[文章编号] 1004- 0609(2000)04- 0576- 03

Mg^{2+} 对氧化亚铁硫杆菌生长活性的影响①

李洪枚, 柯家骏
(中国科学院 化工冶金研究所, 北京 100080)

[摘 要] 研究了在常用的细菌浸出条件下(t= 30 ℃, pH 2.0), Mg^{2+} 对氧化亚铁硫杆菌(T.f)生长活性的影响。结果表明, 该实验所用菌株具有一定的耐 Mg^{2+} 能力; 当培养基中 $\rho(Mg^{2+})$ ≤10.5 g/L 时, Mg^{2+} 对细菌的生长活性没有不利的影响; $\rho(Mg^{2+})$ 15.5 g/L 时对细菌生长活性的影响较明显; $\rho(Mg^{2+})$ 20.5 g/L 时细菌的生长完全受到抑制。经驯化后的该菌株耐 Mg^{2+} 性明显提高, 在含 $\rho(Mg^{2+})$ 15.5 g/L 的培养基中细菌的生长活性良好。

[关键词] 氧化亚铁硫杆菌; 生长活性; Mg^{2+} 的影响
[中图分类号] TF18 [文献标识码] A

细菌浸出低品位铜矿、铀矿和含砷金矿已获得工业应用, 用细菌浸出低品位镍矿尚处于研究阶段。本工作是针对金川低品位镍矿的细菌浸出工艺实验, 该矿的主要脉石矿物是含镁量高的蛇纹石及绿泥石, 其细菌浸出过程中部分 Mg^{2+} 被浸出进入溶液, 实验中考察了 Mg^{2+} 对云株-1 号氧化亚铁硫杆菌生长活性的影响。一些重金属离子(Cu^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+}, As^{3+}, Fe^{2+} 及 Fe^{3+} 等)对氧化亚铁硫杆菌活性的影响已有文献报道[1~6]。在氧化亚铁硫杆菌最常用的 Leathen 培养基中, $MgSO_4$ 是主要成分, 通常 Mg^{2+} 含量为 0.5 g/L, 但 Mg^{2+} 对氧化亚铁硫杆菌的影响程度尚未见文献报道。本文作者在常用浸出条件下(t= 30 ℃, pH 2.0), 考察了氧化亚铁硫杆菌的原菌株和驯化菌株的耐 Mg^{2+} 能力。

1 实验方法

1.1 实验仪器及原料

实验仪器采用 722 型光栅分光光度计, pHS-29A 型酸度计, SZX-B 型恒温水浴振荡摇床以及 TN 型托盘式扭力天平。实验所用菌株为云株- 1 号氧化亚铁硫杆菌(由中国科学院微生物所提供)。Leathen 培养基中的 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 用量根据实际需要加入, 培养基中 Mg^{2+} 用分析纯 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 溶解于培养基中。

1.2 分析方法

Fe^{2+} 采用邻菲罗啉法测定[7], 通过测定培养基中 Fe^{2+} 的浓度变化, 即细菌把 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+}, 来表示该菌株的生长活性。实验中考察了 Mg^{2+} 对原菌株及驯化菌株生长活性的影响。用 10 mL 的移液管移取对数期的菌液, 接种到含不同 Mg^{2+} 浓度的培养基中进行摇床实验, 接种量为 10%(体积分数)。每隔一段时间用 1 mL 移液管移取 1 mL 培养液进行分析蒸发的水需定时加蒸馏水补充。Fe^{2+} 的初始浓度约为 10 g/L。

2 结果与讨论

2.1 Mg^{2+} 对原菌株(T.f)生长活性的影响

表 1 给出了原菌株在延迟期和对数期对 Fe 氧化速率的影响, 图 1 给出了 Mg^{2+} 对原菌株生长活性的影响。由图可知, 当培养基中 $\rho(Mg^{2+})$ ≤10.5 g/L 时, 细菌生长的延迟期和对数期的时间分别为 24 h 和 30 h; Fe^{2+} 的氧化速率基本相近, 且对数期的速率大于延迟期的速率, 表明 Mg^{2+} 对该菌的生长活性没有不利的影响; 当培养基中 Mg^{2+} 达到 15.5 g/L 时, 延迟期虽为 24 h, 但 Fe^{2+} 的氧化速率下降到 0.098 g/(L·h), 对数期延长到 48 h, Fe^{2+} 的氧化速率下降到 0.171 g/(L·h), 表明此时 Mg^{2+} 对细菌生长活性的影响已比较明显; 当培养基中 Mg^{2+} 达到 20.5 g/L 时, 细菌生长受到抑制, 培养时间达 168 h, Fe^{2+} 浓度几乎仍无变化。

原菌株培养液的电势随培养时间的变化见图 2。溶液电势的变化是该体系中 $\rho(Fe^{3+})/\rho(Fe^{2+})$

① [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(59834150) [收稿日期] 1999- 07- 08; [修订日期] 1999- 09- 13
[作者简介] 李洪枚(1967-), 男, 博士.

比值变化的反映。在延迟期电势上升缓慢，进入对数期电势迅速上升，达到最大电势值约需 60 h，这与图 1 中 $\rho(Fe^{2+})$ 下降趋势基本对应。当培养基中的 Mg^{2+} 增加到 20.5 g/L 时，$\rho(Fe^{2+})$ 无变化，溶液的电势也基本保持不变。

表 1　原菌株在延迟期和对数期对 Fe^{2+} 氧化速率的影响

Table 1　Oxidation rate of Fe^{2+} by wild T.f in lag and logarithmic phase*

$\rho(Mg^{2+})$ /(g·L^{-1})	$\rho^0(Fe^{2+})$ /(g·L^{-1})	Oxidation rate of Fe^{2+} in lag phase /(g·L^{-1}·h^{-1})	Oxidation rate of Fe^{2+} in logarithmic phase/(g·L^{-1}·h^{-1})
0.5	10.14	0.112	0.246
5.5	10.71	0.148	0.237
10.5	10.00	0.122	0.234
15.5	10.63	0.098	0.171

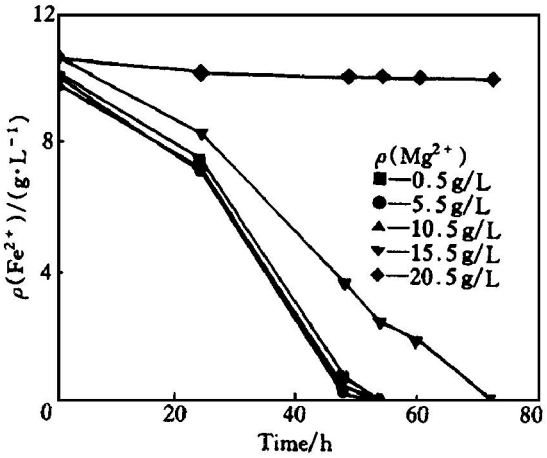

图 1　Mg^{2+} 对原菌株(T.f)生长活性的影响

Fig. 1　Effect of Mg^{2+} on growth and activity of wild *Thiobacillus ferrooxidans*

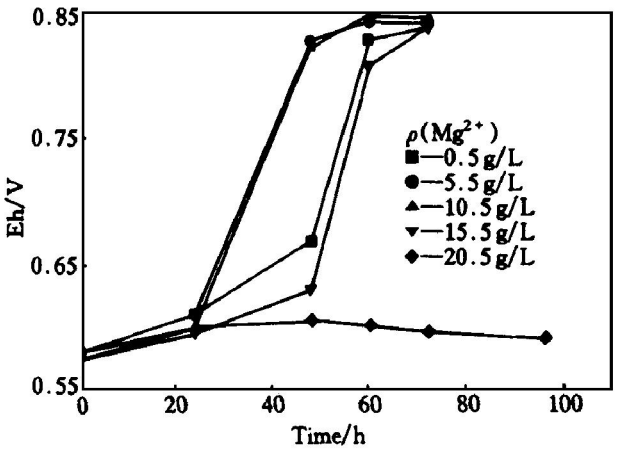

图 2　原菌株培养液的电势随时间变化

Fig. 2　Curves of potential in wild T.f culture solution vs time

2.2　Mg^{2+} 对驯化菌株(T.f)生长活性的影响

原菌株在含 Mg^{2+} 浓度为 15.5 g/L 的培养基中驯化一个月后，得到驯化菌株。将其接种到含 Mg^{2+} 分别为 0.5 g/L 和 15.5 g/L 的培养基中进行对比实验，考察驯化菌株的耐 Mg^{2+} 能力，实验结果见表 2 和图 3。两者的结果比较接近，在 Mg^{2+} 浓度为 15.5 g/L 的培养基中，该驯化菌的耐 Mg^{2+} 能力已明显提高。由图 4中驯化菌株培养液的电势随

表 2　驯化菌在延迟期和对数期 Fe^{2+} 氧化速率

Table 2　Oxidation rate of Fe^{2+} by T.f in lag and logarithmic phase*

$\rho(Mg^{2+})$ /(g·L^{-1})	$\rho^0(Fe^{2+})$ /(g·L^{-1})	Oxidation rate of Fe^{2+} in lag phase /(g·L^{-1}·h^{-1})	Oxidation rate of Fe^{2+} in logarithmic phase/(g·L^{-1}·h^{-1})
0.5	10.04	0.113	0.241
15.5	10.31	0.123	0.202

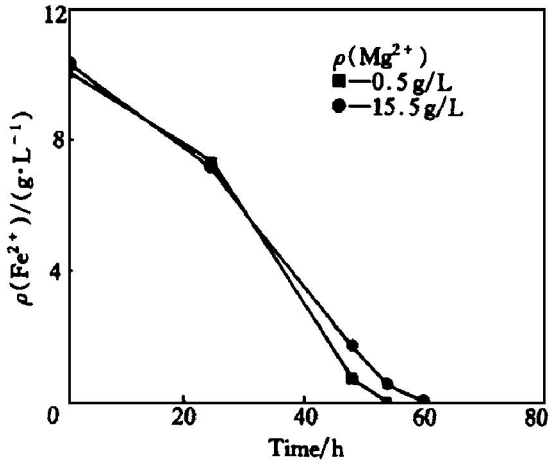

图 3　Mg^{2+} 对驯化菌株(T.f)生长活性的影响

Fig. 3　Effect of Mg^{2+} on growth and activity of adapted *Thiobacillus ferrooxidans*

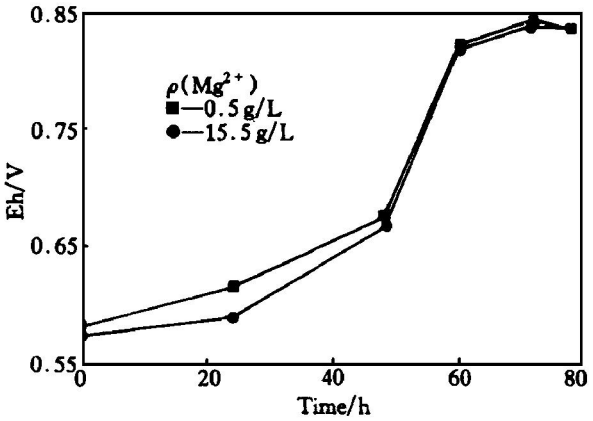

图 4　驯化菌株培养液的电势随时间变化

Fig. 4　Curves of potential in adapted T.f culture solution vs time

培养时间的变化还可以看出，两者也比较靠近，达到最大电势值约需 72 h。

在氧化亚铁硫杆菌最常用的 Leathen 培养基中，$MgSO_4$是不可缺少的主要成分之一，一般含 Mg^{2+} 0.5 g/L 左右。镁在细菌体内的主要作用为：构成某些酶的活性成分，它是光合微生物的光合色素——叶绿素和细菌叶绿素的组成元素，因而在光能转化上起重要作用；它对微生物细胞的某些结构包括核糖体、细胞膜等的稳定性起着重要作用，如果微生物生长得不到足够的镁，会导致核糖体与细胞膜的稳定性降低，从而影响机体正常生长。研究结果表明，适当增加培养基中 Mg^{2+} 含量有利于细菌生长；当 $\rho(Mg^{2+}) \leqslant 10.5$ g/L 时，Mg^{2+} 对细菌的生长活性没有不利影响；但 $\rho(Mg^{2+})$ 达到 15.5 g/L 时，则会抑制细菌生长；$\rho(Mg^{2+})$ 增大到 20.5 g/L 时，细菌生长便完全受到抑制。可能的原因：一是体系的 $\rho(Mg^{2+})$ 增大时，细菌体内与溶液之间的渗透压增大，会影响细菌正常的生理功能，虽然细菌具有调节体内 Mg^{2+} 浓度的能力，以适应各种不同的渗透压，但这种调节作用是需要时间而且有限度的，因此 $\rho(Mg^{2+})$ 过高细菌会停止生长，甚至死亡；二是 Mg^{2+} 浓度过高会影响其它物质的代谢过程的进行，主要包括阻碍其它物质进入细胞、影响其它酶的代谢功能等，从而导致细菌的正常生长受到抑制。

[REFERENCES]

[1] Tuovinen O H, Niemela S L and Gyllenbweg H G. Tolerance of *Thiobacillus ferrooxidans* to some metals [J]. J Microbiol Serol, 1971, 37: 489- 496.

[2] Dave S R, Natarajan K A and Bhat J V. Biooxidation studies with *Thiobacillus ferrooxidans* in the presence of copper and zinc [J]. Trans Inst Min Metall, 1979, 88: 234- 237.

[3] XIANG Lan(向 兰), KE Jia-jun(柯家骏) and QIU Rong-qing(裘荣庆). As^{3+} 和 As^{5+} 对细菌生长及含金银的毒砂矿石浸出的影响 [J]. Multi Utilization of Mineral Resources(矿产综合利用), 1991(4): 1- 5.

[4] Brahmaprakash G P, Devasia P, Jagadish K S, et al. Development of *Thiobacillus ferrooxidans* ATCC19859 strain tolerant to copper and zinc [J]. Bull Mat Sci, 1988, 10: 411.

[5] Tuovinen O H, Puhakka J, Hiltunen P, et al. Silver toxicity to ferrous iron and pyrite oxidation and its alleviation by yeast extract in cultures of *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. Biotechnol Lett, 1985, 7: 389- 394.

[6] Leathen W W, Mcintyre L D and Braely S A. A medium for the study of bacterial oxidation of ferrous iron [J]. Science, 1951, 114: 280- 281.

[7] Herrera L, Ruize P, Aguillon J C, et al. A new spectrophotometric method for the determination of ferrous iron in the presence of ferric iron [J]. J Chem Tech Biotechnol, 1989, 44: 171- 181.

Effect of Mg^{2+} on growth and activity of *Thiobacillus ferrooxidans*

LI Hong-mei, KE Jia-jun

(Institute of Chemical Metallurgy,

Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, P. R. China)

[Abstract] The effect of Mg^{2+} on the growth and activity of *Thiobacillus ferrooxidans* (T. f) was studied under the common bioleaching condition of 30 ℃ and pH 2.0. Experimental results show that the T. f used in this experiment was tolerant of Mg^{2+} to some extent. No bad effect on the growth and activity of T. f by Mg^{2+} was brought when cultured in Leathen medium containing $\rho(Mg^{2+}) \leqslant 10.5$ g/L. The growth and activity of T. f are obviously influenced when $\rho(Mg^{2+})$ 15.5 g/L. But the growth and activity of T. f cease when the concentration of Mg^{2+} is around 20.5 g/L. The T. f can tolerate the concentration of Mg^{2+} 15.5 g/L in the culture medium after a period of adaptation by repeated subculturing.

[Key words] *Thiobacillus ferrooxidans*; growth and activity; tolerance of Mg^{2+}

(编辑 龙怀中)