

[文章编号] 1004- 0609(2000) 03- 0440- 04

氧化亚铁硫杆菌生长动力学参数^①

闵小波, 柴立元, 钟海云, 张传福
(中南工业大学 冶金科学与工程系, 长沙 410083)

[摘 要] 基于 Monod 方程, 推导并建立了氧化亚铁硫杆菌 TD-10 在含亚铁培养基中的生长响应模型。研究了以亚铁离子的氧化来表征氧化亚铁硫杆菌的生长过程; 利用该模型, 通过计算机拟合, 确定了模型中细菌生长动力学参数, 并用该模型预示了最大比生长速率 μ_m , 营养物饱和常数 K 及细菌的初始浓度与得率系数的比值 ρ_b^0/Y 变化时对细菌生长的影响。考察了不同二价铁离子初始浓度、温度和接种量时亚铁离子浓度的变化, 从而确定了各实验条件下的 μ_m , K 及 ρ_b^0/Y 值。

[关键词] 氧化亚铁硫杆菌; 生长响应模型; 动力学参数

[中图分类号] Q935; TF111.31⁺1

[文献标识码] A

自 1947 年柯麦尔 (Colmer)^[1] 从煤矿的酸性 (硫化矿物氧化的) 矿坑水中分离出氧化亚铁硫杆菌 (*Thiobacillus ferrooxidans*) 以来, 细菌冶金技术得到了飞速发展。氧化亚铁硫杆菌是一种化能自养菌, 专性好氧、嗜酸、呈革兰氏阴性, 最初应用在铀矿和低品位铜矿的堆浸中, 后来, 在难处理金矿的细菌氧化中也得到了应用, 利用它来处理的硫化金属矿达 19 种之多^[2]。由于建立细菌氧化模型的需要, 有关细菌氧化动力学的研究^[3,4] 引起了人们的广泛关注, 主要有细菌生长底物 (亚铁离子及硫化矿等) 氧化动力学^[5] 和细菌生长动力学^[6]。细菌生长的比生长速率是细菌生长模型的关键参数^[7], 通常情况下直接测定细菌生物量来确定其比生长速率非常繁琐^[8], 作者将亚铁离子的氧化和细菌生长过程有机结合, 推导了细菌生长响应模型, 以该模型为基础, 将亚铁离子浓度变化数据通过计算机拟合, 从而估算细菌生长的最大比生长速率及其它有关参数, 避免了繁杂的直接法, 方便快捷地确定了细菌生长的动力学参数。

1 氧化亚铁硫杆菌生长响应模型

1916 年, Stator 提出了比生长速率 μ 的概念, 描述细胞生长速率与细胞数目关系的比例系数, 即

$$\frac{d\rho_b}{dt} = \mu\rho_b \quad (1)$$

式中 μ 为比生长速率, h^{-1} ; ρ_b 为细菌细胞浓度,

$g \cdot L^{-1}$; t 为时间, h 。

一般情况下, μ 不是常数, 当细菌处于生长最旺盛的对数期时, μ 达到最大值 μ_m 。Monod^[8] 给出了在纯培养条件下, 细菌细胞生长只受一种限制性营养物质制约时, 比生长速率 μ 与限制性营养物浓度 ρ 及 μ_m 的关系, 及氧化亚铁硫杆菌在充足供给 O_2 与 CO_2 及其它营养物质条件下, 以二价铁离子作为限制性营养物质的 Monod 方程:

$$\mu = \frac{\mu_m \rho}{K + \rho} \quad (2)$$

由式 (1), (2) 则有

$$\frac{d\rho_b}{dt} = \frac{\mu_m \rho \rho_b}{K + \rho} \quad (3)$$

Raulin 于 1869 年提出用得率系数 Y 来描述生成的细胞与消耗的营养物之间的关系, 表示每消耗 1 g 二价铁离子所生成的细胞质量, ρ_b^0 和 ρ^0 分别为细菌和二价铁离子初始浓度, 则有

$$\rho_b = \rho_b^0 + Y(\rho^0 - \rho) \quad (4)$$

$$\frac{d\rho_b}{dt} = - \frac{Y d\rho}{dt} \quad (5)$$

$$\frac{d\rho}{dt} = - \frac{\mu_m \rho \rho_b}{Y(K + \rho)} \quad (6)$$

$$\frac{d\rho}{dt} = - \frac{\mu_m / \rho_b^0 + Y(\rho^0 - \rho) / \rho}{Y(K + \rho)} \quad (7)$$

整理后两边分别积分, 得到

$$\mu_m t = \ln \frac{\rho - [(\rho_b^0 / Y) + \rho^0]}{\rho^0 - [(\rho_b^0 / Y) + \rho^0]} + \frac{K}{(\rho_b^0 / Y) + \rho^0} \times$$

① [收稿日期] 1999- 04- 07; [修订日期] 1999- 11- 08

[作者简介] 闵小波 (1974-), 男, 博士。

$$\ln \frac{\rho^0[\rho - I(\rho_b^0/Y) + \rho^0]}{\rho[\rho - I(\rho_b^0/Y) + \rho^0]} \quad (8)$$

方程(8)为细菌生长响应模型,根据实验中亚铁离子浓度随时间的变化数据,通过计算机编程拟合,就可以快速确定细菌生长动力学参数。

2 实验方法

氧化亚铁硫杆菌 TD-10 由中科院微生物所提供。培养基组成 (g/L) 为: (NH₄)₂SO₄ 0.45; K₂HPO₄ 0.15; MgSO₄·7H₂O 0.5; KCl 0.05; 以及 Ca(NO₃)₂ 0.01, 并加入一定量的 FeSO₄·7H₂O, 用蒸馏水配成 1 L 溶液, 用 1:1 (体积比) 硫酸调节溶液 pH 值, 种菌生物量为 10⁸/ml 数量级。实验装置如图 1 所示, 细菌氧化在一个下窄上宽、容积为 2 L 的带盖玻璃槽中进行, 通过无油电磁充气泵及导流管向槽中溶液提供细菌生长所需的氧气和二氧化碳, 并起搅拌作用; 溶液中的 pH 值由 pHS-3 型 pH 计测定; 细菌生长温度由 WS2-133-85-2 型电热恒温水浴锅控制。用分光光度法分析培养溶液中 Fe²⁺ 的浓度, 蒸发损失的液体用蒸馏水补充。

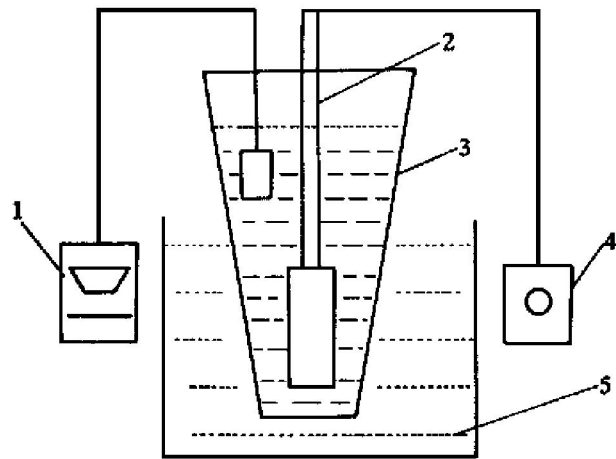


图 1 实验装置示意图

Fig. 1 Layout of experimental equipment

1—pH meter; 2—Guide flow pipe; 3—Culture tank;
4—Air pump; 5—Thermostat water bath

3 模型参数

表 1 是温度为 30 ℃, pH 2.0, 初始亚铁离子浓度 ρ⁰ 为 4.58 g/L 时, 二价铁离子被细菌氧化后浓度的变化。用细菌生长模型通过计算机优化拟合表 1 中的数据, 得到模型中的三个参数分别为 μ_m=

表 1 二价铁离子浓度随时间的变化

Table 1 Ferrous concentration as a function of time

Time/h	0	1	2	3	4	5	6	7
ρ(Fe ²⁺)/(g·L ⁻¹)	4.58	4.45	4.30	4.07	3.89	3.49	3.20	2.97
Time/h	8	9	10	11	12	13	14	15
ρ(Fe ²⁺)/(g·L ⁻¹)	2.61	2.34	1.92	1.63	1.04	0.73	0.43	0.29

0.066h⁻¹、K=0.036 g/L、ρ_b⁰/Y=2.76 g/L。将这些参数代入模型用 Origin5.0 绘图, 得到图 2。图 3~5 给出了该实验条件下参数变化时(三个参数中仅改变其中一个, 其它两个不变), 二价铁离子浓度随时间变化的理论预示。由图看出, 随着 μ_m 值变大, 即细菌的生长速度加快, 二价铁离子的氧化速度增大。K 值实际上表示细菌生长由对数期转入稳定期时二价铁离子的浓度变化。在其它两个参数不变情况下, K 值越小表明细菌对数期越长, 氧化二价铁离子越快。ρ_b⁰/Y 在某种程度上反应的是初始细菌浓度大小, 细菌浓度越大, 二价铁离子的氧化速度越快。

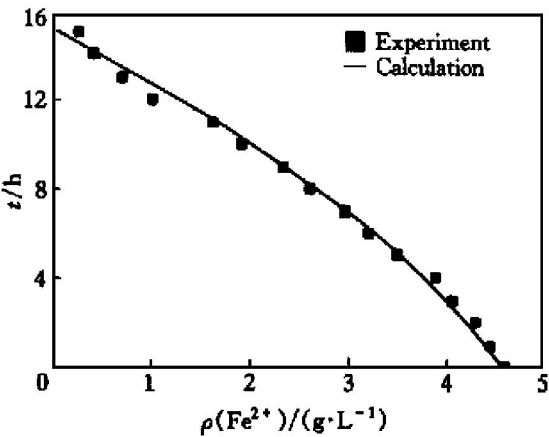


图 2 二价铁离子浓度随时间变化曲线

Fig. 2 Variation of ferrous ion concentration with time

(ρ⁰=4.58 g/L; μ_m=0.066 h⁻¹;

K=0.036 g/L; ρ_b⁰/Y=2.76 g/L)

改变初始二价铁离子浓度、温度及细菌接种量(接种量表示加入的种菌液与培养基的体积比), 得到不同实验条件下亚铁离子浓度随时间的变化数据, 采用上述处理方法, 确定了不同二价铁离子初始浓度、温度及接种量下模型参数 μ_m 与 K 及 ρ_b⁰/Y 值, 见表 2。其中温度对细菌生长 μ_m 的影响最大, 温度升高, 细菌生长的 μ_m 值明显变大, 25 ℃ 时的值为 0.041, 而 35 ℃ 时, 其值为 0.117, 增长了约两倍; 其次是接种量, 接种量增大, 细菌生长的

表 2 不同实验条件下模型参数的拟合值

No.	Initial concentration of ferrous ions /(g·L ⁻¹)	Temperature / °C	Inoculation amount / %	Simulating parameter		
				μ_m/h^{-1}	$K/(g\cdot L^{-1})$	$(\rho_b^0/Y)/(g\cdot L^{-1})$
1	5.5	30	10	0.042	0.91	3.99
2	8	30	10	0.045	1.25	3.92
3	12	30	10	0.041	0.75	3.99
4	15	30	10	0.049	0.22	2.30
5	5.5	30	5	0.039	0.89	3.90
6	5.38	30	10	0.037	0.50	3.93
7	5.3	30	20	0.042	0.78	5.40
8	5.23	30	30	0.044	1.93	9.90
9	2.72	25	8	0.041	0.86	4.00
10	2.72	30	8	0.094	1.24	4.00
11	2.72	35	8	0.117	1.63	3.90

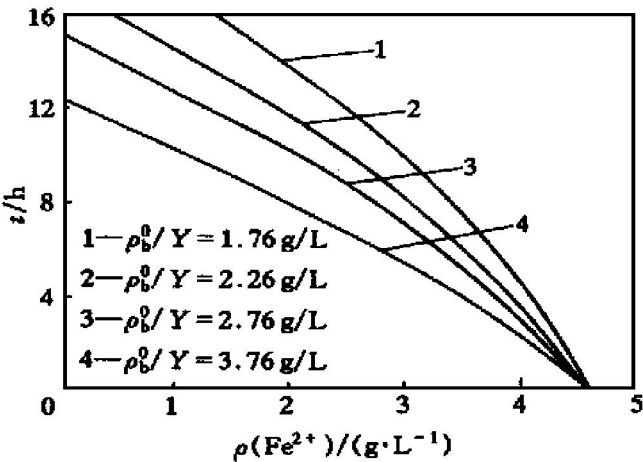


图 3 μ_m 值变化时模型的理论预示

Fig. 3 Effect of μ_m on concentration of ferrous ion as a function of time by model ($\rho^0 = 4.58\text{ g/L}$; $K = 0.036\text{ g/L}$; $\rho_b^0/Y = 2.76\text{ g/L}$)

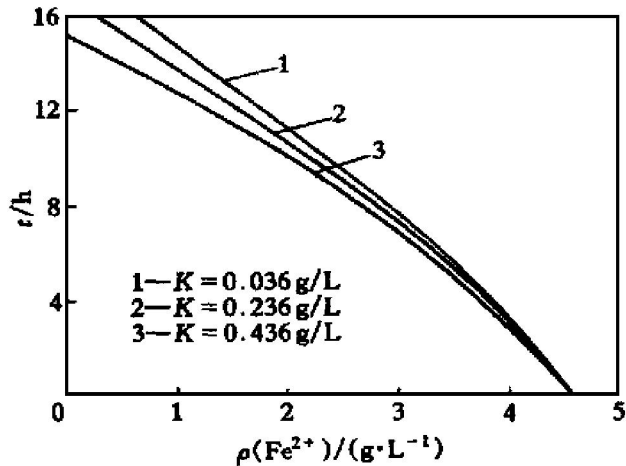


图 4 K 值变化时模型的理论预示

Fig. 4 Effect of K on concentration of ferrous ion as a function of time by model ($\rho^0 = 4.58\text{ g/L}$; $K = 0.066\text{ g/L}$; $\rho_b^0/Y = 2.76\text{ g/L}$)

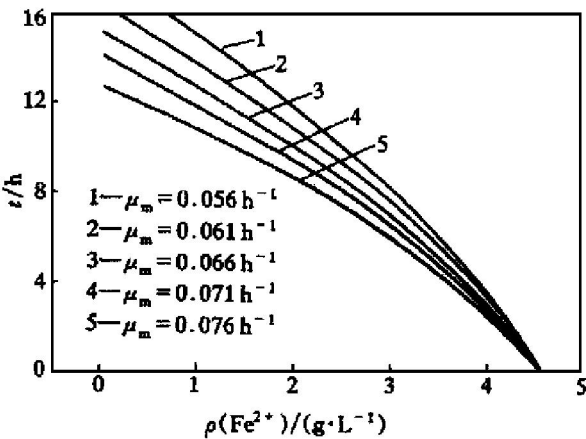


图 5 ρ_b^0/Y 值变化时模型的理论预示

Fig. 5 Effect of ρ_b^0/Y on concentration of ferrous ion as a function of time by model ($\rho^0 = 4.58\text{ g/L}$; $K = 0.036\text{ g/L}$; $\rho_b^0/Y = 0.036\text{ g/L}$)

μ_m 值有增大的趋势, 但不很明显; 而二价铁离子初始浓度对 μ_m 影响不大。对于 K 值, 温度对其影响最大, 从 25 °C 到 35 °C 翻了一翻, 这是由于温度的升高, 有利于细菌生长, 细菌将会更快地进入到稳定期。改变接种量时改变了初始细菌浓度, 因此对 ρ_b^0/Y 的影响较大, 温度和二价铁离子初始浓度的变化对该值的影响不是很大。

4 结论

- 1) 利用细菌生长动力学的响应模型, 考察了亚铁离子浓度随时间的变化, 通过计算机拟合确定了细菌的生长动力学参数 μ_m , K 及 ρ_b^0/Y ; 并利用该模型, 通过改变各有关参数值, 对细菌生长氧化过程进行了理论预示。
- 2) 利用细菌生长模型, 确定了不同二价铁离子

初始浓度、温度及接种量下的 μ_m , K 及 ρ_b^0/Y 。其中温度对细菌生长 μ_m 的影响最大, 温度升高, 细菌生长的 μ_m 值明显变大; 其次是接种量, 接种量增大, 细菌生长的 μ_m 值有增大的趋势, 但不很明显; 而二价铁离子初始浓度对 μ_m 影响不大。温度对 K 值的影响最大; 改变接种量时改变了初始细菌浓度, 因此对 ρ_b^0/Y 的值影响较大, 温度和二价铁离子初始浓度的变化对该值的影响不是很大。

[REFERENCES]

- [1] Colmer A R and Hinkle M E. The role of microorganisms in acid mining drainage, a preliminary report [J]. Science, 1947, 106: 253– 256.
- [2] Henry L E and Corale L. Microbial mineral recovery [M]. New York: McGraw-Hill Publishing Company, 1990. 121– 147.
- [3] Nemati M and Webb C. A kinetic model for biological oxidation of ferrous ion by *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1997, 53: 478– 486.
- [4] Karavaiko G I, Rossi G, Agate A D, et al. Biogeotechnology of metals [M]. Moscow: Center for International Projects Gknt, 1988. 10– 45.
- [5] Pesic B, Oliver D J and Wichlacz P. An electrochemical method of measuring the oxidation rate of ferrous to ferric ion with oxygen in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1989, 33: 428– 439.
- [6] Soumitro N. A structured model for *Thiobacillus ferrooxidans* growth on ferrous ion [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1997, 53: 310– 319.
- [7] Soumitro N, Donald D and Timothy O. A mathematical model for the bacterial oxidation of sulfide ore concentrate [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1994, 43: 357– 364.
- [8] Braddock Joan Forshaug, Luong Huan V and Brown Edward J. Growth kinetics of *Thiobacillus ferrooxidans* isolated from arsenic mine drainage [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1984, 48: 48– 55.

Kinetic parameters for growth of *Thiobacillus ferrooxidans*

MIN Xiao-bo, CHAI Li-yuan, ZHONG Hai-yun, ZHANG Chuan-fu

(Department of Metallurgical Science and Engineering, Central South University of Technology, Changsha 410083, P. R. China)

[Abstract] Based on Monod formula, a responsive mathematical model for a certain kind of *Thiobacillus ferrooxidans* named TD-10 growing in the substrate containing ferrous ion was built up. With computer simulating variation of ferrous ion concentration during the bacteria growth, this model can be used to determine the kinetic parameters of bacteria growth, and the influence of these parameters on bacteria growth can be predicted. Under the varied experimental conditions of initial ferrous ion concentration, temperature and inoculation amount, the ferrous ion concentration was examined, and the experimental data were simulated by computer to determine μ_m , K and ρ_b^0/Y . Furthermore, the influence of experimental conditions on these parameters was discussed.

[Key words] *Thiobacillus ferrooxidans*; oxidation of ferrous ions; bacteria growth model; kinetic parameters

(编辑 龙怀中)