al_2O_3 (或水合铝石)和有机酸铝(见图6)。由于试验M2中没有更换微孔滤膜,故随着浸出时间的延长,其微孔滤膜表面形成的 Al_2O_3 和有机铝沉淀物明显要比试验M3的多,微孔滤膜内外的离子交换受到的抑制程度明显增强,从而导致M2中的细菌生长和代谢活性要比试验M3的低。从第12 d开始,由于三氧化二铝等沉淀开始大量生成,同时,浸出液中营养物质消耗殆尽,细菌生存环境处于贫营养状态,因此,试验M1、M2和M3中的细菌生长速度和代谢活性都开始明显下降。

2.2 浸出上清液中K、Al和Si的浓度变化

在浸出试验过程中,测定浸出液中K、Al和Si各元素的离子含量,同时换算成氧化物的质量浓度,结果见图3。由图3可以看出:

在第1阶段(0~6 d),在试验M1、M2和M3中,浸出液中 K_2O (SiO_2 或 Al_2O_3)质量浓度基本相同, K_2O 的质量浓度分别为11.25、10.26和10.96 mg/L; SiO_2 的质量浓度19.65、16.27和18.79 mg/L; Al_2O_3 的质量浓度分别为10.25、9.09和9.75 mg/L。这一结果说明,在浸出前期,细菌-矿物的接触模式对富钾页岩风化破坏作用的影响不大,在此阶段,富钾页岩中K、Al、Si元素的溶出主要受间接作用的影响。

在第2阶段(6~12 d),在3组试验体系中, SiO_2 的质量浓度表现出相同的变化规律,均呈快速上升的趋势,试验M1中的 SiO_2 浓度上升速率略高于试验M2和M3中的 SiO_2 浓度上升速率;浸出12 d后,

试验M1、M2和M3中 SiO_2 的质量浓度分别为39.25、32.62和35.21 mg/L。而K、Al的溶出表现出与Si的溶出完全不同的变化规律,接触试验M1对K、Al的溶出明显具有增强作用,浸出液中的 K_2O 和 Al_2O_3 质量浓度明显较试验M2和M3的高。对于K的溶出,在试验M1浸出的6~11 d及试验M2和M3浸出的6~9 d内,浸出液中 K_2O 的质量浓度均持续上升,但试验M1浸出液中 K_2O 的质量浓度上升速率明显较试验

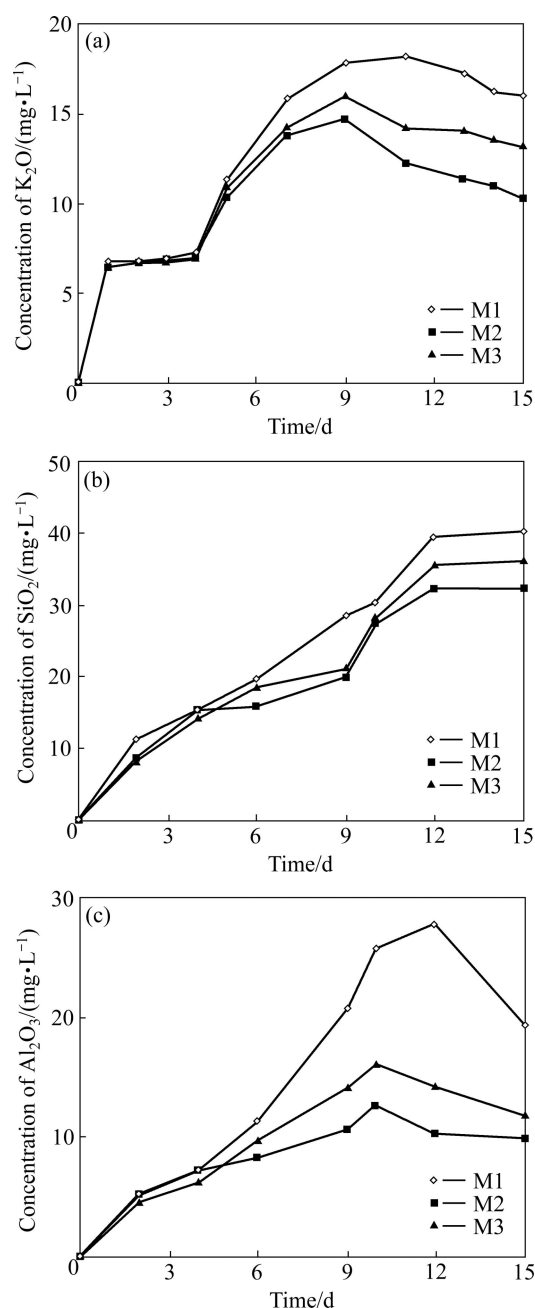


图3 不同试验体系浸出液中 K_2O 、 SiO_2 和 Al_2O_3 浓度随时间的变化

Fig. 3 Concentration variations of K_2O (a), SiO_2 (b) and Al_2O_3 (c) with time in supernatants of different experiments

M2 和 M3 的快, 试验 M1、M2 和 M3 浸出液中, K_2O 的最高质量浓度分别为 18.21、14.26 和 15.10 mg/L; 而后随浸出时间的延长, K_2O 的质量浓度开始明显下降。对于 Al 的溶出, 在试验 M1 中, Al_2O_3 质量浓度在此浸出时间内持续升高, 12 d 后, 浸出上清液中 Al_2O_3 质量浓度为 27.60 mg/L; 而在试验 M2 和 M3 中, 在 6~10 d 内, Al_2O_3 质量浓度上升, 最高分别为 12.50 和 16.67 mg/L, 但 10 d 后开始明显下降。

在第 3 阶段(12~15 d), 3 组试验体系中 SiO_2 的质量浓度仍缓慢上升, 浸出 15 d 后, 试验 M1、M2 和 M3 浸出液中 SiO_2 的质量浓度分别为 40.15、33.25 和 36.24 mg/L。而 K_2O 和 Al_2O_3 的质量浓度有更明显的下降趋势, 浸出 15 d 后, 试验 M1、M2 和 M3 浸出液中 K_2O 的质量浓度较对应的最高浓度分别下降了 17.33%、13.54%和 14.10%, Al_2O_3 的质量浓度分别下降了约 30.00%、11.70%和 19.40%。

接触实验中包括细菌与矿粉颗粒的直接接触和间接作用, 而隔离实验则只有间接作用过程。直接作用不但有小分子有机酸与无机酸的质子交换作用, 还有细菌生长所带来的物理破坏作用和胞外分泌的大分子物质的络合作用; 而间接作用主要以质子交换作用的形式溶解矿物。孙德四等^[21]的研究表明, 细菌粘附于矿物上时, 会在其表面形成特殊的微环境, 这种微环境由于在 pH 值、蛋白质和多糖等代谢产物的浓度、水活度等方面均与溶液中不同, 因此, 对矿物的溶解能力也会有显著的差异。通过对比二者的差别, 可以了解细菌对富钾页岩的直接和间接作用的影响。由图 3 分析结果可以看出, 整体上, 直接接触作用对 K, Si 和 Al 的溶出贡献较间接作用要大, 但溶出规律或贡献大小存在一定的差别。

对 K 的溶出(见图 3(a)), 在浸出的第一阶段(0~6 d), 试验 M1、M2 和 M3 浸出液中的 K_2O 的质量浓度变化规律基本一致, 表明此时直接接触作用相对于间接作用对 K 的溶出贡献较小, 表明 K 的溶出主要受细菌代谢产物的影响(尤以酸的作用为明显)。在第二阶段(6~12 d), 接触试验对 K 的溶出贡献明显较隔离试验要大, 导致这一结果的原因有几种可能: 1) 在细菌-矿物接触模式下, 富钾页岩可以显著刺激和促进细菌生长与产代谢产物的能力。已有研究表明: 细菌生长所产生的机械破坏作用、有机酸或无机酸的质子交换作用、有机酸与胞外大分子的络合作用是影响硅酸矿物风化分解的重要因素, 而蛋白质可能与钾矿粉诱导菌体表达载体蛋白有关, 是菌体主动运输钾离子时所必需的^[14]。而在隔离试验条件下, 由于微孔滤膜阻隔了细菌及胞外大分子物质与矿物颗粒的直接接触, 矿

物的溶解主要受小分子有机酸和无机酸的酸解作用的影响, 这可能是导致隔离试验中溶出的 K_2O 的质量浓度明显较接触试验要低的主要原因; 2) 直接接触模式有利于促进细菌-矿物聚集体和生物膜的形成, 这为细菌获取矿物中的营养元素提供了有利的生长微环境。对此, 已有研究表明, 细菌-矿物聚集体微环境中的酸度、蛋白质和多糖浓度明显较发酵液中的高, K 的溶出主要发生在微环境中。在浸出的第二阶段后期和第三阶段(12~15d), 接触和隔离试验浸出液中的 K_2O 质量浓度均出现了一定程度的降低, 导致这一结果的可能原因是: K 是细菌生长的必需生命元素, 在此阶段, 细菌及代谢产物溶出的 K 量低于细菌吸收利用的 K 量。同时, 在接触试验中, 水合铝石和有机酸铝大量覆盖于富钾页岩表面, 而隔离试验中的滤膜表面也有水合铝石和有机酸铝沉淀产生, 细菌的生存环境受到恶化的同时, 阻隔了细菌和代谢产物与矿物颗粒的直接接触面积, 从而抑制富钾页岩的进一步溶解。

对 Al 的溶出(见图 3(c)), 在第一阶段(0~6 d), 直接接触作用相对于间接作用对 Al 的溶出贡献基本相当, Al 的溶出主要受小分子代谢产物作用的影响。在第二阶段(6~12 d), 接触试验表现出对 Al 溶出的明显增强作用, 而隔离试验则反应出代谢产物对 Al 的抑制作用。在此阶段, 试验 M1 浸出液中的 Al_2O_3 质量浓度持续快速升高, 而试验 M2 和 M3 浸出液中, Al_2O_3 质量浓度上升速率明显较试验 M1 的慢, 且在第 10 d 后出现明显下降。同时发现, 在此阶段, 试验 M2 滤膜表面开始有絮状沉淀物产生, 不可避免地阻碍了小分子有机酸与矿物颗粒的充分接触; 而对于试验 M3, 由于每隔 2 d 更换一次滤膜, 避免了絮状沉淀在滤膜表面覆盖, 这可能是导致其 Al_2O_3 的质量浓度要高于试验 M2 的原因, 说明絮状沉淀物对 Al 的溶出有明显的抑制作用。分析认为, 在此阶段, 接触试验较隔离试验对 Al 溶出的贡献较大的可能原因是在接触模式下, 由于细菌和代谢产物表面基团的一部分选择与矿物表面结合, 因此, 减少了与 Al 离子的络合作用及随后的絮凝作用而使得 Al 离子浓度的减少; 其次, 细菌的直接作用也促进了配体络合反应的进行, 从而促进了 Al 的溶出。另外, 接触试验中细菌产生的代谢产物主要吸附和包裹于细菌-矿物聚集体的微环境中, 浸出液中具有絮凝作用的胞外聚合物浓度相对较低, 而隔离试验中具有絮凝作用的代谢产物主要处于滤膜外的浸出液中, 这可能是导致试验 M1 和 M2 中转化分解出的 Al_2O_3 和 Al 离子因絮凝沉淀作用而使其质量浓度在第 10 d 后开始下降的原因之一。已有研究表明: 白云母、伊利石、钾长石和石英的微细颗粒($\leq 45 \mu m$)

及K、Si离子等在细菌所产生的多糖溶液中具有良好分散性能,而同样直径的水铝石和Al离子在该溶液中很快会絮凝沉淀。在第三阶段(12~15 d),试验M1溶液中开始有大量絮状沉淀物产生,尽管试验M3每隔2 d更换一次滤膜,但其表面仍有白色沉淀物堆积。在此阶段,接触试验M1中 Al_2O_3 质量浓度出现明显下降,隔离试验M2和M3中的 Al_2O_3 质量浓度也仍有一定的下降幅度,其可能原因是:代谢产物絮凝沉淀的Al量大于溶出的Al量(由于细菌生长对Al的需求极小,因此这一变化过程可能和细菌生长的吸收与利用无关);水合铝石和有机酸铝的大量沉淀使富钾页岩表面产生一定程度的钝化,从而抑制富钾页岩的进一步风化分解。

与K、Al的溶出相比,细菌对Si的溶出在接触与隔离试验中差别最小。这表明试验时间内,细菌直接作用对Si溶出的影响相对于间接作用小得多,试验体系中 SiO_2 浓度的增加主要受代谢产物的间接作用的影响。

2.3 浸矿过程中矿物表面生物膜的形成分析

生物膜是细菌代谢产生的胞外聚合物(主要指蛋白质和多糖)相互堆积混合而成的厚凝胶层,可将大量细胞结合在一起形成一种聚合结构,粘附在矿物颗粒表面。这些聚合物可在细菌周围形成合适其生长的微环境,从而尽量减少外界环境因素的影响,为细菌溶蚀硅酸盐矿物和获取矿物中的营养元素提供更为有利的生物化学条件,这是影响硅酸盐矿物溶蚀程度的重要因素之一。胡捷等^[14]研究发现,黑曲霉-钾长石矿物聚集体微环境中蛋白质和多糖浓度是发酵液的11倍和2.5倍,黑曲霉作用于钾矿粉释放 K^+ 量的80%处于微环境中。

对细菌-矿物直接接触试验M1浸出处理3 d、9 d和15 d后的细菌和矿粉颗粒复合体进行SEM分析,结果分别见图4。细菌在矿物颗粒表面形成生物膜的过程一般可以分成4个阶段:1)在微生物自身的鞭毛运动或者对界面附近存在的营养物或其他化学物的浓度梯度变化的自主趋化性的作用下,细菌主动向矿物固相界面迁移靠拢;2)两者相互接触,细菌粘附于矿物表面,为初始吸附阶段;3)细菌更加紧密地结合在矿物颗粒表面上;4)在细菌代谢产生的胞外聚合物的粘附和络合作用下,细胞在矿物颗粒表面定殖,形成粘附的微菌落或生物膜。吸附反应的后两步可持续几天,合成更多的胞外多聚物,这些物质可以使细菌的吸附更加紧密。图4(a)表明,浸出3 d后,大量细菌紧密地粘附在矿物颗粒表面,细菌-矿物相互作用处

于第3阶段;浸出9 d后,细菌-矿物相互作用处于第4阶段,细菌代谢产生了大量的大分子胞外聚合物,并将大量细菌和细菌微菌落粘附在一起形成明显的生物膜(图4(b));浸出15 d后,细菌分泌物明显增多,微菌落逐渐溶失,矿物颗粒表面形成了一层更厚的生

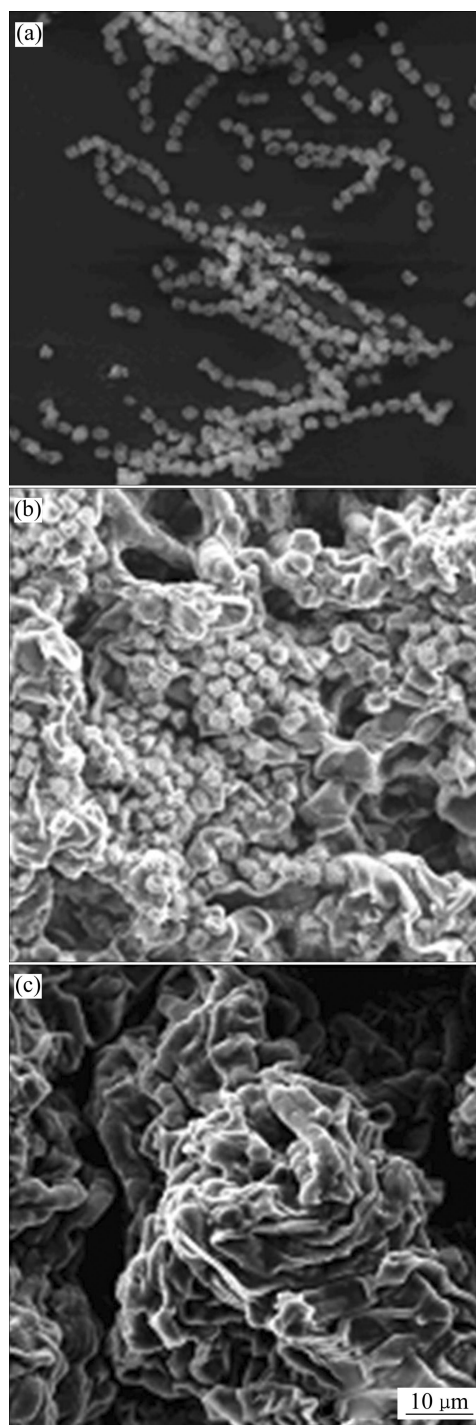


图4 细菌和富钾页岩颗粒浸出3 d、9 d和15 d后的SEM像

Fig. 4 SEM images of bacteria and potassium-rich shale powder after 3 d(a), 9 d(b) and 15 d(c) leaching

物膜, 矿物颗粒大部分被生物膜包裹, 形成了细菌-矿物复合体(图 4(c))。直接接触试验 M1 体系中, 当浸出时间在 9~15 d 时, K_2O 、 Al_2O_3 和 SiO_2 的质量浓度明显比间接接触试验 M2 和 M3 的高(图 3), 说明生物膜和细菌-矿物复合体的形成可以显著促进细菌对矿物的机械破坏和化学风化作用。

2.4 浸渣表面溶蚀与钝化分析

2.4.1 浸渣表面的 SEM 和 EDS 分析

富钾页岩原矿样和被试验 M1、M2、M3 不同体系浸出 15 d 后的浸渣表面的 SEM 和 EDS 检测结果见图 5。

从图 5(a)可以看出, 未经细菌作用的富钾页岩原

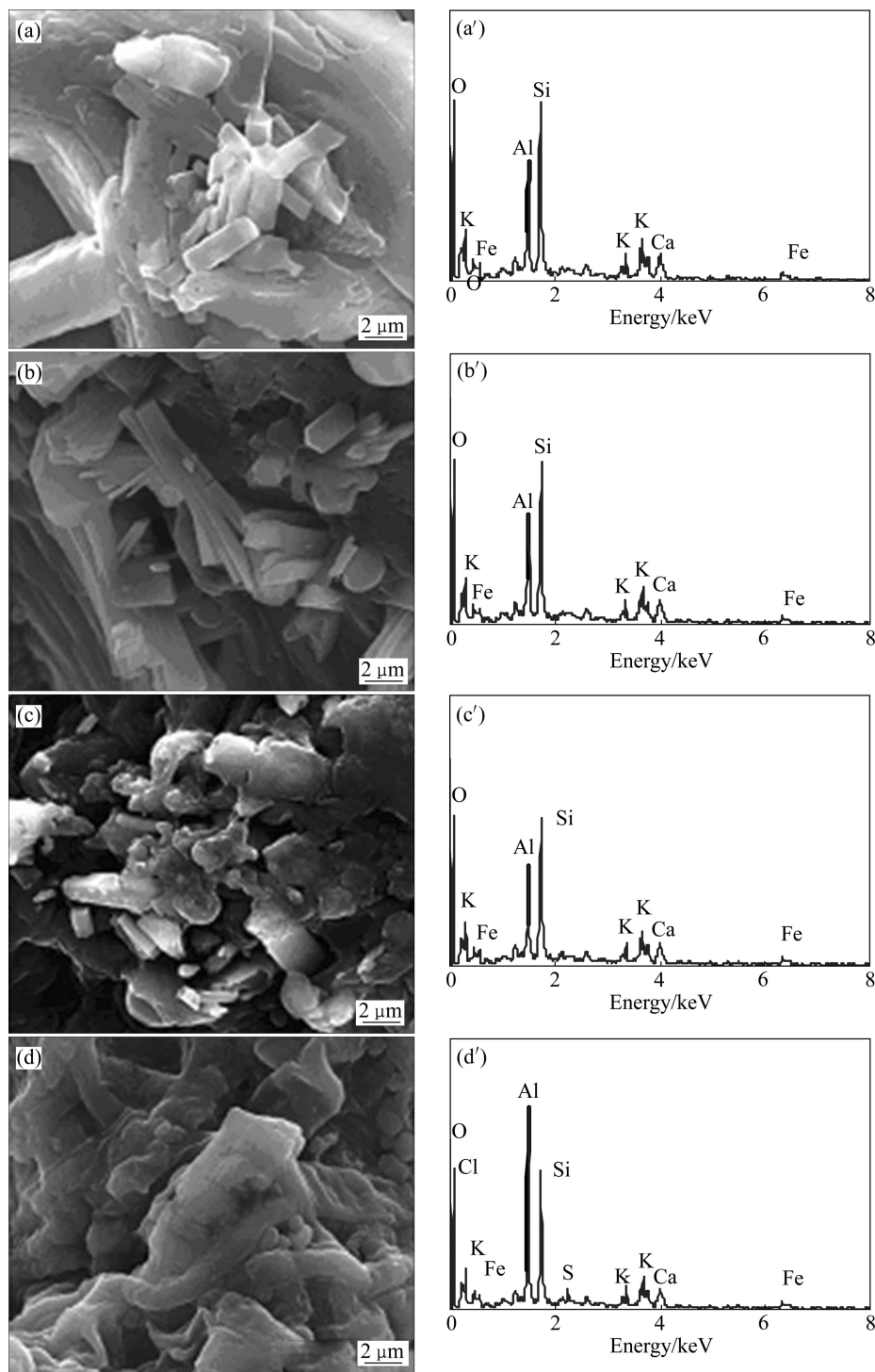


图 5 富钾页岩原矿和浸出 15 d 后富钾页岩浸渣表面的 SEM 和 EDS 谱

Fig. 5 SEM images and EDS spectra of potassium-rich shale surfaces before and after 15 d bioleaching: (a), (a') Raw ore ; (b), (b') Test M2; (c), (c') Test M3; (d), (d') Test M1

矿物颗粒表面光滑, 棱角分明, 凹凸不平状明显, 晶体结构完整; 而经细菌作用后的矿物颗粒表面发生了明显的变化, 富钾页岩被试验 M2 和 M3 体系浸出 15 d 后, 矿物颗粒大的棱角和凸起部分被分裂成更多细小棱角和小颗粒, 原矿物晶体结构基本被破坏(见图 5(b), (c)), 试验 M3 对富钾页岩的溶蚀效果要比试验 M2 强; 而图 5(d)表明, 细菌-矿物直接接触试验 M1 比间接接触试验对富钾页岩的溶蚀作用更为明显, 细小颗粒和凸起的棱角部分基本被溶蚀, 非晶态物质显著增多, 且在细菌分泌的胞外大分子物质的交联作用下, 颗粒相互粘连在一起而成絮状。XRD 分析结果(见图 6(b))表明, 这些絮状物主要由被细菌从富钾页岩中转化分解的水合铝石或 Al^{3+} 在有机酸与多糖的络合和絮凝作用下又沉淀到了矿物表面所形成的。从 EDS 能谱可以看出, 细菌直接和间接作用前后富钾页岩矿物颗粒表面的主要化学成分基本相同。表 2 所列为能谱分析结果(多点位统计分析所得)。从表 2 中可以看出, 被细菌直接和间接作用后的富钾页岩表面元素 K、Si、Fe 和 Ca 等的质量分数均有不同程度的降低, 而 Al 的质量分数却明显增加。试验 M1 中的浸渣表面元素

的质量分数变化最为明显, Al 的质量分数增加幅度明显较试验 M2 和 M3 的大, 且出现了生物体组成元素 S 和 Cl, 这是由细胞及其代谢产物粘附在矿物颗粒表明并形成的生物膜所致。

2.4.2 试验 M2 滤膜表面沉淀物的 SEM 和 XRD 分析

为验证直接接触试验浸渣表面絮状沉淀物的可能矿物和化合物组成, 浸出 15 d 后, 对间接接触试验 M2 微孔滤膜表面沉淀物经 SEM 和 XRD 检测, 结果如图 6 所示。由图 6(b)可知, 该絮状沉淀物主要为三氧化二铝, 其次还含有一定量的有机酸铝(草酸铝、乙酸铝、柠檬酸铝)及少量的石英。XRD 谱中没有出现 K、Si、Na 等的有机络合物的特征峰, 表明这些元素的有机络合物在细菌浸出液中具有较好的溶解性能, 而 Al 有机络合物的溶解度较低或絮凝性能较强, 会很快沉淀, 这一点在孙四德等^[11, 21]的学术论文中有明确的试验验证。三氧化二铝等沉淀在富钾页岩表面的大量覆盖阻隔了浸出液与矿物表面接触或微孔滤膜内外物质交换, 这可能是导致试验 M2 的浸出效率较试验 M3 的要低的主要原因之一, 说明三氧化二铝及其络合物沉淀会导致富钾页岩表面钝化和浸出速率降低。

表 2 富钾页岩表面被细菌作用前后元素的质量分数

Table 2 Mass fractions of elements of potassium-rich shale surfaces before and after incubation by bacteria

Element	Mass fraction/%									
	Al	Si	K	Ca	Fe	Mg	Na	S	Cl	O
Raw ore	9.26	22.98	6.12	1.16	1.75	1.30	1.01	0.00	0.00	56.42
Experiment M1	15.20	19.18	4.10	0.27	0.75	0.70	0.01	1.28	1.90	58.31
Experiment M2	11.01	21.12	5.12	0.72	1.50	1.00	0.51	0.00	0.00	59.02
Experiment M3	12.76	20.98	4.62	0.56	0.95	0.90	0.41	0.00	0.00	58.82

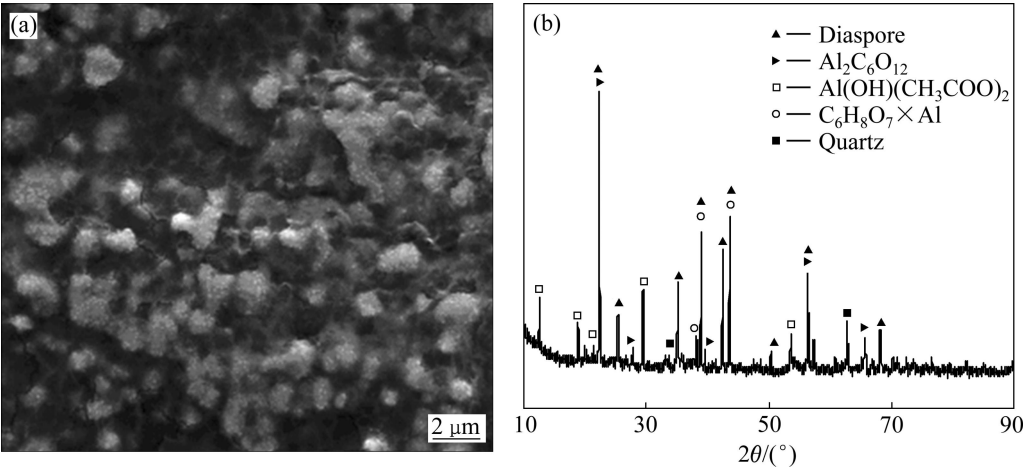


图 6 浸出 15 d 后试验 M2 微孔滤膜表面沉淀的 SEM 像和 XRD 谱
Fig. 6 SEM image (a) and XRD pattern (b) of precipitations on microfiltration membrane surface of experiment M2 after 15 d leaching

2.4.3 富钾页岩原矿和浸渣的 XRD 分析

为进一步验证接触和隔离试验对富钾页岩矿物结构的破坏程度差异,对原矿样和浸出 15 d 后试验 M1、M2 和 M3 中的浸渣进行 XRD 分析,其结果见图 7。结果表明:与原矿样相比,3 组试验中的富钾页岩浸渣的 XRD 谱中反映富钾页岩中各矿物(钾长石、石英、伊利石、白云母)晶体结构的特征峰均有不同程度的降低或消失。与试验 M2 比较,试验 M3 对富钾页岩中各矿物的破坏作用要强,XRD 谱中反映钾长石、石英、伊利石、白云母各矿物晶体结构的特征锐峰下降幅度更为明显,其中反映白云母的特征峰基本消失,反映伊利石的特征峰大部分消失,且出现反映水铝石晶体结构的新特征峰。而试验 M1 中富钾页岩浸渣的 XRD 谱中反映白云母和伊利石的特征峰均基本消失,且出现新生矿物水铝石的特征峰有显著增强,且同时出现反映草酸铝($\text{Al}_2\text{C}_6\text{O}_{12}$)和乙酸铝($\text{Al}(\text{OH})(\text{CH}_3\text{COO})_2$)的新特征峰。这表明在接触试验条件下,细菌可以将富钾页岩中的部分矿物转化分解成水铝石,而溶出的 Al 离子在有机酸等代谢产物的络合作用下形成了新物质有机酸铝,并在多糖等胞外聚合物的絮凝作用下又沉淀到矿物表面。因此,可以进一步确认水合铝石及有机酸铝沉淀是导致富钾页岩表面钝化及在浸矿后期浸出效率降低的可能原因之一。

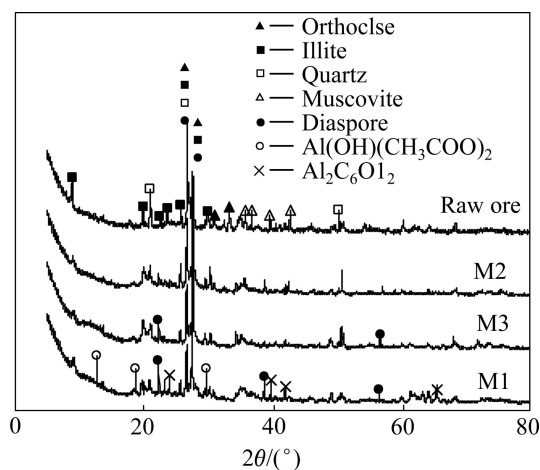


图 7 浸出 15 d 后不同浸出体系中富钾页岩浸渣的 XRD 谱
Fig. 7 XRD patterns of potassium-rich shale residues after 15 d leaching in different bioleaching systems

3 结论

1) 细菌-矿物接触模式可以显著促进细菌的生长和代谢活性。接触试验 M1 浸出液的最低 pH 值为 3.9,

蛋白质和多糖浓度最高为 6.48 mg/L 和 7.57 g/L;而隔离试验 M2 和 M3 浸出液的最低 pH 值分别为 4.8 和 4.3, 蛋白质浓度分别为 3.96 和 5.40 mg/L, 多糖浓度分别为 3.26 和 6.15 g/L。

2) 细菌-矿物直接接触作用对富钾页岩中 K、Si 和 Al 的溶出贡献较间接接触作用要大,但溶出规律或贡献大小存在一定的差别。在浸出前期(0~6 d), K、Al 的溶出主要受间接作用的影响;在浸出后期(6~15 d), 主要受直接作用的影响;在整个浸出周期内, Si 的溶出主要受间接作用的影响。

3) 生物膜与细菌-矿物聚集体的形成可以显著促进富钾页岩的溶解。在富钾页岩细菌浸出的 6~12 d 内, 接触试验 M1 中形成了明显的细菌-矿物聚集体, 矿物颗粒表面覆盖了一层生物膜, 细菌对富钾页岩中 K、Al 的溶出速率明显较非接触模式快。

4) 在细菌-矿物接触和非接触模式下, 在细菌代谢产生的大量胞外多糖等聚合物的絮凝作用下, 易在微孔滤膜和矿物颗粒表面生成水合铝石和有机酸铝沉淀, 这是导致富钾页岩表面钝化及抑制富钾页岩进一步溶解的原因之一。

5) 浸出液中有有机酸和胞外聚合物的含量、生物膜和细菌-矿物聚集体微环境及矿物表面钝化膜的形成等均是影响富钾页岩细菌浸出效果的因素, 浸矿过程中何种因素在何阶段占主导地位仍需进一步进行试验验证。

REFERENCES

- [1] COPLAN E, ZENGİN M, ÖZBACE A. The effects of potassium on yield and fruit quality components of stick tomato[J]. Horticulture Environment Biotechnology, 2013, 54(1): 20–28.
- [2] RÖHMED V, KIRKBY E A. Research on potassium in agriculture: Needs and prospects[J]. Plant Soil, 2010, 335: 155–158.
- [3] BOCHAMIKOVA E A, LOGINOV S V, MATYCHENKOV V V, STOROZHENKO P A. Silicon fertilizer efficiency[J]. Russian Agricultural Sciences, 2010, 36(6): 446–448.
- [4] MA J F, YAMAJI N. Silicon uptake and accumulation in higher plants[J]. Trends Plant Sciences, 2006, 11: 392–397.
- [5] ANJUM N F, SHAHID F, AKCIL A. Biohydrometallurgy techniques of low grade ores: A review on black shale[J]. Hydrometallurgy, 2012, 117–118, 1–12.
- [6] BRIERLY C L. Biohydrometallurgical prospects[J]. Hydrometallurgy, 2010, 104(3): 216–221.
- [7] DOPSOM M, LOVGREN L, BOSTROM D. Silicate mineral dissolution in the presence of acidophilic microorganisms: Implications for heap bioleaching[J]. Hydrometallurgy, 2009,

- 96(4): 325–329.
- [8] MOCKOVCIAKOVA A, IVETA S, JIRI S, IVANA K. Characterization of changes of low and high defect kaolinite after bioleaching[J]. *Applied Clay Science*, 2008, 39(3/4): 451–455.
- [9] LIAN Bin, DONALD L S, FU Ping-qiu. Application and mechanism of silicate bacteria in agriculture and industry[J]. *Guizhou Sciences*, 2000, 18(1/2): 44–53.
- [10] HUTCHENS E, VALSAMIAI J E, MCELDOWNEY S, GAZE W, MCLEAN J. The role of heterotrophic bacteria in feldspar dissolution — An experimental approach[J]. *Mineralogical Magazine*, 2003, 67: 1157–1170.
- [11] 肖国光, 代 军, 孙德四. 生物膜与钝化膜的形成对铝土矿细菌脱硅的影响[J]. *中国矿业大学学报*, 2013, 42(5): 824–831. XIAO Guo-guang, DAI Jun, SUN De-si. Effects of biofilm and passivation coating forming on bacterial desilicon from bauxite[J]. *Journal of China University of Mining & Technology*, 2013, 42(5): 824–831.
- [12] 钟婵娟, 孙德四, 王化军, 张 强. 细菌亚硝酸钠诱变育种及铝土矿浸矿脱硅[J]. *中国有色金属学报*, 2013, 23(5): 1447–1456. ZHONG Chan-juan, SUN De-si, WANG Hua-jun, ZHANG Qiang. Sodium nitrite induced mutagenesis of bacteria and bioleaching silicon from bauxite[J]. *The Chinese Journal of Nonferrous Metals*, 2013, 23(5): 1447–1456.
- [13] 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): 281–288. MO Bin-bin, LIAN Bin. Study on feldspar weathering and analysis of relevant impact factors[J]. *Earth Science Frontiers*, 2010, 17(3): 281–289.
- [14] 胡 婕, 郁建平, 连 宾. 黑曲霉对含钾矿物的解钾作用及机理分析[J]. *矿物岩石地球化学通报*, 2011, 30(3): 277–284. HU Jie, YU Jian-ping, LIAN Bin. Capability and mechanism of potassium releasing from potassium-bearing minerals by *Aspergillus niger*[J]. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 2011, 30(3): 277–284.
- [15] ZHOU Yue-fei, WANG Ru-cheng, LU Xian-cai, CHEN Ting-hua. Roles of adhered *Paenibacillus polymyxa* in the dissolution and flotation of bauxite: A dialytic investigation[J]. *Frontiers of Earth Science in China*, 2010, 4(2): 167–173.
- [16] ZHOU Yue-fei, WANG Ru-cheng, LU Xian-cai. Anorthite dissolution promoted by bacterial adhesion: Direct evidence from dialytic experiment[J]. *Earth Sciences Science China*, 2011, 54(2): 204–211.
- [17] GHORHANI Y, OLIAZADEH M, SHAHVEDI A, ROOHI R, PIRAYEHGAR A. Use of some isolated fungi in biological leaching of aluminum from low grade bauxite[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2007, 6(11): 1284–1288.
- [18] LIU Wu-xing, XU Xu-shi, Wu Xiang-hua, YANG Qi-yin, LUO Yong-ming, Christie P. Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2006, 28: 133–140.
- [19] ŠTYRIAKOVÁ I, ŠTYRIAK I, OBERHÄNSLI H. Rock weathering by indigenous heterotrophic bacteria of *Bacillus spp.* at different temperature: A laboratory experiment[J]. *Mineral Petrology*, 2012, 105: 135–144.
- [20] LIAN B, WANG B, PAN M, LIU C Q, TENG H H. Microbial release of potassium from K-bearing minerals by *thermophilic fungus Aspergillus fumigatus*[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2008, (72): 87–98.
- [21] 孙德四, 王化军, 张 强. 环状芽孢杆菌对铝土矿浸出分解行为的影响[J]. *中国有色金属学报*, 2013, 23(4): 1119–1128. SUN De-si, WANG Hua-jun, ZHANG Qiang. Effects of *Bacillus circulans* on decomposition behavior of bauxite[J]. *The Chinese Journal of Nonferrous Metals*, 2013, 23(4): 1119–1128.
- [22] 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): 657–661. ZHOU Yue-fei, WANG Ru-cheng, LU Xian-cai. Influence of microbe-mineral contact model on mineral dissolution: A primary study on micropertite dissolution by *Paenibacillus polymyxa*[J]. *Geological Journal of China Universities*, 2007, 13(4): 657–661.
- [23] 陈良娟, 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 Liang-juan, LI Fu-chun, 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.

(编辑 李艳红)