摘要

随着金矿的大规模开采，易浸的金矿资源日渐枯竭，难处理、低品位金矿将成为今后黄金工业的主要资源。近年来在微生物浸矿技术基础上开发的生物氧化法由于具环境友好成本较低，受到越来越多的重视。但在目前生物冶金研究领域中从细菌改良等菌种角度提高单菌氧化能力难有明显效果，需从优化细菌生长条件等角度提高整体细菌氧化能力，而细菌搅拌浸出中应用的生物反应器又普遍存在剪切力大、细菌磨损严重等缺点，因此，生物浸出技术迫切需要解决过程工程问题，开发具有柔和搅拌条件、高效的生物浸出反应器。

本文基于细菌浸出的间接作用机理设计了一种生物-化学两级循环反应工艺，该工艺将传统的矿物生物浸出过程分为细菌生长，Fe^{2+}的细菌氧化的生物反应过程以及细菌氧化产物与矿物间的化学反应过程。该工艺流程为：在生物反应器中 Fe^{2+}被 *At.f* 氧化为 Fe^{3+}，Fe^{3+}通过恒流泵进入化学反应器，并与其中的硫化矿进行反应产生 Fe^{2+}，然后这些Fe^{2+} 又进入生物反应器被 *At.f* 氧化为 Fe^{3+}，其后这些 Fe^{3+}又被带入化学反应器，如此往复循环。本论文用该工艺对甘肃坪定含砷难处理金矿进行氧化预处理研究，首先对实验室现有的七种氧化亚铁硫杆菌用含砷难处理金矿进行驯化，从中选出该矿样的最佳菌种。在摇床温度30℃，转速 180r/min 条件下确定 BY3 菌种对该矿样浸出效果较好，并对该菌种生长条件进行优化，得出：BY3 菌在 9K 液体培养基中的最佳生长条件为：30℃，pH1.5-2.0，接种量 10%。在生物-化学两级循环反应工艺中，对固定化 *At.f* 和游离 *At.f* 浸出高砷难处理金矿进行比较，得出前者比后者的浸出率低 4.2%，因此，本项目采用游离 *At.f* 来浸出高砷难处理金矿。

实验确定了生物-化学两级循环反应器浸出甘肃坪定高砷型难处理金矿的最适理化条件(化学反应器温度 70℃，Fe^{3+}浓度为 6g/L（6K），矿石粒度-74μm，Ag^{+}5mg/L),在优化条件下，使用该反应器当该体系运行到第 5 天时，实验组砷的浸出率就可以达到 81.79%，明显高于无菌组和 30℃对照组的浸出结果。生物-化学两级循环反应器提高了浸出率，浸出时间缩短了一半，间接降低了微生物浸矿的成本，因此，在实际生产中具有可行性。

关键词： 难浸金矿；生物浸出；氧化亚铁硫杆菌；两级反应器；浸矿机理

Abstract

With large-scale gold mining, free milling resources increasingly depleted, refractory, low grade gold deposit will become the main resources of gold industry. In recent years, biooxidation developed on the basis of microbiological leaching technology had beening attended more and more because of a lower-cost and environment-friendly. At present, it is difficult to improve the bio-oxidation ablity of bioleaching microorganisms, so we need seek some new ways to optimize the growth condition of bacterium. However, bio-oxidation in stirring reactor is a well approach to improve the growth of bacterium, the stirred bioreactor barge up against the high shear rates, suspending solids and the loss of sterility. So that it is imminency to search for some techniques to solve such problems, and make the bioleaching had predominance to other hydrometallurgy ways.

Based on the indirect bioleaching mechanism, a new bioleaching process comprising biooxidation and chemical leaching is proposed. The principle of this whole process can be summarized as follows: firstly the leaching solution in the chemical reactor would react with sulfide to produce Fe^{2+}, then the Fe^{2+} passed to bioreactor would be biologically oxidized to ferric ions which subsequently be recycled to chemical reactor by a HL-2S peristaltic pump reacting with the sulphide minerals again.The refractory gold ores of Gansu Ping with the process was studied, first of all seven kinds of *Acidithiobacillus ferrooxidans* in laboratory were used to decompose arsenic-bearing refractory gold ores to select the best strains. BY3 was the optimal *At. ferrooxidans.* The inoculated ratio 10% v/v, temperature 30℃ and pH1.5-2.0 were the optimal parameters for the dissplution of Gannan refactory gold-ore under the conditions of Shaking rate 180r/min. In the biology - chemical reaction process, immobilized *At.f* compared with free *At.f* to leach high arsenic refractory gold ores, the results showed that the leaching rate of the former lower than the latter. Therefore, this project adopts free *At. f* to leach high arsenic-bearing refractory gold ores.

In this paper, preteatment of an arsenic-bearing refractory gold ore, which was collected from Pingding in Gasnsu province, was carried out by bioleaching in a novel continuous two-stage bio-chemical reactor. The effects of processing parameters, i.e. ore particle size, temperature, Ag^{+} and Fe^{3+} concentration et al., were investigated. Results show that an arsenic extraction rate of 81.79% could be

obtained for 5d under the conditions of 70℃, 6g/L of Fe^{3+} (6K) , 5mg/L of Ag^{+} and -74μm of particles size, respectively, higher than the control group at low temperature and high temperature control group. It increased leaching rate, shorted leaching time by one half and indirectly reduced the cost of bio- leaching in biological - chemical reactor, therefore, it is feasible in the actual production.

Key words: Refactory gold concentrate; Bio-oxidation pretreatment; *Acidithiobacillus ferrooxidans*; Biological-chemical reactor; Leaching mechanism

2.2.1 X 射线鉴定两种形态的细胞产生的沉淀 26
2.2.2 黄铁矾形成机制研究 27
3 结论 28
第四部分 生物-化学两级循环反应器氧化难浸金矿的浸出参数优化 29
1 材料 29
1.1 菌种来源 29
1.2 培养基 29
2 实验方法 29
2.1 亚铁浓度测定 29
2.2 Ag^+的驯化培养 29
2.3 单级反应器氧化难浸金矿的浸出参数优化 30
2.3.1 矿石粒度对生物浸出的影响 30
2.3.2 温度对生物浸出的影响 30
2.3.3 初始 Fe^{3+}的浓度对生物浸出的影响及浸出液中总铁含量的变化 30
2.3.4 表面活性剂吐温-20 对生物浸出的影响 30
2.4 Ag^+对生物浸出的影响 30
2.5 游离 *At.f* 在生物-化学两极反应器中浸出难处理金矿的研究 31
3 结果与分析 31
3.1 单级反应器中矿石粒度对生物浸出的影响 31
3.2 单级反应器中温度对生物浸出的影响 31
3.3 单级反应器中 Fe^{3+}的浓度对生物浸出的影响及浸出液中总铁含量的变化 32
3.4 表面活性剂吐温-20 对生物浸出的影响 34
3.5 催化剂 Ag^+对生物浸出的影响 34
3.6 游离 *At.f* 在生物-化学两级反应器中浸出难处理金矿的研究 35
4 结论 37
第五部分　总结 38
参考文献 39
附录 1 45
附录 2 46
附录 3 47
在校期间的科研成果 49
致　　谢 50

图 1-1 直接作用机理示意图 7

图 1-2 间接作用机理示意图 8
图 1-3 间接—接触间接—直接复合作用示意图 10
图 1-4 气升式反应器浸出硫化矿 12
图 1-5 生物氧化-化学渗滤偶联装置浸出硫化矿 13
图 2-1 甘南金矿的菌种选择实验 18
图 2-2 pH 对氧化亚铁硫杆菌活性的影响 19
图 2-3 初始 pH 对培养基 pH 的影响 20
图 2-4 接种量对氧化亚铁硫杆菌活性的影响 21
图 2-5 温度对氧化亚铁硫杆菌活性的影响 21
图 3-1 生物-化学循环反应器试验装置简图 24
图 3-2 固定化 *At.f* 和游离 *At.f* 浸出甘南金矿比较 26
图 3-3 游离 *At.f* 和固定化 *At.f* 产生的黄铁矾沉的 X 射线衍射图谱 27
图 3-4 不同培养时间对黄铁矾沉淀的影响 27
图 4-1 矿石粒度对砷浸出率的影响 31
图 4-2 化学反应器温度对砷浸出率的影响 32
图 4-3 Fe^{3+}的浓度对砷浸出率的影响 33
图 4-4 不同 Fe^{3+}浓度反应体系中总铁含量的变化 33
图 4-5 Fe^{3+}浓度分别为 9K 和 6K，72h 后反应器的变化 34
图 4-6 Ag^{+}浓度对砷浸出率的影响 35
图 4-7 生物-化学两级反应器浸出难处理金矿时砷的浸出率 36
图 4-8 不同组的[Fe^{2+}]变化 36

表 1-1 难处理金矿生物预氧化处理工厂一览表 4
表 1-2 不同氧化预处理方法的比较 5
表 1-3 生物冶金中常用微生物 5
表 2-1 甘南金矿样化学成分 16
表 2-2 浸出 3 天后不同浸出类型浸出率的比较 22

缩略词表

英文缩写	英文名称	中文名称
At.f	*Acidithiobacillus ferrooxidans*	氧化亚铁硫杆菌
At.t	*Acidithiobacillus thiooxidans*	氧化硫硫杆菌
L.f	*Leptospirllum ferooxidans*	氧化亚铁钩端螺旋菌
S.a	*Sulfolobus acidocaldarius*	嗜酸热硫化叶菌
A.c	*Acidithiobacillus caldus*	喜温硫杆菌
AMD	acid mine drainage	酸性矿水
XRD	X-ray Diffraction	X－射线衍射
ICP-AES	Inducitive coupled plasma atomic emission spectrometer	电感耦合等离子体发射光谱
UV-Vis	UV-Visible Spectrophotometer	紫外-可见光分光光度计

原 创 性 声 明

本人郑重声明：本人所呈交的学位论文，是在导师的指导下独立进行研究所取得的成果。学位论文中凡引用他人已经发表或未发表的成果、数据、观点等，均已明确注明出处。除文中已经注明引用的内容外，不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的科研成果。对本文的研究成果做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。

本声明的法律责任由本人承担。

论文作者签名：范耀刚　　日　期：2009.6.2

关于学位论文使用授权的声明

本人在导师指导下所完成的论文及相关的职务作品，知识产权归属兰州大学。本人完全了解兰州大学有关保存、使用学位论文的规定，同意学校保存或向国家有关部门或机构送交论文的纸质版和电子版，允许论文被查阅和借阅；本人授权兰州大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用任何复制手段保存和汇编本学位论文。本人离校后发表、使用学位论文或与该论文直接相关的学术论文或成果时，第一署名单位仍然为兰州大学。

保密论文在解密后应遵守此规定。

论文作者签名：范耀刚　导师签名：　　日　期：2009.6.2

兰州大学研究生学位论文电子版使用授权书

《生物-化学两级循环反应器中难浸金矿的细菌氧化预处理研究》是本人在兰州大学攻读博士□/硕士☑学位的毕业论文，现已通过答辩。本人作为此论文的著作权人，同意向兰州大学图书馆提交该论文的电子版和印刷本各一份。

根据《中华人民共和国著作权法》的规定，本人授权兰州大学图书馆对该论文电子版享有以下权力：（同意者画√）

1、同意提交全文。可以在提交

半年（公开） □　　一年（秘密） □

二年（机密） □　　三年（绝密） □

期限之后，由图书馆在校园网上提供全文浏览。

2、本人论文解密之后，同意向"CALIS 高校学位论文全文数据库"提交：

论文标题、提要和论文前 16 页 □　　论文全文 □

3、不同意提交电子版论文☑。（选此项者，须由作者本人出具不能公开证明，导师签字，院系所加盖公章。）

图书馆承诺：

1、不对论文从收集、保存、发布意外的其他活动；

2、未经著作权人同意，不得从事营利性活动。

院系：生命科学学院　　学号：06202007S

作者（授权人）签名：范艳利　　时间：2009. 6. 2

被授权人：兰州大学图书馆

关于学位论文向"CALIS 高校学位论文全文数据库"授权的说明

随着网络和计算机技术的发展，近几年来在国际范围内进行着一种大学范围内的学术资源共建、共享运动,目的是促进学术团体内学术资源的交流和使用。

"CALIS 高校学位论文全文数据库"是教育部支持的高等教育文献保障体系（CALIS）的一个学位论文共建共享项目。目的是为中国高校范围内的读者通过网络利用博硕士学位论文信息提供途径和保障。参加 CALIS 学位论文库建设的成员单位（约百所大学）之间可免费检索浏览获得授权的论文全文。在获得作者授权方面，"CALIS 高校学位论文全文数据库"采用作者自愿的原则，作者是否授权完全由自己决定。

作者授权给"CALIS 学位论文全文数据库"后享有的权益有：1)提高学位论文的使用率，在更广的范围内被检索浏览，提高论文的影响力；2)授权在"CALIS 学位论文全文数据库"发布论文全文的作者，可长期免费检索浏览该库收录的论文全文；3)对检索浏览率高的论文推荐出版社正式出版。

访问地址：http://etd.calis.edu.cn

第一部分 前言

随着金矿的大规模开采，易浸的金矿资源日渐枯竭，难处理金矿将成为今后黄金工业的主要资源。据统计，目前世界黄金总产量的 1/3 左右(Liu, 1997; Zhou, 1999; 1998; Xu, Xiao et al., 1996; Ke, 1998; Wang et al., 2001)是产自难处理金矿，这一比例今后必将进一步增高。在我国已探明的黄金储量中，有 30 %（Olson et al., 2003）为难处理金矿。对于难处理金矿，直接氰化提金得不到满意的金浸出率，往往要借助各种氧化预处理手段，打开包裹金，消除有害杂质，再采用传统的氰化法提金(Brewis, 1996; Ubalsini et al., 1998)。目前采用的预处理手段有：焙烧法、加压氧化法、化学氧化法等，但存在金回收率低、投资大、污染大、环保控制费用高等缺点。因此，在富矿、易处理矿资源日渐减少、环保要求不断提高、现代工业和科技发展对金属的需求与日俱增的条件下，无污染的微生物氧化技术比较引人注目。

1.1 难处理金矿的现状

1.1.1 难处理金矿的种类

所谓难处理金矿是指在正常磨矿情况下，采用传统的氰化法直接提金得不到满意的浸出率的矿石和精矿，也有人称之为难选冶金矿或难浸金矿。根据其难处理的原因不同，可以分为以下三大类（Liu, 1997; Huang, 1992）：

（1）包裹型金矿 该类金矿石中，金以相当细的粒度包裹于毒砂、黄铁矿、砷黄铁矿、黄铜矿、磁黄铁矿、方铅矿、闪锌矿等硫化矿中，从而阻止了金与氰化物的有效接触，妨碍了金的浸出。该类金矿物粒度非常细小，很难用细磨或超细磨的办法使金颗粒暴露出来。这类金矿通常采用常规氰化法直接氰化，提取率低于 40%，属于极难处理金矿。

（2）含碳物质型金矿 该类金矿中含有一定数量的有机碳及无机碳，提取金时，除了金转入溶液的氰化过程外，还存在溶液中的金氰络合物被碳物质吸附而产生的“劫金作用”，使得已被浸出的金重新回到浸渣中，影响金的浸出。这是因为碳物质的比表面积较大，对金银的氰化络合物具有较强的吸附活性。此外有些碳物质也可能与金形成一种稳定的难溶络合物。含碳物质的吸附能力在程度上有差别，有的含碳矿石具有很高的吸附能力，而有的吸附活性相对较弱，因

而对氰化影响相对较小。

（3）复杂多金属共生型金矿 许多金矿常与铜、锌、锑、汞、碲等硫化矿物及其氧化矿物共生，这些复杂多金属共生矿难以经济地分选出单一精矿。在氰化时，共生金属矿物多不稳定，矿石中的硫化物和有害杂质（通常大量存在）会与氰化物、氧或碱反应，消耗大量的氰化物、氧、碱，反应生成的氰化产物进入溶液后又往往降低金的溶解速度；矿石中的金属硫化物与金接触时会导致金阳极溶解而钝化，对于这类矿石需要将导电性的硫化矿变成非导电性的氧化矿，有些金属矿物如碲化金、黑铋金矿等在还原焙烧时形成的含金化合物等在氰化物溶液中溶解很慢，甚至不溶；矿石中存在的氧化铁、锑、铅等化合物会在金粒表面形成保护膜，妨碍金的浸出。

通常适合用细菌氧化预处理的金矿主要是第一大类，最常见的就是砷黄铁矿、黄铁矿型金矿。

1.1.2 难处理金矿难处理的原因(Li, 2003)

概括起来，可以归纳为以下几点：(1) 包裹 物理的机械包裹、化学的晶体固熔体和化学覆盖膜，从而造成氰化物不能与金矿物接触；(2) 耗氰耗氧物质的存在 砷、铜、锑、铁、锰、镍、钴等金属硫化物和氧化物在溶液中有较高的溶解度，并且大量消耗溶液中的氰化物和溶解氧；(3)劫金物的存在 如碳质物、粘土等劫金物在浸取金时可吸附金的络合物，金被“劫持”；(4) 导电矿物的存在 金与碲、铋、锑等导电矿物形成的某些化合物，使金的阴极溶解被钝化。因此，在浸出之前一般都需要进行预处理。

1.1.3 难处理金矿预处理的方法

对于难处理金矿，通常需要在氰化工序前进行氧化预处理，打开包裹金以及消除有害杂质对后续提金的影响。目前应用及研究最普遍的预处理方法主要有焙烧法、加压氧化法、化学氧化法和细菌氧化法。

1.1.3.1 焙烧法（Zhou, 1999）

通常在温度600～900℃下进行空气焙烧或富氧焙烧，使包裹金的硫化矿物分解为多孔的氧化物而使金暴露出来。现在多用鼓泡型和快速循环型两种沸腾焙烧炉设备。焙烧法是最早应用的预处理方法，现已成为常规成熟工艺，世界上很多国家均有这类工厂。

近年又开发了“加盐固硫”焙烧法。有加钠盐(碳酸钠) 和加钙盐(氧化钙或氢

氧化钙) 两种方法。矿石与盐一起混合均匀(或制成球团) 后焙烧, 硫及砷转化为硫酸盐、砷酸盐固定于焙砂中, 避免了环境污染, 氰化效果也好, 钙盐焙烧法更有前途。美国矿物局率先对此进行过研究。

该工艺对加热参数和矿石成分十分敏感，一旦偏离最佳条件，导致矿石透气性降低，使金暴露不完全。该法对环境污染严重，SO_2和As_2O_3严重污染环境。各国对环保条件进行了严格的立法，促使对现有的氧化方法进行技术改造，如采用循环沸腾炉，高温静电除尘或采用高效洗涤设备等，这样增加了生产成本。但还是不能克服锑等有害杂质对后续浸出的严重影响，越来越多的焙烧厂停产或采用其他低污染的氧化工艺。

1.1.3.2 加压氧化法

加压氧化法是在高温、有氧条件下加压浸出, 将硫化物氧化为硫酸盐而使金解离,以便下步浸出。依介质不同, 又分为下列2种方法（Fraser et al., 1991）。

（1）酸性加压氧化法

通常在温度180～210℃和总压力1～312MPa、氧分压350～700kPa条件下操作。设备采用出耐酸砖作衬里或衬铅的多室碳素钢制卧式高压釜，在1～3h内可使硫化物基本达到完全氧化。目前认为, 酸性加压法是氧化难处理金矿石最好的方法, 因对有害元素(如锑、铅)不敏感, 各种矿石和精矿都可以适用, 金回收率较高, 不向空气中排放二氧化硫或砷, 其主要问题是投资大和生产成本高。在美国和加拿大采用此法的工厂较多, 在巴西、希腊、巴布亚新几内亚等地也有应用。

（2）碱性加压氧化法

一般在温度100～200℃、pH =7～8和较高的压力(总压力>3MPa)条件下操作, 产出主要由Fe_2O_3组成的残渣, 硫和砷则以硫酸盐和砷酸盐形式完全溶解。该法的优点是氧化温度低和高压釜腐蚀轻，问题是试剂费用高及含砷渣不好处置。该法已被美国的Mercur 金矿选厂和Getchell 选厂采用, 矿石为硫化物及碳质物混合物。

目前，加压氧化法是当今世界金矿技术发展的一个里程碑。它似乎是氧化难处理金矿的最佳方法。它不需要严格控制有关的工艺参数，不污染环境，氧化后的产物很适于氰化并能取得较高回收率，但该法设备投资大，设备材质要求高，使用和维护十分不方便，且设备腐蚀严重。这与我国和许多发展中国家当前的经济技术实力差距很大。

1.1.3.3 化学氧化法 (Qiu, 1997)

化学氧化法也称水溶液氧化法,是一种在常压下利用强的氧化剂来氧化含金矿石的预处理方法,主要是用于含碳质物和非典型的黄铁矿金矿石。这类矿石难处理的原因主要是由于碳质物的吸附造成的，其次是由于金在黄铁矿和砷黄铁矿中呈微细粒浸染所致。但这些方法的流程较长，工艺复杂，生产上难以管理和控制。

表1-1 难处理金矿生物预氧化处理工厂一览表(Brierley, 1991; Nicol, 2001)

Table.1-1 Factory of bacterial pre-oxidation of refractory gold concentrate (Brierley, 1991; Nicol, 2001)

厂矿名称	国家	原料性质	工艺	规模（t/d）	投产时间
Faiview	南非	精矿	BIOX®	55	1988
Sao Bento	巴西	精矿	BIOX®	150	1990
Harbour Lights	澳大利亚	精矿	BIOX®	40	1991已关闭
Youanmi	澳大利亚	精矿	BacTech	60	已关闭
Wiluna	澳大利亚	精矿	BIOX®	158	1993
Ashanti	加纳	精矿	BIOX®	960	1994
Nemont-Carlin	美国内华达	原矿块矿	Newmont	10000	1995
Tamboraque	秘鲁	精矿	BIOX®	60	1998
Beaconsfield	澳大利亚	精矿		60	1998
Amantaytan	乌兹别克	精矿		＞100	2000
Olypias	希腊	精矿		＞200	2000
Fosterville	澳大利亚	精矿		120	2000
烟台黄金冶炼	中国烟台	精矿	BIOX®	80	2000.09
山东大承金业	中国莱州	精矿	BacTech	100	2001.05
锦丰金矿	中国贞丰	精矿	BIOX®		20007.03

1.1.3.4 微生物氧化法(Pares M Y, 1964)

细菌氧化是利用氧化亚铁硫杆菌、耐热细菌和硫化裂片菌等微生物在酸性条件下,将包裹金的黄铁矿、砷黄铁矿等有害成分氧化成硫酸盐、碱式硫酸盐或砷酸盐，达到暴露金的目的。微生物氧化法具有污染程度小，成本低，浸出指标高等特点，越来越受到人们的重视。目前，全世界许多研究机构都在积级开发微生物氧化难浸金矿的方法。表1-1所列为世界上主要已投产的难处理金矿生物预氧化工厂。

1.1.4 难处理金矿预处理主要方法比较

与氧化条件剧烈的预处理方法如焙烧和加压氧化法不同，细菌氧化可以利用不同性质矿物的氧化速率差异达到选择性氧化（Mehta and Murr, 1983; Norman

and Snyman, 1988)，在黄铁矿-毒砂型金矿细菌氧化中，毒砂总是被优先氧化。细菌氧化的这种选择性使得只要部分氧化硫化矿物就可以达到相当高的金回收率。细菌还选择性地吸附在硫化矿物的晶界、位错区及某些活性中心区，对矿物进行分解，这些部位往往是次显微金以及晶格金富集的地方。细菌氧化的选择性大大减少了矿石中需要氧化的硫量，缩短了细菌氧化的停留时间，节省了搅拌和充气的能量（Taxiarchou et al., 1994）。表1-2对不同预处理方法进行了比较。

表1-2 不同氧化预处理方法的比较（Spencer, 1991; Haines, 1986）

Table1-2 Comparision of different oxidation pretreatment（Spencer, 1991; Haines, 1986）

项目	微生物氧化法	加压氧化法	焙烧法
硫化物选择性氧化	是	不是	不是
操作温度	30-80℃	180-220℃	550-880℃
操作介质	酸性	酸性或碱性	固体
基建费用	较低	高	高
生产能耗	低	中	高
工艺成熟度	无完全成熟	完全成熟	完全成熟
工业应用比例	20%	40%	40%
操作要求	低	高	中
金的回收率	高	高	较高
工艺副产品	无	无	硫酸、白砒
环境污染	无	无	大气污染
安全与保健	低浓度的毒性化合物	操作危险，低浓度毒性化合物	高浓度砷化合物和二氧化碳

1.2 微生物湿法冶金中常见浸矿微生物的种类及其应用

表 1-3 生物冶金中常用微生物 (Johnson, 1998)

Table1-3 The usual microorganisms used in the bioleaching process(Johnson, 1998)

微生物类型	实例（简写）	最佳温度/℃	最佳 pH
常温菌	*Acidithiobacillus ferrooxidans(At.f)*	28-30	2.0-2.5
	Acidithiobacillus thiooxidans(At.t)	28-30	2.0-2.5
	Leptospirillum ferrooxidans(L.f)	25-30	2.5-3.0
中度嗜热菌	*Sulfobacillus thermosulfidooxidans(S.t)*	50	1.65-1.9
	Sulfobacillus acidophilus(S.a)	50	1.65-1.9
	Acidmicrobium ferrooxidans(A.f)	45-50	1.65-2.0
	Thiobacillus Caldus(T.c)	40-45	1.7-2.0
极度嗜热菌	*Acidianus brierleyi(A.b)*	70	1.5-2.0
	Sulfolobus acidocaldarius(S.a)	70	2.0-3.0
	Metallosphaera sedula(M.s)	70-75	2.0-3.0

1.2.1 浸矿微生物的种类

生物冶金中的微生物按其耐温性的高低可分为常温菌（*Mesophiles*）、中度嗜

热菌（*Moderate Thermophiles*）和极度嗜热菌（*Extreme Thermophiles*）。这些细菌大多数是从矿堆或矿坑污水中分离得到的，它们分属于自养的硫杆菌属，硫叶菌属和一些异养的细菌。表 1-3 列出了生物冶金中常用的微生物类型及其最佳温度、pH 值范围。

1.2.2 浸矿微生物的应用

在浸矿工业中应用最广泛的还是氧化亚铁硫杆菌（*Thiobacillus ferrooxidans*）(现更名为 *Acidithiobacillus ferrooxidans, At.f*)，氧化亚铁硫杆菌被认为是酸性环境中的主导菌种。*At.f* 菌多分布于土壤（Chen et al., 1982）、矿泥（Tong, 1997）、酸性矿水（Shen, 2000）及其他含硫丰富的地方。早在 20 世纪 70 年代，D.L.Nelson，O.H.Tuovinen，D.P.Kelly，A.J.Lewis，J.D.A..Miller，L.E.Murr 等人研究指出：*At.f* 菌的主要代谢过程是氧化 Fe^{2+}为 Fe^{3+}获得能量，还可氧化硫化矿物、元素硫及可溶性硫化合物，如硫代硫酸盐等，并对溶液中的 Cu^{2+}、Ca^{2+}、Mg^{2+}、Fe^{3+}、Ag^{+}、Au^{+}等金属离子具有一定的耐受性，同时能固定 CO_2 进行生长。这类细菌的形状呈圆端短柄状，长 1.0~1.5μm，两端级生鞭毛，能运动（Nelson et al., 1972; Tuovinen et al., 1973; Kelly et al., 1997; Lewis et al., 1977）。氧化亚铁硫杆菌氧化 Fe^{2+}为 Fe^{3+}的速度比在同样条件下空气中的氧的纯化学氧化速度快 2×10^5 倍，比氧化黄铁矿的速度快 1000 倍，氧化其他硫化物的速度可加快数十到数百倍（Lacey, et al., 1970），而 Fe^{3+}盐正是湿法冶金中常用的氧化剂。因此，在湿法冶金工业中常用氧化亚铁硫杆菌在常温酸性溶液中吹入空气的条件下，浸出硫化矿石，使不溶金属硫化物转变为可溶性硫酸盐以达到浸出的目的（Jiang et al., 1997）。

1.3 氧化亚铁硫杆菌浸矿机理研究

关于细菌浸出机理的研究报道很多，但是关于硫化矿的细菌浸出，主要包括直接作用，间接作用以及间接—接触间接—直接复合作用理论（Yi et al., 2006）。一般认为，直接作用和间接作用同时存在于细菌浸矿的过程中，有时以直接作用为主，有时以间接作用为主。

1.3.1 直接作用

细菌浸矿的直接作用一般指细菌吸附于矿物表面，通过细胞特有的酶系来氧化金属硫化物使其溶解。研究表明，细菌在其紧固器、菌毛或矿物表面粘着力的作用下，附着在硫化矿物表面的硫相区域并通过细菌内的铁氧化酶和硫氧化酶的

酶解作用直接酶解氧化硫化矿物，将不溶性的硫化物转化为可溶性的硫酸盐或单质硫（Eq1-1, Eq1-2），从而细菌获得生长繁殖所需的能量。直接作用机理可示意如下(图 1-1) （Rohwerder, 2003）：

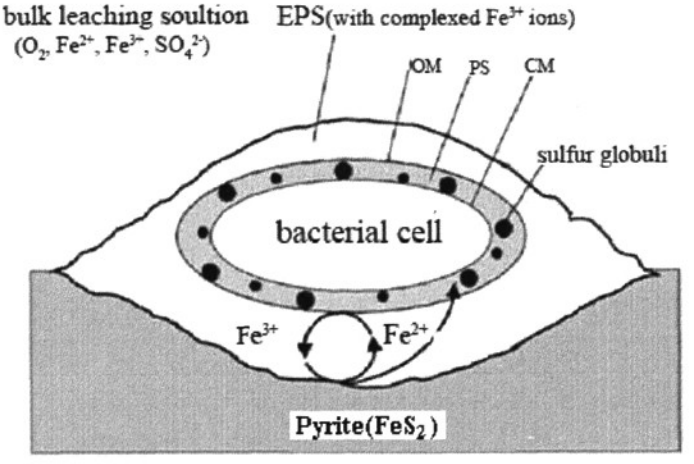


图 1-1 直接作用机理示意图

Fig1-1 Model chart of *At.f* direct mechanism for sulfid oxidation

EPS：胞外多糖层 OM：外膜；PS：周质空间；CM：细胞质膜

$$MeS + 2O_2 \xrightarrow{细菌} Me^{2+} + SO_4^{2-} \qquad (1\text{-}1)$$

$$MeS + 2H^+ + 0.5O_2 \xrightarrow{细菌} Me^{2+} + H_2O + S \qquad (1\text{-}2)$$

要说明细菌浸矿的直接作用，首先应证明细菌在矿物表面的吸附。Escobar、Jedlicki 等人应用放射学(Escoba et al.,1996)，Poglazova、Mitskevich 等运用光谱荧光分析（Poglazova et al.,1996）Bennett、Karan 等人应用 C14 蛋白质固定等不同方法，首先研究 *At.f* 菌在矿物表面上的吸附及吸附特征。Barrett、Femandez 等人应用荧光显微镜和高效液相色谱通过测定溶液中及吸附于矿物表面上 *At.f* 菌的数量以说明细菌在浸矿中的作用（Femandez and Mustin, 1995）。Jerez、Arrendodo 采用免疫荧光分析技术等生物化学方法研究了不同菌株在矿物表面上的作用(Jerez and Arrendondo, 1991)，证实了 *At.f* 菌在矿物表面的吸附。众多研究工作者均发现细菌吸附的矿物颗粒表面具有凹痕，Hansford 和 Drossou 研究认为凹痕尺寸与细菌大致相同，进一步验证了细菌的直接作用。

近年来，随着人们对矿物的结构与性质及其溶解的电化学机理方面所取得的

研究进展，细菌浸出的直接作用机制受到质疑，直接作用有一个环节很难解释，即从硫化物表面到细菌细胞内部的电子传输过程中是谁作为首端电子受体，把电子从硫化物表面跨越硫化物与细胞壁的界面把电子传到细胞内。最初曾假定是种酶，但时至今日，一直未能发现这种酶。所以 W. Sand 等认为'确凿证据表明，直接作用机理并不存在'（Sand et al.,1999）。所以，关于细菌的直接作用还有待进一步探讨（Sand et al., 2001）。

1.3.2 间接作用

在多金属的硫化矿床中，通常含有黄铁矿，黄铁矿在自然条件下被缓慢氧化生成硫酸亚铁和硫酸，在有细菌的条件下，细菌将亚铁氧化为三价铁（Eq1-3），硫氧化为硫酸，其中的三价铁是一种很有效的矿物氧化剂和浸出剂，多种硫化矿物都可被硫酸铁浸出（Eq1-4），氧化反应被三价铁催化快速进行。根据金属硫化物的种类不同，间接作用机理的途径也不一样，一种途径是建立在 Fe^{3+} 专门对酸不溶性金属硫化物的氧化侵袭基础上的，它的中间硫化物主要是硫代硫酸盐。另一种途径考虑了用质子或者 Fe^{3+} 对酸溶性金属硫化物进行侵袭而发生分解，在这种情况下，中间硫化物主要是多硫化物（伴随着硫元素）。可示意如下(图 1-2) (Schippers and Sand 1999; Schippers et al., 1996)：

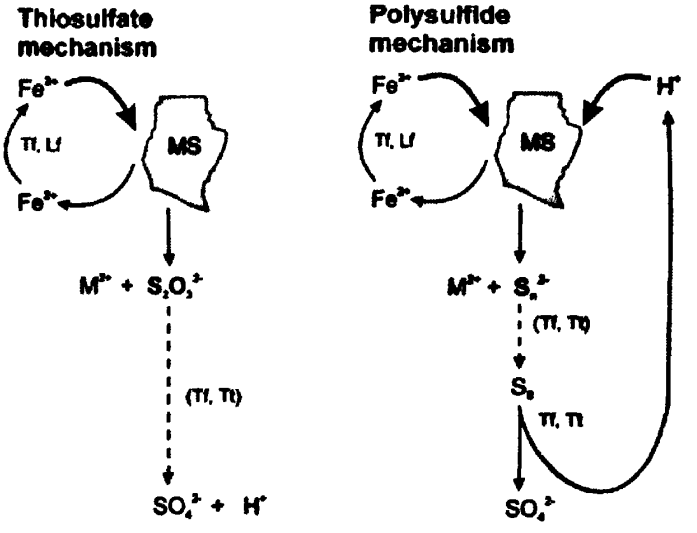


图 1-2 间接作用机理示意图

Fig1-2 Model chart of *At.f* indirect mechanism for sulfid oxidation

$$2Fe^{2+} + 0.5O_2 + 2H^+ \xrightarrow{\text{细菌}} 2Fe^{3+} + H_2O \qquad (1\text{-}3)$$

$$MeS + 2Fe^{3+} \longrightarrow Me^{2+} + 2Fe^{2+} + S^0 \qquad (1\text{-}4)$$

A.Schipper 等的试验表明氧化亚铁硫杆菌与氧化亚铁微螺菌氧化黄铁矿的能力大致相当，而氧化硫硫杆菌氧化黄铁矿的速率级低(Schipper and Sand, 1997)。注意到氧化亚铁微螺菌是一种只能氧化 Fe（II）的细菌，而氧化亚铁硫杆菌则既能氧化还原态硫也能氧化 Fe（II），氧化硫硫杆菌不能氧化 Fe（II）。则可以看出 Fe^{3+}在黄铁矿氧化中的重要作用。该事实支持黄铁矿氧化是间接作用这一观点。

在一个具体矿物的生物浸出过程中，由于细菌的种类及硫化矿物本身性质的差异，直接作用和间接作用的比重往往不同。

Pistaccio(Pistaccio et al., 1994)等用 *At.f* 浸出辉钼矿（MoS_2）时指出，由于辉钼矿的疏水性及 MoO_4^{2-}对细菌生长的抑制作用使得辉钼矿的浸出效果较低，但在浸出体系中加入表面活性剂 Tween- 80 以后，辉钼矿表面吸附的细菌数增多，矿物浸出速度加快，从而直接说明不溶性矿物的生物浸出需要细菌在矿物表面的直接吸附，从而证明了微生物浸矿的直接作用；Gormely（Gormely et al., 1975）等研究了 *At.f* 在连续反应器中对硫化锌精矿的浸出，认为由于浸矿体系中不含间接作用所必需的氧化剂 Fe^{3+}，所以可以排除间接作用的影响。Fowler（Fowler et al., 1999）等研究用 *At.f* 浸出硫化锌矿时，通过电化学的方法控制浸出体系中 Fe^{3+}/Fe^{2+} 比例恒定，其他条件不变的情况下通过接入与不接入细菌来考察锌的浸出速度，结果发现，两种条件下的锌浸出速度完全相同。

1.3.3 间接—接触间接—直接复合作用（Yi et al., 2006）

除上述两种作用机制外，还有人认为细菌浸出是细菌间接作用、接触间接作用和直接作用三者共同作用的结果(见图 1-3)，有时以间接、接触间接作用为主，有时以直接作用为主，两种作用的贡献都不可排除。这种复合作用表现为附着菌和游离菌共同作用使硫化矿物发生溶解，其实质是指细菌的直接作用和间接作用同时存在的情况。在许多情况下，人们认为直接作用和间接作用同时并存，只是依据所浸矿石的种类和性质及操作条件的不同，有时以直接作用为主，有时又以间接作用为主。Pogliani(Pogligani et al., 1999)等研究硫化铜矿物的生物浸出时，通过在培养基中加铁或不加铁、半透膜包裹和不包裹矿样、接种或不接种细菌几种条件进行交叉浸铜实验，最终结果表明细菌的直接作用和间接作用同时存在，而且都起着重要作用。在 ZnS、NiS、CuS 等硫化矿浸出的时候，当用 Fe^{3+}浸出，溶液电位保持不变并且溶液中 Fe^{3+}浓度较高时，有菌与无菌的速率相当。这类硫

化矿的浸出被认为是细菌的间接作用为主（Zhang and Fang, 2005）。

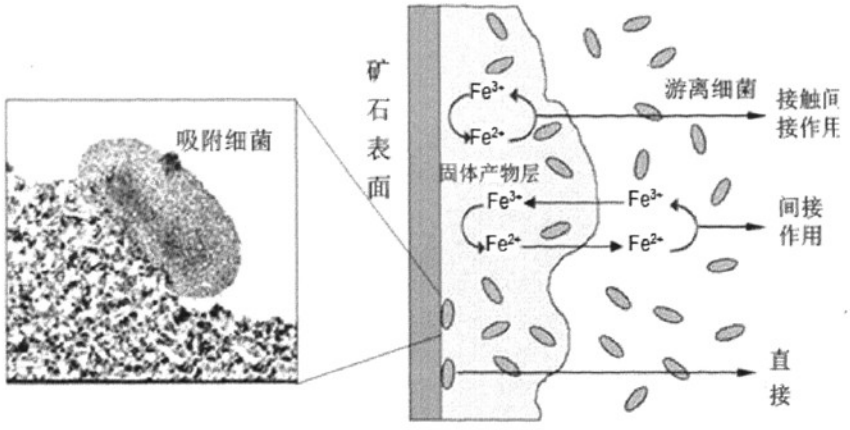


图 1-3 间接—接触间接—直接复合作用示意图

Fig1-3 Schematic diagram of　indirect - contact indirect - direct mechanism

1.4 难处理金矿细菌氧化预处理工艺

细菌浸矿工艺多种多样，根据菌液与矿石接触方式不同，大致可分为两大类：细菌堆浸和搅拌浸出（Casas et al., 1998）。细菌堆浸是指通过重力和压力作用使菌液通过矿石堆的一种浸出方法。最典型的渗滤浸出就是细菌堆浸(Brierley, 1997)。细菌堆浸已广泛应用于低品位铜矿、铀矿的细菌浸出，在难处理金矿预处理中也已得到了应用。对于堆浸而言，它具有工艺简单、投资少、成本较低的特点。但是由于堆浸温度过低，通常浸矿周期达数月，甚至数年（Rawlings et al., 2003; Watling, 2006）。用于搅拌浸出的物料一般粒度非常细，并且浸出是在比较低的浓度条件下进行，这是因为在高浓度的矿浆中，微生物对于剪切效应更为敏感，容易出现细胞损伤，从而细菌生长状况不佳。然而搅拌的作用使被浸矿石与细菌浸矿剂充分混合，矿浆吸入更多的空气，从而使含有固、液、气的三相紊动系统充分接触，为细菌生长提供充足的氧气和二氧化碳，提高传质和浸出速率。相对于细菌堆浸来说，搅拌浸出的生产成本高（需要搅拌、加热、冷却及通气设备、耐酸的反应罐等），因此，它只适合于用来处理那些单位价格高的矿种，比如金矿。自从 1986 年南非建成世界上第一个利 BIOX®槽浸工艺的细菌氧化预处理提金工厂 Fairview 开始(Dew et al.,1997)，难浸金矿的细菌氧化预处理技术由于其能耗低、环境好和成本低等优点，逐渐发展应用到非洲、澳大利亚、南非等地

区，并形成了 BIOX®、BacTech、MINBAC 和 Geobiotics 四大工艺(Rawlings et al., 2003; Morin et al., 2006)

1.5 浸矿用反应器

难处理金精矿等高品位硫化矿生氧化浸出的工业应用中，高效反应器的构建是提高生产效率的关键。然而，国外发表的生物浸矿的论文中，有关反应器的论文不足 6%，国内几乎还没有这方面的论文发表(Fang, 2002)。目前难处理金精矿的生物浸出处理中，由于菌种的局限性，常温菌的反应温度最高为 40～45℃，中温菌的反应温度也仅为 50～60℃，要使硫化矿达到必要的氧化率（65%～95%），一般需要 4～7 天，而其他湿法冶金奇数仅需数小时；另一方面，生物浸出时矿浆浓度也仅限于 20%以下，造成设备的单位处理能力较低。因此，高品位硫化矿生物浸出技术欲在投产和生产成本上与其他湿法冶金方法相比而取得竞争优势，迫切需要解决过程工程问题，开发出高效生物浸出反应器，缩短浸出周期，提高矿浆浓度，降低生产成本(Hayward et al., 1997)。

迄今为止，有关微生物冶金生物反应器的研究较少，一般实验室中应用最多的还是三角瓶，其次是柱式反应器及带或不带搅拌装置的槽式反应器，工业生产中常用带或不带搅拌装置的反应器，其工作容积一般在数百立方米左右，搅拌可以通过机械或空气达到。目前最常用的反应器有搅拌槽式反应器（STR）和气升式反应器（ALR），此外还有泡沫柱式反应器（BCR）、巴秋卡槽、低能耗反应器、转筒式生物反应器等针对生物浸出过程设计的新型反应器(Shekhar and Evans,1989; Neuburg et al., 1991)。

1.5.1 机械搅拌槽式反应器（STR）

机械搅拌槽式反应器是一种从化工过程套用的反应器。其螺旋桨起了最重要的作用，至少要求其实现三大任务：固体颗粒的悬浮、空气与水相的混合和溶入水相、增大气相和水相的界面。在这些反应器中最初较普遍采用透平式螺旋桨，近来则使用曲型桨叶的轴向流动螺旋桨，因为达到同样搅拌水平时后者所需动力较低，产生的剪切力较小。

世界上第一台细菌浸出设备（用于费尔尤金矿选厂）有四个串联配置的机械搅拌槽组成，日处理精矿 15t。加拿大制造的圆柱形浸出装置体积为 225m^3，容器内有互成直角的四块隔板，隔板固定蛇管。新研制的带有旋转膜式扩散结构的浸出反应器已获美国专利。这种反应器能强化矿浆充气，保证气体在反应器中均

匀分布，且所产生的气泡直径不大于 4.5mm。同时反应器附有内部过滤装置，用于连续排出产物和代谢产物。

搅拌槽式反应器虽然有长期的使用经验，但亦存在着一些明显的缺点，比如功率消耗大，加工困难，投资高，维修麻烦，搅拌剪切力大，对细胞生长损伤大，大型化后混合不均匀，传热面积不足，传质效率下降等。

1.5.2 气升式反应器（ALR）

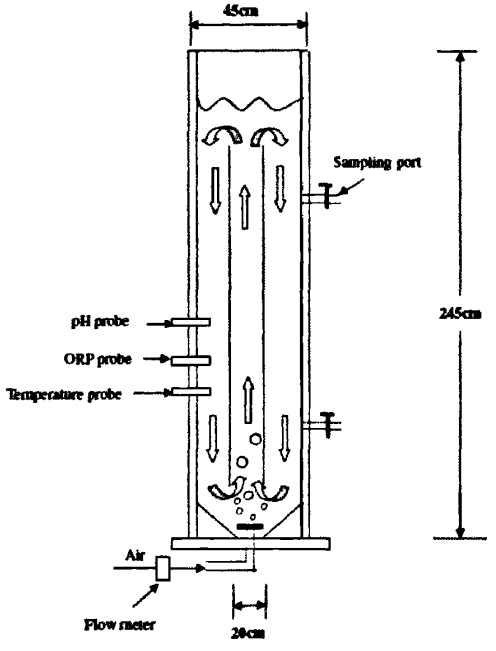


图 1-4 气升式反应器浸出硫化矿（Fang and Zhou, 2007）

Fig 1-4 Experimental set-up for the leaching of sulfide in airlift reactor (Fang and Zhou, 2007)

气升式反应器原理：通过流体（气体、液体）的上升运动使固体颗粒维持在悬浮状态进行反应。反应器升流区气体、液体和悬浮的固体颗粒一起向上运动，在降流区，液相及固体颗粒向下流到反应器底部，升、降流区不同的气相含率产生的压差迫使降流区液相和固体颗粒流入升流区，由此形成反应器内气、液、固三相的循环流动，产生流态化效果，达到紊流状态(Giaveno et al., 2005)。Fang（Fang and Zhou, 2007)用 *At. t* TS6 和 *Brettanomyces B65* 混合菌在单级气升式反应器（图 1-4）浸出活性污泥中的铬，维持反应温度为 30℃，用 3 天的时间，浸出率就超过 95%。但是气升式反应器的构造成本太大，并且处理量小。因此 Mousavi S M. (Mousavi et al., 2006) 建立了一种如图 1-5 的生物浸出工艺，用于

浸出闪锌矿。具体的工艺流程为：通过水浴槽维持 *At.f* 的生长温度为 28℃，然后通过恒流泵将细菌培养液从贮存器里输入矿物填料柱中，在填料柱中浸出液和气体互相逆流，填料塔采用绝缘材料，防止矿物产生的热散失从浸矿柱中流出的，溶液再通过重力的作用，重新流入贮存器里。如此循环。在 28℃下，浸出 120d，锌的浸出率达到 72%。相对于气升式反应器，该工艺虽然增加了浸出周期，可是减少了矿物搅拌的成本消耗。但是由于没有对浸矿柱进行适当搅拌，当浸出液自上而下流过浸矿柱的时候，容易形成沟壑，限制了矿物与浸出液的充分接触，降低了浸出率。

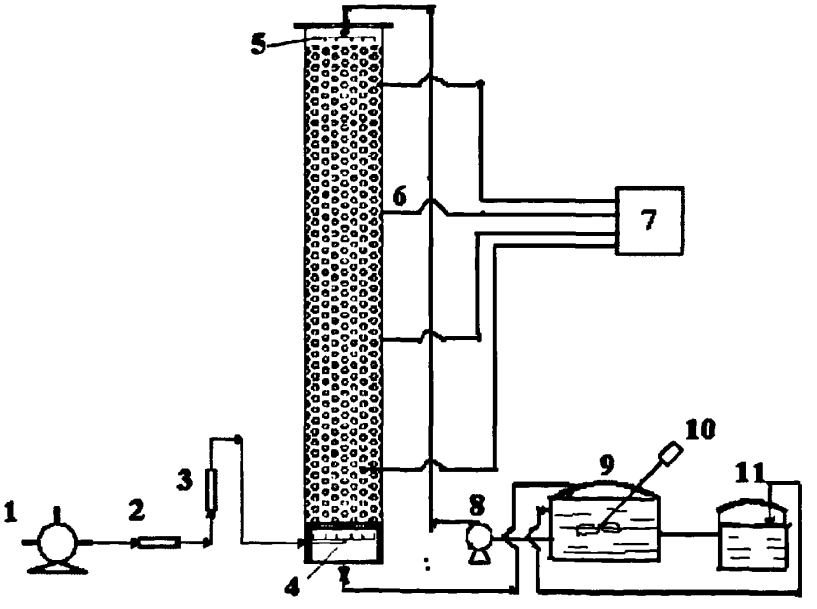


图 1-5 生物氧化-化学渗滤偶联装置浸出硫化矿(Mousavi, 2006)

1-压缩空气，2-过滤器，3-气体流量计，4-空气散布器，5-液体分布器，6-温度传感器，7-温度分析仪，8-蠕动泵，9-混合器，10-搅拌器，11-贮存器

Fig 1-5 Schematic set-up for the coupling of biooxidation and chemical leaking

1-air compressor, 2-air filter, 3-gas flow meter, 4-air sparger, 5-liquid distributor, 6-temperature sensor, 7-temperature analyzer, 8-peristatic pump, 9-water bath, 10-mixer, 11-feed vessel (Mousavi, 2006)

1.6 立题依据

随着金矿的大规模开采，易浸的金矿资源日渐枯竭，难处理、低品位金矿将成为今后黄金工业的主要资源。但在细菌氧化预处理低品位、难处理金矿的

研究领域中我国还没有形成成熟的工艺技术。目前生物冶金研究领域中从细菌改良等菌种角度提高单菌氧化能力难有明显效果，需从优化细菌生长条件等角度提高整体细菌氧化能力。高品位硫化矿生物浸出工业应用的生物反应器普遍存在剪切力大、细菌磨损严重等缺点，因此，生物浸出技术欲在投资和生产成本上与其他湿法冶金方法相比而取得竞争优势，迫切需要解决过程工程问题，开发具有柔和搅拌条件、高效的生物浸出反应器，缩短浸出周期，降低生产成本。

但是最近出现的一些新型工艺只实现单一的机械搅拌，或者只是在生物氧化和生物浸矿的分开（图 1-5），并没有对生物浸出采取强化措施，例如提高温度。因为对于大多数金属硫化物来说，温度每提高 10℃，浸出速率提高 1 倍（Kinnunen et al., 2006; Kohr et al., 2000）,即升高温度促进矿石氧化(Rawlings et al., 2003)。因此，为了缩短浸矿时间，提高浸矿速率，高温浸出具有一定的潜力。但是高温菌的应用还受到许多限制，这种限制主要归因与一下几个方面：第一，高温菌很难分离；第二，为了维持中高温菌生存而需要的高温会抑制 O_2 和 CO_2 的传递，因而降低了所处理的矿浆浓度（Kohr et al.,2000; Kohr et al.,1997）；第三，由于高温菌主要生存在温泉等高温环境中，很难适应有大量重金属离子存在的环境，故其在生物浸出过程的应用有所限制(Clark and Norris, 1996)，而栖居在硫化矿山中的 *At.f* 受到了普遍的应用。但是 *At.f* 只能在 40℃以下，限制了 *At.f* 高温浸矿的可行性。根据温度对 Fe^{3+}浸出硫化矿的促进作用和生物浸出矿物的间接作用机理而提出了有效分离的间接生物浸出新工艺，即将传统的矿物生物浸出过程分为细菌生长、Fe^{2+}的细菌氧化的生物反应过程和细菌氧化产物与矿物间的高温化学反应过程，旨在建立一种经济、高效、较具有普遍性的矿物浸出新工艺。

第二部分 氧化亚铁硫杆菌筛选及生长特性的研究和难浸金矿浸出机理的初步分析

用于矿物细菌浸出的主要微生物都是化能自养微生物，生长缓慢，这是浸出速率低的主要原因。此外，硫化矿生物浸出系统中各种微生物之间以及微生物与环境之间的相互作用和相互关系，也对硫化矿的浸出有显著的影响，.因此要针对矿石性质和浸矿环境选择不同菌种，并对菌种的生长特性进行研究，找出最适生长条件，以达到高效浸出的目的。

关于硫化矿细菌浸出机理，过去不少人研究过并相继提出了若干观点（Boon and Heijnen, 1999; Hansford and Vargas,1993）。比较流行的是细菌的间接作用与直接作用两种机制，但一直存在着争议。本文初步分析了难浸金矿浸出机理。从而为硫化难浸金矿的细菌浸出技术的工业应用提供实验数据。

1 材料

1.1 菌株

7 株氧化亚铁硫杆菌（*Acidithiobacillus ferrooxidans*，简称 *At.f* 菌）：模式菌株（ATCC23270 和 19859），BY3、DX2、DBS、CMS、YP，采自全国各地矿区的酸性矿坑水（AMD）。

1.2 培养基

氧化亚铁硫杆菌的培养基采用的是 9K 液体培养基，培养基由 A 和 B 两部分组成（1000ml 组分）：

A 液：KCl 0.1g，$(NH_4)_2SO_4$ 3.0g，K_2HPO_4 0.5g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g，$Ca(NO_3)_2$ 0.01g；蒸馏水 700ml，pH1.8，121℃灭菌 15min

B 液：$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 44.7g；蒸馏水 300ml，pH1.8，用孔径为 0.22μm 的微孔滤膜过滤除菌

所有化学药品均为分析纯，用 H_2SO_4 调节溶液 pH；$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 不能高温高压灭菌，需要单独溶解通过除菌滤膜灭菌，将 A 液和 B 液混合后可得 9K 液体培养基 1000ml。

1.3 矿样

依据矿样采集原则，结合矿区实际情况，采得的矿石经过粗磨，中磨后混

合均匀备用。按照缩分取样的原则，取部分代表性好的矿样磨细后，用高氯酸，氢氟酸和硝酸进行硝化溶解，然后进行矿样成分分析。主要元素成分含量的测定是使用美国热电仪器系统公司的电感耦合等离子体原子发射光谱仪，通过ICP-AES法进行分析。矿样的化学成分分析见表2-1。

表2-1 甘南金矿样化学成分

Table 2-1 Chemical analysis of the gold ore in Gannan

成分	As	Au	Fe	S	Cu	Ca
含量(%)	12.58	11.68($g.t^{-1}$)	2.34	8.4	0.0023	4.098
成分	Mg	Zn	Al	Pb	K	SiO_2
含量(%)	0.052	0.0103	0.17	0.032	0.021	41.19

S和SiO2的测定见附录1和附录2

2 实验方法

2.1 氧化亚铁硫杆菌活性的测定

本实验用亚铁离子氧化速率来表示氧化亚铁硫杆菌的活性。

取对数期的菌液300ml，测定溶液中的Fe^{2+}浓度后，根据测定的Fe^{2+}浓度值，补加$FeSO_4 \cdot 7H_2O$至Fe^{2+}浓度达10-15g/l范围内，再准确测定Fe^{2+}浓度，这时的Fe^{2+}浓度即为C_0，置于30℃的摇床培养6小时，再测定溶液中的Fe^{2+}浓度即为C_t，细菌活性用以下公式计算：$A=(C_0-C_t)/6$

式中：A—细菌活性（g/L·h）；C_0—起始Fe^{2+}浓度（g/L）；C_t—最终Fe^{2+}浓度（g/L）

2.2 亚铁浓度测定

Fe^{2+}浓度用重铬酸钾法测定(Wang, 2002)，As、Au采用电感耦合-等离子体发射光谱法（ICP-AES）分析。

重铬酸钾法具体方法：取待测液1ml，加入适当的蒸馏水进行稀释，再加入混合酸（硫酸：磷酸：水=15：15：70）2.5ml，滴加2滴0.2%二苯胺磺酸钠，用0.009mol/L重铬酸钾滴定，待溶液呈稳定的紫色时记录重铬酸钾消耗量，从标准曲线中计算出Fe^{2+}浓度。分别用含0、1、2、3、4、5、6、7、8、10mg/mlFe^{2+}的溶液取代待测液，以重铬酸钾消耗量为横坐标，以Fe^{2+}浓度为纵坐标制作标准曲线。

2.3 矿石驯化培养

由于矿石中含有许多有害的离子，抑制细菌的生长，因此通过驯化手段可增强*At.f*菌对矿石的适应性，驯化过程如下：*At.f*菌液5ml，9K培养基45ml，粒

径不大于-74μm 难处理金矿粉 0.5g 置于 100ml 锥形瓶中，放入摇床中，保持温度 30℃，摇床转速为 180r/min，开始培养，待驯化菌株的 Fe^{2+}氧化速率于未经过驯化的菌株的[Fe^{2+}]氧化速率相等时，可以认为驯化成功。。

2.4 菌种选择实验

对驯化好的 7 株 *At.f* 菌种进行筛选，筛选出浸出铁，铜和砷效果最好的菌株。具体方案为：驯化好的菌株在其对数增长期接种于 pH=1.8 的 9K 培养液中，接种量按 10%v/v，矿粉的浓度为 5%，放入摇床，温度 30℃，转速 170～180r/min，pH 控制在 1.8 左右，时间 10 天，10 天后计算重要元素铁、铜、砷的浸出情况。根据结果选出最佳菌株。

2.5. pH 对氧化亚铁硫杆菌活性的影响

于500ml烧杯中配制9K培养基300ml（不调节pH）。取90ml分装于5个50 ml干净的三角瓶中，每瓶18 ml，依次调节pH至2.5、2.0、1.75、1.5、1.0，加入2ml对数期的菌液于三角瓶中，测定溶液中Fe^{2+}的含量，每组三个平行。然后置于30℃的摇床中，每隔6小时测定一次Fe^{2+}的含量。以Fe^{2+}的氧化速率来反应氧化亚铁硫杆菌活性。

2.6 初始 pH 对培养基 pH 的影响

培养基配制同上，然后置于30℃的摇床中，每隔6小时测定一次溶液的pH值。

2.7 接种量对氧化亚铁硫杆菌活性的影响

于500ml烧杯中配制pH=1.75的9K培养基300ml，取5个灭过菌的50ml三角瓶，每瓶分别加入12ml、16ml、18ml、19ml、19.9ml培养基，分别接种8、4、2、1、0.1ml氧化好的培养液，使接种量分别为40%、20%、10%、5%、0.5%，每组三个平行。测定Fe^{2+}的含量，然后置于30℃的摇床中，每隔6小时测定一次Fe^{2+}的含量。

2.8 温度对氧化亚铁硫杆菌活性的影响

于500ml烧杯中配制pH=1.75的9K培养基300ml，取90ml分装于5个50 ml干净的三角瓶中，每瓶18 ml，接种量为10%，测此时Fe^{2+}的含量，然后分别置于20℃、25℃、30℃、35℃、40℃的摇床内培养6h，再测Fe^{2+}的含量。

2.9 BY3 菌浸出难浸金矿机理的初步分析

2.9.1 Fe^{3+}浸出

在250ml锥形瓶中加入100ml Fe^{3+}浓度为10g/L的$Fe_2(SO_4)_3$溶液，加入200

目用酸预处理且灭菌的难浸金矿粉末5g，矿浆浓度为5%，pH1.8，摇瓶浸出，每天检测溶液的pH，并用H_2SO_4调节pH值为1.8，浸出3天后测溶液中的Cu、Au离子浓度，计算浸出率。

2.9.2 稀 H_2SO_4 浸出

在250ml锥形瓶中加入100ml，pH1.8的稀硫酸溶液，加入200目的用酸预处理过的难浸金矿粉末5g，矿浆浓度为5%，摇瓶浸出，每天检测溶液的pH，并用H_2SO_4调节pH值为1.8，浸出3天后测溶液中的Cu、Au离子浓度，计算浸出率。

2.9.3 细菌浸出

在250ml锥形瓶中加入100ml pH 1.8的9K液体培养基，接入10ml对数期的BY3驯化菌株，加入200目的用酸预处理过的难浸金矿粉末5g，矿浆浓度为5%，摇瓶浸出，每天检测溶液的pH，并用H_2SO_4调节pH值为1.8，浸出3天后测溶液中的Cu、Au离子浓度，计算浸出率。

3 结果与分析

3.1 菌种选择

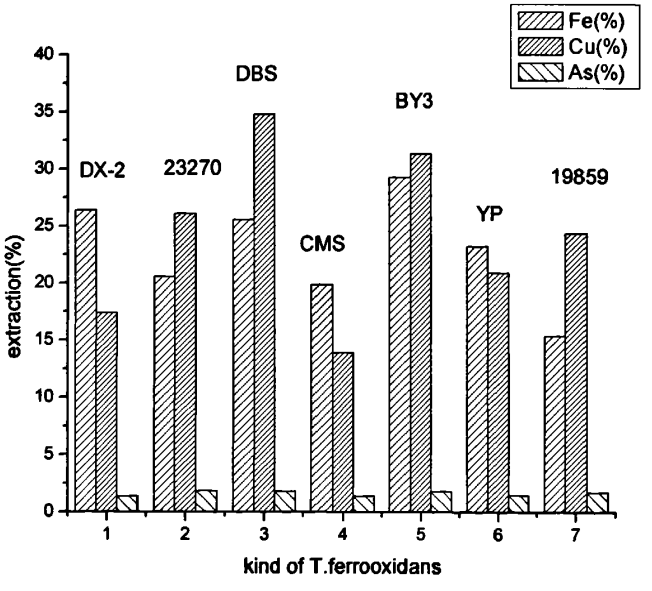


图 2-1 甘南金矿的菌种选择实验

Fig2-1 The selection of bacterial for Gannan gold ore

结论：BY3 菌和 DX-2 菌对甘南矿样铁的作用效果最好，DBS 菌对甘南矿样的铜作用效果最好，BY3 菌其次，综上结果，实验选择 BY3 菌来氧化甘南矿。

3.2 pH 对 *At.f* 活性的影响

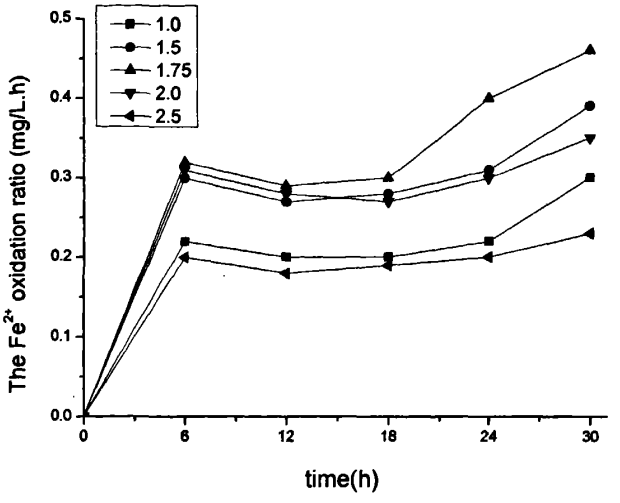


图2-2 pH对氧化亚铁硫杆菌活性的影响

Fig 2-2 The effect of pH variety on *At.f* activity

由图2-2中可以看出：Fe^{2+}的氧化速率先升高然后降低，接着又慢慢上升达到最大值，这是由于培养液pH值先升高再下降，最后趋于稳定，从而影响菌的活性，但不难看出该菌生长的最适pH为1.5-2.0。同时可以看出该菌极耐低酸，在pH1.0时，该菌仍能生长。与pH2.5相比，在pH1.0时该菌生长的更好，说明该菌生长的低pH是必需的。这可能与该菌在生长过程中需要消耗H^+用来氧化Fe^{2+}提供能量有关。其反应方程为：

$$4H^+ + 4\,Fe^{2+} + O_2 \text{——} 4\,Fe^{3+} + 2\,H_2O$$

3.3 初始 pH 对培养基 pH 的影响

由图2-3可以看出：培养基的pH在培养初期均有不同程度的升高。这主要是因为该菌在生长过程中需要消耗H^+来氧化Fe^{2+}。但当培养基pH到达一定程度后，培养基的pH又开始下降，稳定在一定pH范围内。这是由于培养基中存在着一个动态平衡过程。一方面氧化亚铁硫杆菌消耗H^+来氧化Fe^2提供能量有关。其反应方程如下：

$$4H^+ + 4\,Fe^{2+} + O2 \text{——} 4\,Fe^{3+} + 2\,H_2O$$

导致溶液pH值上升。氧化亚铁硫杆菌在菌体内每生成1molATP所需的能量为37.2-66.9KJ，产生1molATP需消耗2mol或更多的Fe^{2+}。为了获得足够多的能量来

维持正常生长，细菌必须迅速氧化大量的Fe^{2+}，同时亦消耗大量的H^+，这可能是氧化亚铁硫杆菌嗜酸和生长过程中导致溶液pH值上升的原因之一。另一方，溶液中又存在着Fe^{3+}的水解过程，其反应为：

$$Fe^{3+} + 3OH^- = Fe(OH)_3$$

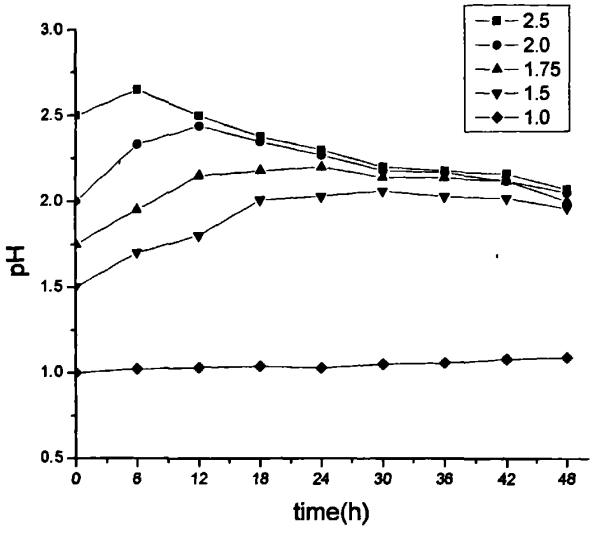


图2-3 初始pH对培养基pH的影响

Fig2-3 The effect of initial pH variety on pH of culture medium

当溶液中pH值上升到一定程度和Fe^{3+}的浓度上高均会促进$Fe(OH)_3$的生成，从而导致溶液pH值下降。两方面共同作用的结果使溶液pH值稳定在一定范围之内。其平衡pH范围大约在2.0～2.3之间。

3.4 接种量对 *At.f* 活性的影响

由图2-4中可以看出：随着接种量的加大，氧化全部的Fe^{2+}时间变短，延滞期缩短，然而，随着接种量的增加，菌数有减少的趋势，这是由于该菌好氧，接种量多会导致培养基溶氧量减少的结果（Sun et al., 2000）。通过综合考虑，最终选择10%的接种量。

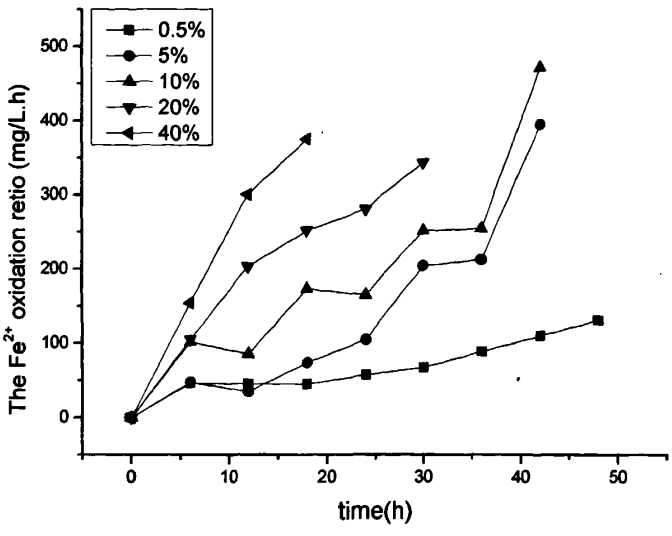


图2-4 接种量对氧化亚铁硫杆菌活性的影响

Fig2-4 The effect of inculation volume on *At.f* activity

3.5 温度对 *At.f* 活性的影响

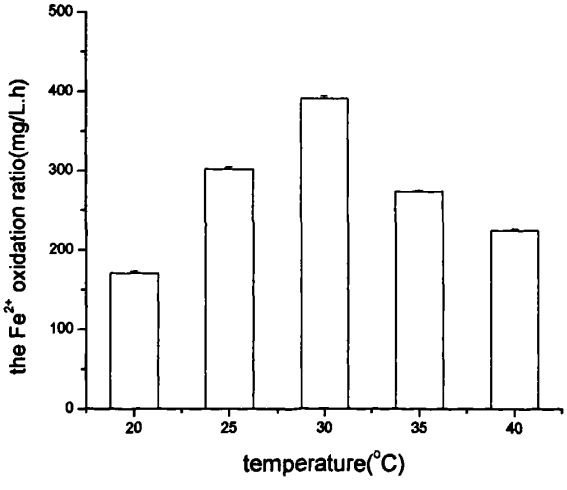


图2-5 温度对氧化亚铁硫杆菌活性的影响

Fig2-5 The effect of temperature on *At.f* activity

由图2-5可知:在30℃条件下，*At.f*菌氧化活性最高，氧化速率达到390.48mg/l·h，而在20℃和25℃条件下，氧化速率分别为170.36 mg/l·h，301.62

mg/l·h，随着温度的降低，氧化速率降低。在35℃和40℃条件下，氧化速率分别为273.41 mg/l·h，224.85 mg/l·h.随着温度升高，氧化速率也降低。

3.6 BY3 菌浸矿分析

分别采用Fe^{3+}（间接作用）、稀H_2SO_4和BY3菌（复合作用）浸出3天后，各自的浸出率如表2-1。可以看出，复合浸出的效果好于Fe^{3+}（间接作用）、稀H_2SO_4的浸出，然而，前一章已提到，复合作用实质是指细菌的直接作用和间接作用同时存在的情况，所以可得出在浸出过程中存在细菌的直接作用，但Fe^{3+}的间接氧化在浸出过程中起主要作用。

表2-2 浸出3天后不同浸出类型浸出率的比较

Table 2-2 The comparison of rates of Cu and Au with different leached after 3 days

浸出类型	Fe^{3+}浸出	稀H_2SO_4浸出	BY3菌浸出
3天Cu的浸出率（%）	3.49	1.73	5.56
3天Au的浸出率（%）	4.79	0.68	6.95

4 结论

实验选择BY3菌来氧化浸出甘南难处理金矿，通过对BY3菌生长特性的研究得出：pH对其生命活动具有重要的影响。不同的微生物对pH条件要求各不相同，他们只能在一定的pH范围内生长。这个pH范围有宽，也有窄，而其生长最适pH常限于一个较窄的pH范围内。BY3菌最适pH为1.8左右，在pH1.0时，生长状况良好，可见该菌极耐低酸。该菌最适温度为30℃，为中温菌。接种量对BY3菌活性的影响，随着接种量的加大，氧化全部Fe^{2+}时间变短，延滞期缩短， 然而，随着接种量的增加，菌数有减少的趋势，这是由于该菌好氧，接种量多会导致培养基溶氧量减少的结果。通过综合考虑，最终选择10%的接种量。另外，通过对BY3菌浸矿机理的初步分析，得出在难处理金矿的浸出过程中Fe^{3+}的间接氧化起主要作用。

第三部分 生物-化学两级反应器的设计及 *At.f* 在该反应器中浸出甘南金矿

在生物冶金工业应用高效反应器的设计中，良好的氧传质速率、有效而柔和的混合是生物氧化浸矿反应器最重要的性能要求，此外还要求较低的停留时间和较低的单位能耗，最近出现的一些新型工艺只实现单一的机械搅拌，或者只是在生物氧化和生物浸矿的分开，并没有对生物浸出采取强化措施，例如提高温度。

为了缩短浸出周期，并且降低成本，本部分利用了实验室设计的一种生物-化学两级循环反应器（Yang, 2008）。它既利用高温浸出的化学作用，又利用中温微生物 *At.f* 进行生物浸出，有效克服了单级反应器的不足，大大提高了矿石浸出的效率。用该反应器进行了固定化 *At.f* 和游离 *At.f* 浸出甘南金矿比较的实验。

已建立的一些*At.f*的固定化技术，试图通过固定化氧化亚铁硫杆菌的生长得率，提高氧化亚铁的速度。如用离子交换树脂和活性炭（Grishin and Tuovinen, 1988）、聚亚安酯泡沫（Armentia and Webb, 1992）等载体吸附固定*At.f*，然而这些载体对细菌的吸附力弱，吸附不够牢固，长期运行会导致菌体流失严重，稳定性下降。针对以上所述固定化技术的不足，本课题研究并建立了用聚乙烯醇（PVA）包埋固定*At.f*的方法（Wang et al., 2006）。

1 材料和方法

1.1 实验矿样

采自甘肃坪定低品位金矿区，主要所含矿物雄黄、雌黄和黄铁矿，脉石矿物以石英为主，属高砷型（Li, 2003）。

1.2 仪器

PHBJ2260 型便携式酸度计(上海雷磁科学仪器厂)；

HYG2 II 型回转式恒温调速摇瓶柜(上海欣蕊自动化设备有限公司)；

自制生物-化学循环反应器；

Xpert M PD 型 X 射线衍射仪；

IRIS Advantage ER/S 电感耦合-等离子体原子发射光谱仪（ICP-AES）。

1.3 *At.f* 的固定化

1.3.1 细胞的培养及收集

将*At.f*分别接种(10%接种量)到3份装有9K培养基的的1000ml三角瓶中，调节pH为1.8，30℃下回转式恒温调速摇瓶柜培养2-3d，将培养液4000r/min离心5min，弃去沉淀，之后10000r/min离心15min，收集细胞，用蒸馏水溶解细胞，收集细胞悬液。

1.3.2 细胞的固定化（Wang et al., 2006）

称量PVA27g，放入200ml的去离子水中沸水浴加热溶解，并室温下密封存放24h后，加入细胞悬液100ml，最终混合液中PVA9.0%(W/V)，细胞浓度1.5×10^9个/ml，将该混合凝胶倒入平托盘中，置-20℃的冰箱保存1~2d，其间，约冷冻12h后，-1℃~3℃温度范围内解冻风干一次，最后室温解冻，备用。

1.4 生物-化学两级循环反应器设计

1）生物-化学两级循环反应器的结构（Yang, 2008）

整个装置由带有水浴夹套的生物反应器和化学反应器串联组成。如图3-1，生物反应器和化学反应器的内管规格均为: 50 cm ×4. 0 cm，在这个装置中气泵一方面起到通入空气的作用，另一方面起到搅拌的作用。

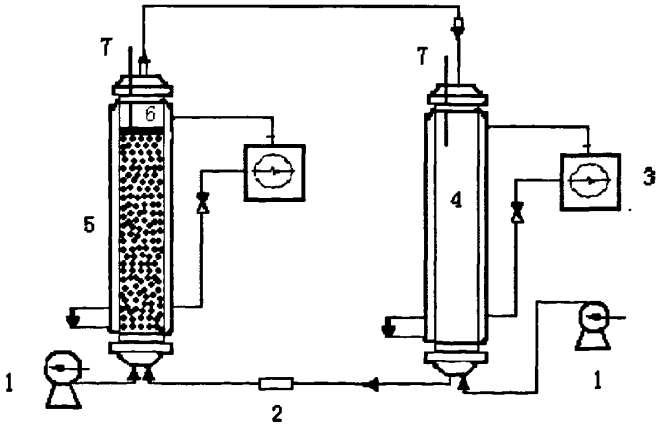


图 3-1 生物-化学循环反应器试验装置简图

1-气泵　2- 恒流泵 3- 恒温水浴锅 4- 生物反应器 5- 化学反应器

6- 过滤器　7- 温度计

Fig 3-1 Schematic of continuous bio-chemical system used in this study.

1-air pump; 2- peristaltic pump; 3-constant temperature water tank; 4-biological reactor; 5-chemical reactor;6- filter;7-thermometer.

2）生物-化学循环反应器装置的运行

实验过程中气流流速恒定为4000ml/min；生物反应器温度恒定为30℃，化学反应器的温度可以调节。在生物反应器中，通过细菌的作用不断的将Fe^{2+}氧化为Fe^{3+}，然后通过恒流泵的作用生物反应器中含有大量Fe^{3+}的培养液进入化学反应器中，流速为0.2ml/min；在化学反应器中，矿石与Fe^{3+}反应，Fe^{3+}又被还原生成了Fe^{2+}，含有Fe^{2+}的浸出液通过过滤器再流入生物反应器中，从而使反应连续进行。由于整个循环反应过程中，浸出液的流速很慢，所以即使从生物反应器到化学反应器，会流走一小部分菌体，但由于生物反应器中温度和营养成分适宜菌体的生长繁殖，所以生物反应器中始终会保持大量的菌体。且从化学反应器中流出的浸出液到达生物反应器时采用自然冷却法冷却液体温度到35℃。

1.5 *At.f* 在生物-化学两级反应器中浸出甘南金矿

1.5.1 游离 *At.f* 浸出甘南金矿

用9K培养基培养*At.f*菌，当95%[Fe^{2+}]被氧化时，收集细菌氧化培养液。开始浸出实验，生物反应器中的培养液体积为300ml，T=30℃；化学反应器的培养液体积也为300ml，T=50℃，并添加15g甘南金矿，初始pH=1.8。按照图3-1，开始连续浸出。

1.5.2 固定化 *At.f* 浸出甘南金矿

在生物反应器中添加100ml（有效体积）的固定化细胞，生物反应器的有效体积为300ml，T=30℃；化学反应器中的酸性硫酸铁溶液为300ml，T=50℃，并添加15g甘南金矿，初始pH=1.8。按照图3-1，开始连续浸出。

1.6 游离 *At.f* 和固定化 *At.f* 催化生成的沉淀和 XRD 分析

分别接种游离*At.f* 10ml（细胞浓度2×10^8个/ml）和活化培养一段时间的固定化*At.f* 20 ml于含有100ml9K培养基的三角瓶中，调节pH值为1.8，30℃下回转式恒温调速摇瓶柜培养至Fe^{2+}氧化完全，用滤纸过滤所得沉淀，20%硫酸冲洗两次，然后再用蒸馏水冲洗两次，风干。X射线衍射图由Xpert M PD型X射线衍射仪(Philips)在管电压为40KV，管电流为60MA，扫描区间为5°-70°的条件下进行测定（Yang et al., 2006）。

2 结果与分析

2.1 固定化 *At.f* 和游离 *At.f* 浸出甘南金矿的比较

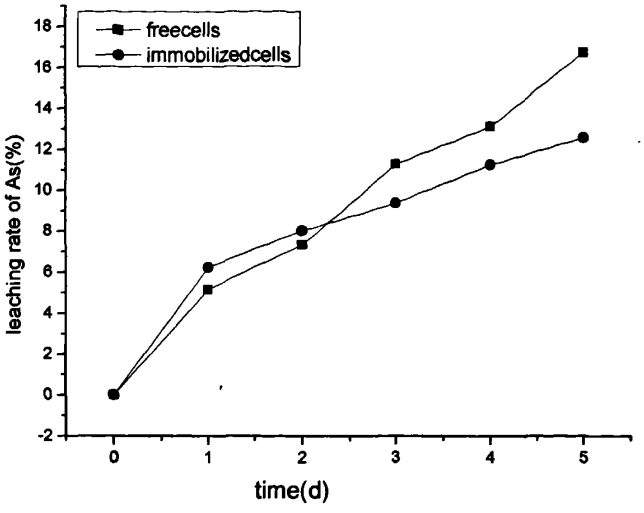


图 3-2 固定化 *At.f* 和游离 *At.f* 浸出甘南金矿比较

Fig 3-2 leaching rate of gold with immobilized and free *At.f*

由图3-2可以看出，固定化细胞不但没有提高难处理金矿的浸出率，反而降低了浸出率。这主要是由于固定化颗粒导致在整个反应体系产生了大量的黄铁矾沉淀，黄铁矾沉淀不仅会减少作为氧化剂的Fe^{3+}，而且可能限制氧化剂与矿物的接触，阻碍产物和氧气的扩散传递（Jensen and Webb, 1995; Daoud, 2006）。在用游离*At.f*和其他载体固定化*At.f*时，也存在着产生黄铁矾沉淀类似的现象（Lancy and Tuovinen, 1984; Long，2004），但由于固定化颗粒丰富的表面积为黄铁矾（$MFe_3(SO_4)_2(OH)_6$，其中M可能为K^+，Na^+，H_3O^+，NH_4^+等一价阳离子）的形成提供了足够的生长基点（Dutrizac, 1996），故用固定化细胞时，产生的沉淀相对更多。

2.2 游离 *At.f* 和固定化 *At.f* 产生黄铁矾沉淀的差异性研究

2.2.1 X 射线鉴定两种形态的细胞产生的沉淀

根据 X 射线衍射图谱的分析数据（图 3-3），游离 *At.f* 产生的沉淀为 $H_3OFe_3(SO_4)_2(OH)_6$，而固定化 *At.f* 产生的沉淀为 $NH_4Fe_3(SO_4)_2(OH)_6$（图 3-4）。这种差异可能主要是由固定化载体的丰富表面积（Dai, 1994），或者固定化对细菌生长代谢产生了一定的作用。为了进一步分析这种差异性，本文研究了黄铁矾的形成机制。

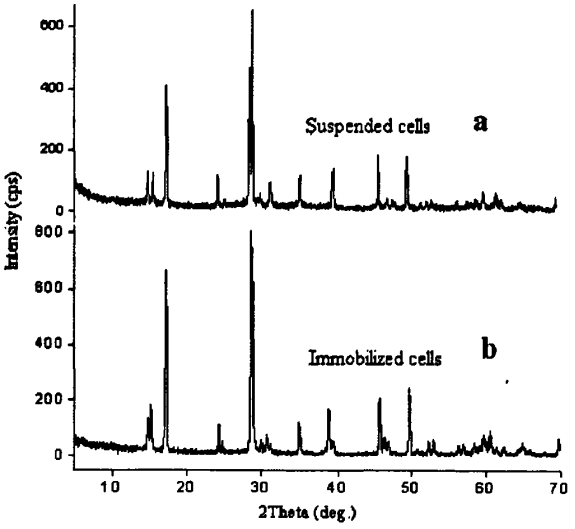


图 3-3 游离 *At.f* 和固定化 *At.f* 产生的黄铁矾沉的 X 射线衍射图谱

Fig 3-3 XRD pattern of the precipitates formed by immobilized and free *At.f*

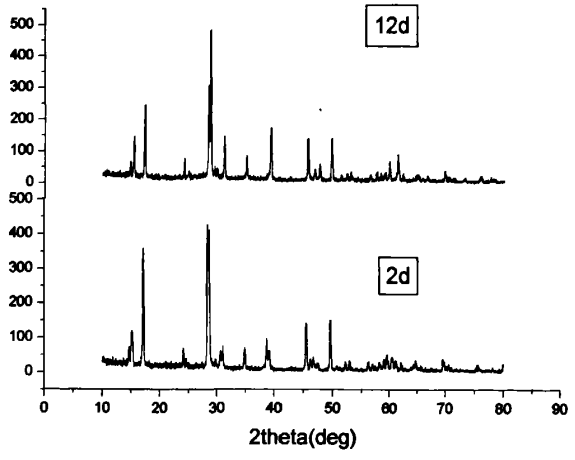


图 3-4 不同培养时间对黄铁矾沉淀的影响

Fig 3-4 XRD pattern of precipitates formed by free *At.f* with different time

2.2.2 黄铁矾形成机制研究

黄铁矾生成是嗜酸性浸矿菌培养过程中的典型现象，Jiang（Jiang, 2006）报道黄铁矾的形成机制为：

$$FeSO_4^+ + H_2O \rightarrow Fe(OH)SO_4 + H^+ \qquad (3\text{-}1)$$

$$2\,FeSO_4^+ + 4H_2O \rightarrow [Fe(OH)_2]_2SO_4 + 4H^+ + SO_4^{2-} \qquad (3\text{-}2)$$

$$2Fe(OH)SO_4 + 2H_2O \rightarrow [Fe(OH)_2]_2SO_4 + 2H^+ + SO_4^{2-} \quad (3\text{-}3)$$

$$3[Fe(OH)_2]_2SO_4 + 2M^+ + SO_4^{2-} \rightarrow 2M[Fe(OH)_2]_3(SO_4)_2 \quad (3\text{-}4)$$

为了进一步分析游离*At.f*和固定化*At.f*产生的黄铁矾沉淀的差异，在pH=1.8和$[Fe^{2+}]$=9g/L下，在游离*At.f*培养体系中，研究了不同培养时间对黄铁矾沉淀形成的影响。经X射线衍射鉴定（图3-4），培养2天后，所得沉淀主要为$H_3OFe_3(SO_4)_2(OH)_6$，而培养12d后，所得沉淀的组成为51%$H_3OFe_3(SO_4)_2(OH)_6$和49%$KFe_3(SO_4)_2(OH)_6$。根据这些资料，可以推断黄铁矾的形成机制为，首先形成$H_3OFe_3(SO_4)_2(OH)_6$，然后其他阳离子会取代黄铁矾中的H_3O^+，并形成相应的产物，具体的反应过程可以通过以下三个化学方程式表示：

$$[Fe(OH)_2]_2SO_4 + 2H_3O^+ + SO_4^{2-} \rightarrow 2H_3O[Fe(OH)_2]_3(SO_4)_2 \quad (3\text{-}5)$$

$$H_3O[Fe(OH)_2]_3(SO_4)_2 + M^+ \longrightarrow (H_3O^+, M^+)[Fe(OH)_2]_3(SO_4)_2 \quad (3\text{-}6)$$

$$(H_3O^+, M^+)[Fe(OH)_2]_3(SO_4)_2 \longrightarrow M[Fe(OH)_2]_3(SO_4)_2 + H_3O^+ \quad (3\text{-}7)$$

而对于固定化细胞来说，其丰富的比表面积加速了黄铵铁矾和黄钾铁矾的形成速率，而且由于$[NH_4^+]$比$[K^+]$大一个数量级，所以最终形成了$NH_4Fe_3(SO_4)_2(OH)_6$。

因为固定化细胞可以增加细菌浓度，提高Fe^{2+}的形成速率，如果能够降低生成黄铁矾沉淀所带来的负面影响，固定化*At.f*可能会受到普遍的应用。杨晓娟等（2006）通过改变培养条件试图减少固定化氧化亚铁硫杆菌在浸矿过程中产生的黄铁矾沉淀，但效果不是很好，所以将固定化*At.f*用于硫化矿浸出还是受到一定的限制，因此，本试验用游离*At.f*来处理甘南金矿。

3 结论

反应器——生物-化学两级循环反应器的主要特点是：第一，可以分别对化学反应过程和生物反应过程进行强化，以便提高高砷难处理金的浸出率；第二，利用生物反应器中的*At.f*可以不断地产生Fe^{3+}。

用生物-化学两级反应器中对固定化*At.f*和游离*At.f*处理甘南金矿的结果进行比较，由于固定化细胞在浸出的过程中会产生大量的沉淀，而这些沉淀一方面会覆盖在矿物表面上，阻碍了Fe^{3+}与矿物的接触；另外，黄铁矾会减少作为氧化剂的Fe^{3+}。因此，固定化*At.f*在生化两级反应工艺中的砷浸出率低于游离*At.f*的。故本试验用游离*At.f*来处理甘南金矿，并对产生黄铁矾沉淀的机理进行了分析。

第四部分 生物-化学两级循环反应器氧化难浸金矿的浸出参数优化

为了提高难浸金矿在生物-化学两级循环反应器中的浸出率，本章培养驯化砷、银耐受性的常温菌 *At.f*，使其适应于高砷难浸金矿的氧化预处理；研究了该生物-化学两级循环反应器用于甘肃坪定高砷难浸金矿氧化预处理浸出条件的操作参数：矿物颗粒粒度、化学反应器的温度、催化剂（吐温-20，Ag^+）和Fe^{3+}的浓度的优化。用单级反应器（即生物-化学循环反应器的化学反应器）按一次一因素法对这些影响因素进行条件试验。为今后利用生物-化学两级循环反应器大规模预处理难浸金矿打下基础。

1 材料

1.1 菌种来源

经过菌种选择、矿粉驯化的氧化亚铁硫杆菌（BY3）。

1.2 培养基

采用改进的 9K 培养基：培养基由 A 和 B 两部分组成（1000ml 组分）：

A 液：$(NH_4)_2SO_4$ 3.0g，K_2HPO_4 0.5g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g，$Ca(NO_3)_2$ 0.01g；蒸馏水 700ml，pH1.8，121℃灭菌 15min

B 液：$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 44.7g；蒸馏水 300ml，pH1.8，用孔径为 0.22μm 的微孔滤膜过滤除菌

所有化学药品均为分析纯，用 H_2SO_4 调节溶液 pH；$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 不能高温高压灭菌，需要单独溶解通过除菌滤膜灭菌，将 A 液和 B 液混合后可得 9K 液体培养基 1000ml。

2 实验方法

2.1 亚铁浓度测定

Fe^{2+}的测定采用临菲啰啉法，详见附录 3；

2.2 Ag^+的驯化培养

首先在装有一定体积改进的培养基的三角瓶中加入约 2.5mg/L 的 Ag^+（以 $AgNO_3$ 形式加入），然后接入经金矿粉驯化的 *At.f* 菌进行恒温培养。开始细菌不适应，要较长时间才能生长，待细菌适应并能正常生长后，再将它在转移到含

有更高浓度 Ag^+的培养基中继续培养，依次类推，每转移一次都提高 Ag^+浓度 0.5mg/L 左右。两次转接之间的梯度不能过大，否则达不到好的效果。如此进行下去，就可以获得对该 Ag^+具有较强耐性的菌株。

2.3 单级反应器氧化难浸金矿的浸出参数优化

2.3.1 矿石粒度对生物浸出的影响

分别称取直径为-38μm、-74μm、-208μm 及 1mm 的矿石各 15g 于单级反应器的夹套柱子中（夹套温度 30℃），加入 300ml 9K 的培养液（该培养液是通过细菌的作用将 9K 中 98%的 Fe^{2+}氧化为 Fe^{3+} 的菌液），使矿浆浓度为 5%，用硫酸调节 pH 至 1.8 左右。每天调节一次 pH，并补充蒸发的水份，定时取样并测定砷的浓度。

2.3.2 温度对生物浸出的影响

称取直径为-74μm 的矿石 15g 于单级反应器的柱子中，加入 300ml 9K 的培养液（该培养液同上），柱子夹套水温分别保持在 30℃、40℃、50℃、60℃、70℃、80℃。每天调节一次 pH，并补充蒸发的水份，定时取样并测定 As 的浓度。

2.3.3 初始 Fe^{3+}的浓度对生物浸出的影响及浸出液中总铁含量的变化

称取直径为-74μm 的矿石 15g 于柱子中，加入 300ml 含 Fe^{3+} 分别为 0K、3K、6K、9K 的培养液（该培养液同上），用硫酸调节 pH 至稳定在 1.8 左右，柱子夹套水温保持在 70℃，每天调节一次 pH，并补充蒸发的水份，定时取样并测定 As 的浓度和 Fe 含量。

2.3.4 表面活性剂吐温-20 对生物浸出的影响

称取直径为-74μm 的矿石 15g 于柱子中，加入 300ml 含 Fe^{3+}为 6K 的培养液（该培养液同上），用硫酸调节 pH 至稳定在 1.8 左右，柱子夹套水温保持在 70℃，分别加入浓度为 1mg/L、30mg/L、500mg/L、1000mg/L 的吐温-20 表面活性剂作为催化剂和对照组进行比较；每天调节一次 pH，并补充蒸发的水份，定时取样并测定 As 的浓度。

2.4 Ag^+对生物浸出的影响

生物反应器和化学反应器均加入300ml含Fe^{3+}为6K的培养液（该培养液同上），T=30℃；化学反应器的培养液体积也为300ml，T=70℃，添加直径为-74μm的矿石15g，初始pH=1.8，再分别加入浓度为2.5mg/L、5mg/L、10mg/L、20mg/L

的Ag^+作为催化剂和对照组(0mg/L)进行比较，开始连续浸出。每天调节一次pH，并补充蒸发的水份，定时取样并测定砷的浓度。

2.5 游离 *At.f* 在生物-化学两级反应器中浸出难处理金矿的研究

在上述几个最适优化条件下（化学反应器 70℃，Fe^{3+}浓度为 6g/L（6K），矿石粒度-74μm，Ag^+5mg/L），为了突出 *At.f* 和高温在本工艺中的突出特点，设计了三组试验。即低温对照组：生物反应器为 30℃，化学反应器为 30℃，加菌；高温对照组：生物反应器为 30℃，化学反应器为 70℃，过滤除菌，并在反应体系添加 0.2%的麝香草酚作为抑菌剂；实验组：生物反应器为 30℃，化学反应器为 70℃，加菌。每组的初始 pH=1.8，并且收集同批培养所得的 *At.f* 氧化产物。

3 结果与分析

3.1 单级反应器中矿石粒度对生物浸出的影响

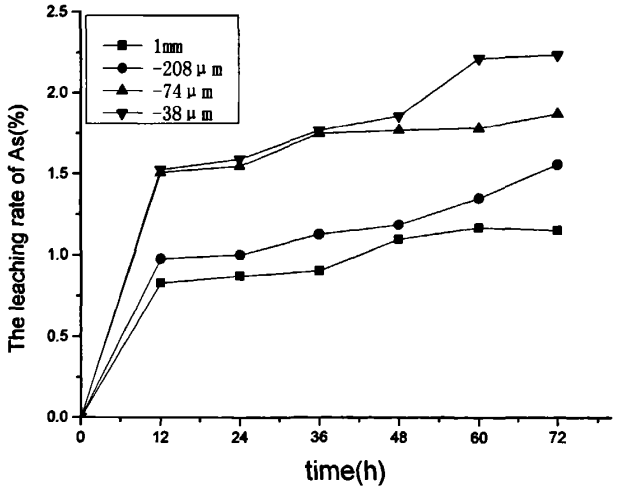


图 4-1 矿石粒度对砷浸出率的影响

Fig4-1 Effect of particles size on the leaching rate of As

由图 4-1 可以看出，随矿石粒度降低，浸出率逐渐提高，矿石粒度为直径为-74μm 和-38μm 时砷的浸出率明显高于-208μm 和 1mm 时的浸出率。表明矿石粒度越小，比表面积越大，Fe^{3+}与矿石接触越充分，浸出率越高。但过分追求小粒度，会增加碎矿成本，而且矿石泥化程度加大，造成矿堆渗透性降低，不利于浸出。所以后续实验采用直径为-74μm 的矿粉。

3.2 单级反应器中温度对生物浸出的影响

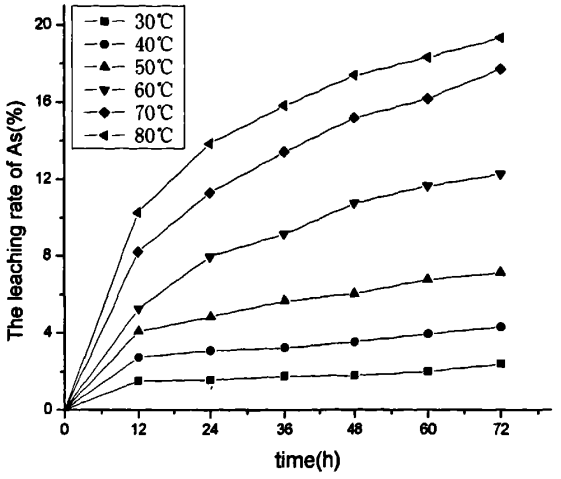


图 4-2 化学反应器温度对砷浸出率的影响

Fig4-2 Effect of temperature of chemical reacor on the leaching rate of As

由图 4-2 可以看出，30℃、40℃、50℃时，虽然砷的浸出率也有提高，但变化幅度不是很明显，砷的浸出率分别为 2.08%，3.96%，为 6.14%；但温度升至 70℃时，砷的浸出率得到了大幅度的提高达到 17.71%。当温度升高到 80℃时，虽然砷的浸出率也在提高，但和 70℃相比，提高幅度不大。由此可见，提高温度矿石溶解速度增加，但从另一方面来说，随着温度的增加，溶液含氧量降低。故应有一最大溶解速度的最佳温度，这个温度大约在 85℃（Huang, 1975）。另外温度太高会生成大量的沉淀附着在矿石表面阻止矿石的进一步氧化（Ahonen and Tuovinen, 1995），而且由于加热导致成本增加，影响生化两级循环反应器的商业应用。所以本实验选择 70℃作为最适温度对矿石进行预处理。

3.3 单级反应器中 Fe^{3+}的浓度对生物浸出的影响及浸出液中总铁含量的变化

由图 4-3 可知，随着 Fe^{3+}浓度的升高，砷的浸出率也在相应的提高。当 Fe^{3+}起始浓度为 0K 时，浸出液中总铁的量随着时间的变化先升高然后再降低，然而当 Fe^{3+}起始浓度为 3K、6K 及 9K 时，浸出液中总铁的量一直在降低，尤其为 9K 时，总铁的量由起初的 2.03g/L，经过 72h 后变为 1.535 g/L，降低了 24.38%；6K 时，降低了 20.78%；3K 时降低了 19.27%（图 4-4）。由此可见当 Fe^{3+}浓度为 9K 时，砷的浸出率最高，同时伴随着含铁沉淀的生成。从反应柱上也可看出，72h 后，9K 的柱子上生成了一层沉淀（图 4-5，经 X-ray 衍射分析表明是黄铁矾），即随着初始铁浓度的升高，矿石的氧化速率加快，然而由于黄铁矾的

生成浸出液中总铁的量在降低，而铁初始浓度为 6K 的柱子上几乎看不出什么沉淀。黄铁矾沉淀的生成一方面影响柱子热量的传递，导致反应温度降低；另一方面沉淀也会附着在矿石表面阻止矿石预处理的进一步进行。综合以上因素，选择 6K 作为矿石预处理的反应液。

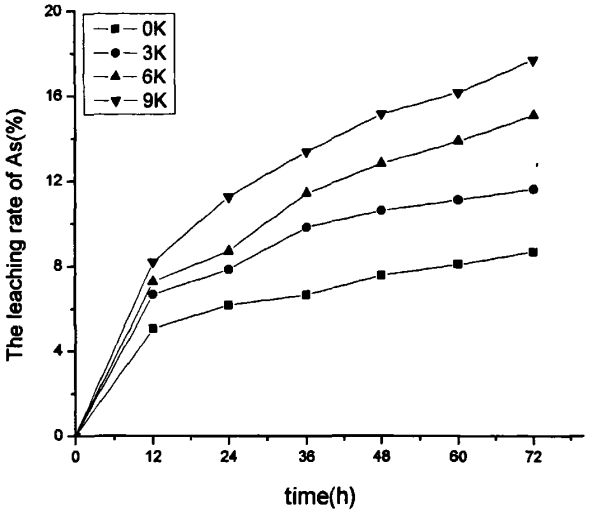


图 4-3　Fe^{3+}的浓度对砷浸出率的影响

Fig4-3 Effect of Fe^{3+} concentration on the leaching rate of As

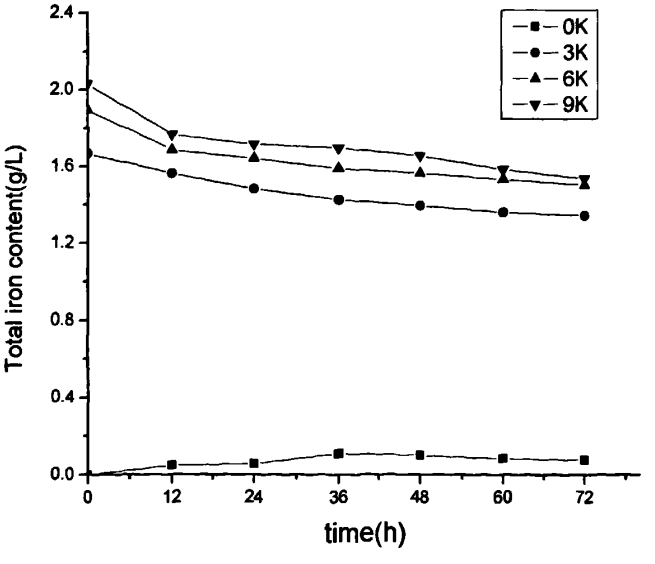


图 4-4 不同 Fe^{3+}浓度反应体系中总铁含量的变化

Fig4-4 The varieties of total iron content with different Fe^{3+} concentration

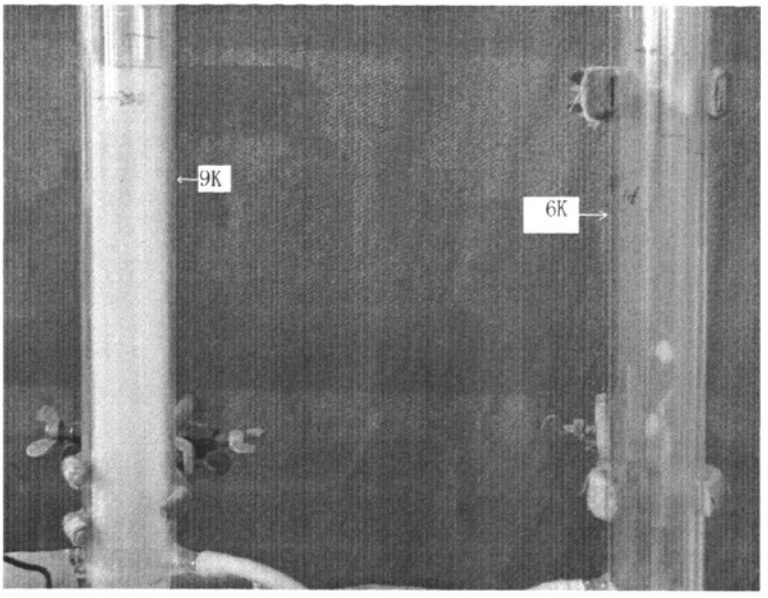


图 4-5　Fe^{3+}浓度分别为 9K 和 6K，72h 后反应器的变化

Fig4-5 The change of reactor in 72 hours in different concentreation of Fe^{3+}

3.4 表面活性剂吐温-20 对生物浸出的影响

表面活性剂可以改变矿物表面性质，增加矿物的亲水性，有利于细菌和矿物接触。邓肯等人较早地研究了活性剂对细菌浸出的影响，研究结果表明吐温-20 的效果最好。所以本论文试图通过添加吐温-20 来提高浸出率，然而由于使用的生物-化学两级循环反应器从底部通入空气，在通气的作用下，吐温-20 产生大量的气泡，使反应无法进行。

3.5 催化剂 Ag^{+}对生物浸出的影响

在细菌浸甘南金矿体系中，添加一定量的银离子，具有显著的催化效果(图 4-6)。当随着银添加量的增大，砷浸出率提高。当 Ag^{+}浓度为 5mg/L 时，为最佳浸出浓度，当 Ag^{+}浓度高于该值时，砷的浸出率开始降低，可能是因为高的 Ag^{+}浓度使细菌氧化活性受到抑制，银为重金属，可抑制细菌体内参与 Fe^{2+}氧化的有关酶的活性(Imai et al., 1975) 。一些研究者认为，银起催化作用的机理是 Ag^{+}从硫化矿的晶格中取代出 Fe^{2+}，Fe^{2+}进入溶液后在细菌的参与下氧化为 Fe^{3+}，反应过程(Deng et al.,2000)：

$$FeS_2 + 2Ag^{+} \rightarrow Ag_2S\downarrow + Fe^{2+} + S^{0} \qquad (4\text{-}1)$$

$$2Fe^{2+} + 0.5O_2 + 2H^{+} \xrightarrow{\text{细菌}} 2Fe^{3+} + H_2O \qquad (4\text{-}2)$$

$$Ag_2S + Fe^{3+} \rightarrow 2\,Ag^{+} + 2Fe^{2+} + S^{0} \quad (4\text{-}3)$$

$$FeS_2 + 2\,Fe^{3+} \rightarrow 3\,Fe^{2+} + 2S^{0} \quad (4\text{-}4)$$

$$2S^{0} + 3O_2 + 2H_2O \rightarrow 2H_2SO_4 \quad (4\text{-}5)$$

所生成的 Ag^{+}又继续取代硫化矿物晶格中的 Fe^{2+}，如此周而复始。生成的元素硫在细菌的作用被进一步氧化为硫酸。

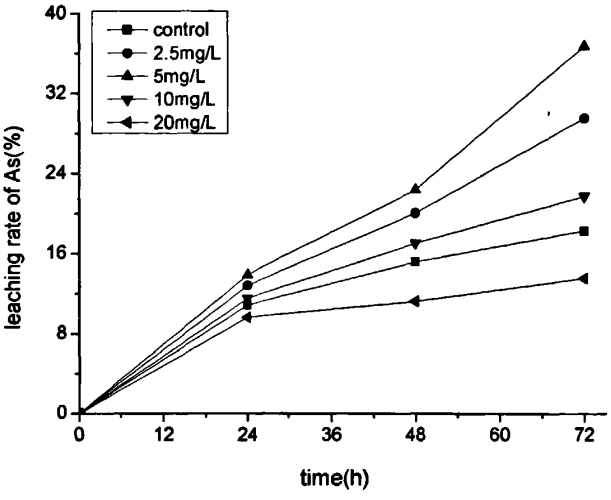


图 4-6　Ag^{+}浓度对砷浸出率的影响

Fig4-6 The Effect of Ag^{+} concentration on the leaching rate of As

3.6 游离 *At.f* 在生物-化学两级反应器中浸出难处理金矿的研究

由图 4-7 可以看出，使用生物-化学两级循环反应器，当体系运行第 5 天时，实验组砷的浸出率就可以达到 81.79%，分别高于低温对照组和高温对照组，这主要归功于高温和 *At.f* 氧化 Fe^{2+}（图 4-8）的能力。由图 4-8 也可看出，在整个循环反应过程中，恒流泵的流速为 0.2ml/min，因此从生物反应器到化学反应器的过程中浸出液的流速很慢，故即使从生物反应器到化学反应器，会流走一小部分菌体，但由于生物反应器中温度和营养成分适宜菌体的生长繁殖，所以生物反应器中始终会保持大量的菌体。可以通过测生物和化学两个反应器里 Fe^{2+}的浓度看出，当化学反应器温度和生物反应器温度均为 30℃时，整个系统中 Fe^{2+}的浓度很低，且化学反应器里 Fe^{2+}的浓度和生物反应器里 Fe^{2+}的浓度基本相等；然而当化学反应器温度为 70℃，生物反应器温度为 30℃时，整个系统中 Fe^{2+}的浓度高于上述系统，且化学反应器里 Fe^{2+}的浓度是生物反应器里 Fe^{2+}浓度的

100-200 倍，原因就是因为在高温的作用下加速矿石氧化，化学反应器端产生大量 Fe^{2+}，而生物反应器端由于氧化亚铁硫杆菌将 Fe^{2+}氧化为 Fe^{3+}，所以导致生物反应器中 Fe^{2+}的浓度很低。这就说明在循环过程中，细菌不会完全死亡。从而实现了连续反应。

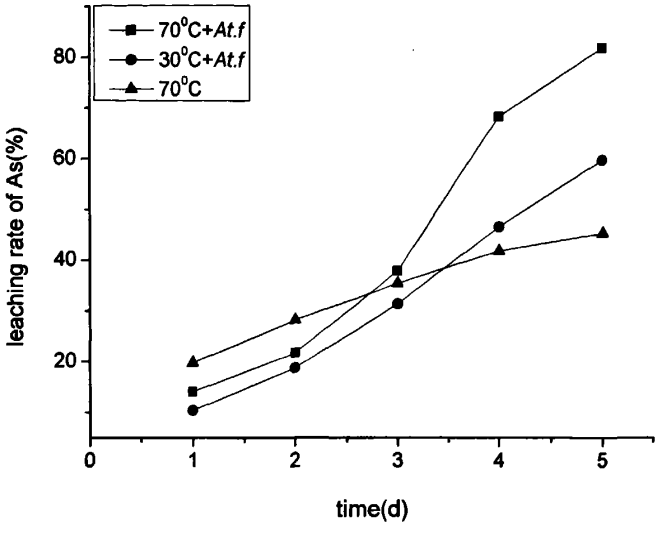


图 4-7 生物-化学两级反应器浸出难处理金矿

Fig4-7 Leaching rate of As with the continuous bio-chemical system

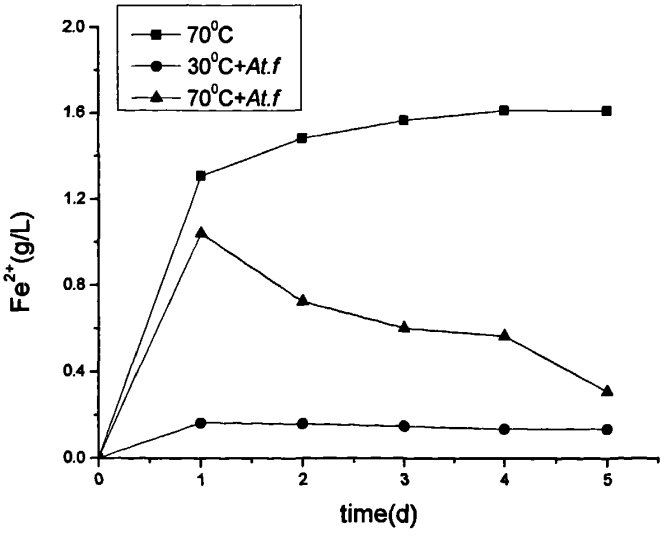


图 4-8 不同组的[Fe^{2+}]变化

Fig 4-8 Variation of [Fe^{2+}] with different tests

4 结论

通过实验，对生物-化学两级循环反应器用于高砷难浸金矿细菌氧化预处理的浸出操作参数进行了优化，得出化学反应器温度 70℃，Fe^{3+}浓度为 6g/L（6K），矿石粒度-74μm，Ag^{+}5mg/L 的最适理化条件。实验结果还表明，随着温度的升高、Fe^{3+}浓度的增加，矿石粒度的减小， Fe^{3+}对难处理金矿的氧化速率逐渐提高，显示出在处理金矿的氧化过程中间接浸出占了主导地位。

另外，使用生物-化学两级循环反应器浸出高砷难浸金矿，当该体系运行到第 5 天时，实验组砷的浸出率就可以达到 81.79%，分别高于低温对照组和高温对照组。生物-化学两级循环反应器减少了总耗氧量、缩短了浸出时间，间接降低了微生物浸矿的成本，其产生的效益超过了由于加热而增加的操作成本，因此，在实际生产中具有可行性。

第五部分　总　结

目前在生物冶金研究领域中从细菌改良等菌种角度提高单菌氧化能力难有明显效果，需从优化细菌生长条件等角度提高整体细菌氧化能力，本文从这个角度出发，针对现行高品位硫化矿生物浸出工业应用的生物反应器又普遍存在剪切力大、细菌磨损严重等缺点，设计了适用于高品位硫化矿细菌浸出的实验室规模生物-化学两级循环反应器。从实验室现有的七株 *At.f* 中选出对甘南硫化金矿浸出率最优的菌株，并对该菌株的生长条件进行了优化，对固定细胞和游离细胞浸出硫化金矿进行比较，同时研究了该菌株在生物-化学两级循环反应器内对高砷难浸金矿氧化预处理的最优操作参数组合。得到的主要结论如下：

1）BY3 菌浸出甘南矿样效果最好，细菌氧化该矿样，铁、砷的浸出率随着时间的延长而增加，接种量越大浸出率越高，但当接种量大于 10%时，它们的差别不是特别大。得出 BY3 菌分解甘南金矿的最佳 pH1.5-2.0，温度为 30℃。

2）当维持生物反应器 T=30℃，化学反应器 T=50℃，Fe^{3+}为 9g/L 时，在生物-化学两级循环反应器中，由于固定化细胞产生大量沉淀，即阻碍了矿物与[Fe^{3+}]的接触，又减少了作为氧化剂的[Fe^{3+}]，所以固定化 *At.f* 的浸出效率小于游离 *At.f* 的浸出效率。由于黄铁矾沉淀的产生是 *At.f* 培养过程中的一种典型现象，所以本文还对黄铁矾的形成机制进行研究。经过研究表明，黄铁矾的可能形成机制为首先形成 $H_3OFe_3(SO_4)_2(OH)_6$，然后其他一些一价阳离子会取代其中的 H_3O^+。由于固定化颗粒细胞的丰富表面积会为黄铁矾沉淀的形成提供相当多的晶核，加速了沉淀的形成速率，况且由于浸出液中还含有丰富的 NH_4^+，所以主要沉淀为 $NH_4Fe_3(SO_4)_2(OH)_6$。

3）研究了生物-化学两级反应器用于高砷难浸金矿细菌预处理的操作参数：矿物颗粒粒度、化学反应器端的温度、[Fe^{3+}]和催化剂（Ag^+）的添加量，采用一次一因素法，得出最优操作参数为：矿物粒度-74μm，化学反应器端的温度为 70℃，[Fe^{3+}]为 6g/L，催化剂（Ag^+）的添加量为 5mg/L。在优化条件下，使用该反应器当该体系运行到第 5 天时，实验组砷的浸出率就可以达到 81.79%，分别高于低温对照组和高温对照组。相对与传统的生物浸出工艺来说，本文提出的生物氧化-化学循环浸出硫化矿工艺在缩短浸出周期，提高浸出率，间接降低微生物浸矿的成本方面显示了一定的优越性。

参考文献

Ahonen L, Tuovinen O H. Bacterial leaching of complex sulfide ore samples in bench-scale column reactors. Hydrometallurgy. 1995, 37 (1): 1–21

Armentia H, Webb C. Ferrous sulphate oxidation using T*hiobacillus ferrooxidans* cell immobilized in polyurethane foam support particles [J]. Appl Microbiol Biotechnol. 1992, 36(6): 697-700

Brewis T. Metal extraction by bacterial oxidation. Internation Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences and Geomechanics Abstracts, 1996, 33: 347A-347A

Brierley J A, Brierley C L. Present and future commercial application of biohydrmetallurgy. In: R. Amils, A. Ballester eds. Biohydrmetallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21st Century, Part A. Amsterdam. Lausanne. New York. Oxford. Shannon. Singapore. Tokyo: Elsevier, 1999. 81-89

Brierley J A. Heap Leaching of Gold-Bearing Deposits: Theory and Operational Description. Biomining: Theory, Microbes and Industrial Processes. 1997: 103-115

Boon M and J J Heijnen. Mechanisms and rate limiting steps in bioleaching of sphaleritr, chalcopyrite and pyrite with Thiobacillus ferrooxidans. In: Torma AE,Wey JE, Laksmanan VI eds. Biohydrometallurgical Technologies, Vol. I. Warrendate, Pensylvania: TMS Press, 1993. 217

Casas J M, Vargas T, Martinez J, et al. Bioleaching model of a copper-sulfide ore bed in heap and dump configurations. Metallurgical and Materials Transactions B, 1998, 29: 899-909

Clark D A, Norris P R. Oxidation of mineral sulphides by thermophilic microorganisms [J]. Minerals Engineering. 1996, 9(11): 1119-1125

Daoud J, Karamanev D. Formation of jarosite during Fe^{2+} oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* [J]. Minerals Engineering. 2006, 19 (9): 960-967

Deng T L, Liao M X, Wang M H et al. Investigations of accelerating parameters for the biooxidation of low-grade refractory gold ores. Minerals Engineering. 2000, 13(14-15): 1543-1553

Dew D W, Lawson E N, and Broadhurst J L. The BIOX process for biooxidation of gold-earing ores or concentrates. Biomining: Theory, Microbes and Industrial Processes. 1997: 45-80

Dutrizac J E. The effect of seeding on the rate of precipitation of ammonium jarosite and sodium jarosite [J]. Hydrometallurgy. 1996, 42: 293-312

Escoba B J, Jedlicki E, Vargas T. A method for evaluating the proportion of free and attached bacteria in thebio-leaching of chalcopyrite with thiobacillus ferrooxidans[J]. Hydrometallurgy, 1996, 40: 1-101

Fang D, Zhou L X. Enhanced Cr bioleaching efficiency from tannery sludge with coinoculation of *Acidithiobacillus thiooxidans* TS6 and *Brettanomyces B65* in an air-lift reactor [J]. Chemosphere. 2007, 67: 303-310

Femandez M G, Mustin C. Occurences at mineral2bacteria interface during oxidation of

arsenopyrite by thiobacillus ferrooxidans [J]. Biotechnology and Bioengineering.1995, 48: 13-211

Fowler T A, Holmes P. R, Crundwell F K. Mechanism of pyrite dissolution in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. Applied and Environmental Microbiology. 1999, 65(7): 2987-2993

Fraser K S, Walton R H and Wells J. Processing of Refractory Gold Ores. Minerals Engineering. 1991, 4: 1029-1041

Giaveno M A, Chiacchiarini P A, Lavalle T L, et al. Reversed flow airlift reactor characterization for bioleaching applications. Proceedings of the 16th International Biohydrometallurgy Symposium. Cape Town, South Africa: Rawlings D E, Petersen J. 2005, 83-85

Gormely L S, Duncan D W, Branion R M R, Pinder K L. Continuous Culture of *Thiobacillus ferrooxidans* on a Zine Sulfide Concentrate [J]. Biotechnology and Bioengineering. 1975, 17(1): 31-49

Grishin S I, Tuovinen O H. Fast kinetics of Fe^{2+} oxidation in packed-bed reactors [J]. Appl Environ Microbiol. 1988, 54: 3092-3100

Haines A K. Factors influencing the choice of technology for the recovery of gold from refractory arsenical ores. Gold, Johanesburg. 1986

Hansford G S and Vargas T. Checical and electrochemical basis of bioleaching process. In: R. Amils, A. Ballester eds. Biohydrometallurgy and the Evnironment Toward the Mining of the 21st Century, Part A. Amsterdam. Lausanne. New York. Oxford. Shannon. Singapore. Tokyo: Elsevier, 1999.19

Hayward T, Satalic D M, and Spencer P A. Engineering,equipment and materials: Devlopments in the design of a bacterial oxidation reactor. Minerals Engineering, 1997, 10: 1047-1055

Imai K, Sugio T, Tsuchida T, et al. Agric Biol Chem. 1975 , 39 : 1349-1354

Jensen A B, Webb C. Ferrous sulphate oxidation using *Thiobacillus ferrooxidans*: a review [J]. Process Biochemistry. 1995, 30(3): 225-236

Jerez C A, Arrendondo R A. Sensitive immunological metho to enumerate Leptospirillum ferrooxidans in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans* [J]. Microbiology Letters. 1991, 78: 99 -1021

Jiang H, Lawson F. Reaction mechanism for the formation of ammonium jarosite [J]. Hydrometallurgy. 2006, 82(3-4): 195-198

Johnson D B. Biodiversity and ecology of acidophilic microorganism s. FEM S M icrobiol Ecol. 1998, 27: 307～317

Kelly D. P, et al. Oxidative metabolism of in organic sulphur compounds by bacteria. Antonie v. Leeuwenhoek. 1997, 71: 95-107

Kinnunen P H M, Heimala S, Riekkola-Vanhanen M L, uhakkaJ A P. Chalcopyrite concentraten leaching with biologically produced ferric sulphate [J]. Bioresource Technology. 2006, 97, 1727-1734

Kohr W J, Johansson C, Shrader J, Shrader V. Method for improving the heap biooxidiation rate of refractory sulfide ore particles that are biooxidized using recycled bioleachate solution. U.S. Patent 5, 688, 304(1997)

Kohr W J, Shrader V, Johansson C. High temperature heap bioleaching process, U. S. Patent 6, 110, 253(2000)

Lacey D T, Lawson F. Kinetics of the liquid-phase oxidation of acid ferrous sulfate by the bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*.Biotechnology and Engineering[J]. 1970, 12: 29-50

Lancy E D, Tuovinen O H. Ferrous iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidan* immobilised in calcium alginate App Environ M icrobiol. 1984, 20 (1) : 94～99

Lewis A J, Miller D A. Stannous and cuprous ion oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. Canadian Journal of Microbiology. 1977, 23(3): 319-324

Long Z E, Huang Y H, Cai Z L, et al. Immobilization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* by a PVA–boric acid method for ferrous sulphate oxidation[J]. Process Biochemistry. 2004, 39(12): 2129-2133

Matsumoto N, Nakasono S, Ohmura N, Saiki H. Extension of Logarithmic Growth of *Thiobacillus feroooxidans* by Potential Controlled Electrochemical R eduction of Fe (III) [J]. Biotechnolgy and Bioengineering. 1999, 64 (6): 716-721

Mehta A P, and Murr L W. Fundamental Studies of the Contribution of Galvanic Interaction to Acid-Bacterial Leaching of Mixed Metal Sulfides. Hydrometallurgy. 1983, 9: 235-256

Morin D, Lips A, Pinches T, et al. BioMinE-Integrted project for the development of biotechnology for metal-bearing materials in Europe. Hydrometallurgy. 2006, 83: 69-76

Mousavi S M, Jafari A, Yaghmaei S, Vossoughi M, Roostaazad R. Bioleaching of low-grade sphalerite using a column reactor [J]. Hydrometallurgy. 2006, 82: 75-82

Nelson D. L, Beck J V. Chalcocite oxidation and coupled carbon dioxide fixation by *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. Sciencs. 1972, 175: 1124-1126

Neuburg H J, Castillo J A, Herrera M N, et al. A model for the leaching of copper sulfide ores in pilot-scale columns. Min Pro. 1991, 31: 247-264

Nicol M L Fellow. Hydrometallurgy into next millennium. The AusIMM Proceedings. 2001, (1):65-69

Norman P F and Snyman C P. The biological and chemical leaching of an auriferous pyrite/arsenopyrite flotation concentrate: A microscopic examination.Geomicrobiology Journal. 1988, 6: 1-10

Olson G J, Brierley J A and Brierley C L. Bioleaching review part B. Applied Microbiology and Biotechnology. 2003, 63: 249-257

Pares M Y. Action dequelques bacteries heterotrophes banales dansle cycle de I'or. Annales de L'Institut pasteur, 1964, 107(4): 573

Pistaccio L, Curutchet G, Donati E, Tedesco P. Analysis of Molydenite Bioleaching by *Thiobacillus ferrooxidans* in the Absence of iron [J]. Biotechnology Letters. 1994, 16(2):

189-194

Poglazova M N, Mitskevich.N, Kuzhinovsky V A. A spectroflurimetric method for determination of total bacterial counts in environmental samples[J]. Journal of microbiological methods. 1996, 24: 211-2181

Pogliani C, Donati E. The role of exopolymers in the bioleaching of non-ferrous metal sulphide [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 1999, 22: 88-92

Rawlings D E, Dew D, du C. Plessis. Biomineralization of metal-containing ores and concentrates[J]. Trends in Biotchnology. 2003, 21(1): 38-44

Rohwerder T, Gehrke T, Kinzler K, Sand W. Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. Appl Microbiol Biotechnol. 2003, 63: 239-248

Sand W. Gehrke T, Jozsa P G, Schipper A. Biochemistry of Bacterial leaching-Direct vs indirect bioleaching [J]. Hydrometallurgy. 2001, 59(2-3): 159-175

Sand W, Gehrke T, G.Jozsa P and Schipper A. Direct versus indirect bioleaching. In: R. Amils, A. allester eds. Biohydrometallurgy and the Environment Toward the Mining of the 21st Century, Part A. Amsterdam. Lausanne. New York. Oxford. Shannon. Singapore. Tokyo: Elsevier, 1999. 27-49

Schipper A and sand W. In: A. Ziegler, K. H. Van Heew, J. Klein, W. Wanzl eds. Preceeding of the 9th International Conference on Coal Science, Vol. 3. Hamburg,Germany: Deutsche wisseschaftliche Gesellshaft fur Erdo Erdgas undkohle e. v. (DGMK), 1997. 1643

Schippers A, Jozsa P-G, Sand W Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite. Appl Environ Microbiol . 1996, 62: 3424–3431

Schippers A, Sand W Bacterial leaching of metal sulfide proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. Appl Environ Microbiol. 1999, 65: 319–321

Shekhar R, and Evans J W, Fluid flow in pachuca(air-agitated)tanks: Part I. Laboratory-scale experimental measurments. Metallurgical and Materials Transactions B. 1989, 20: 781-791

Spencer P. Bacterial Oxidation Technology-a Viable Process for Refractory Gold Ores and Base Metals Recovery. Minerals Engineering. 1991, 4: 1143-1152

Taxiarchou M, Adam K, and Kontopoulos A. Bacterial oxidation conditions for gold extraction from Olympias refractory arsenical pyrite concentrate. Hydrometallurgy(Netherlands). 1994, 36: 167-183

Tuovinen O H, Kelly D P. Studied on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*(1): Use of membrane filters and ferrous iron agaer to determine viable numbers, and comparison with $^{14}CO_2$-Fixation by cell suspensions[J]. Arch Mikrobiol JT-Archiv fur Mikrobiology. 1973, 88(4): 285-298

Ubalsini S, Veglio F and Abbruzzese C. Bioleaching of sulfide for recovery of gold, Ind Min. 1998, 19(3-4):26-29

Wang Y J, Yang X J, Li H Y. Immobilization of *Acidithiobacillus ferrooxidans* with complex of PVA and sodium alginate [J]. Polymer Degradation and Stability. 2006, 91(10): 2408-2414

Watling H R. The bioleaching of sulphide minerals with emphasis on copper sulphides-A review [J]. Hydrometallurgy. 2006, 86: 81-108

Yang X J, Zhang X X, Fan Y L, Li H Y□.The leaching of pentlandite by Acidithiobacillus ferrooxidans with a biological–chemical process[J]. Biochemical Engineering Journal.2008, 42: 166-171

Zhang G J, Fang Z H. The contribution of direct and indirect actions in bioleaching of pentlandite [J]. Hydrometallurgy. 2005, 80(1-2): 59-66

陈华葵，樊庆笙. 微生物学[M]. 北京：农业出版社，1982，22（1）：1-7

戴永定，生物矿物学[M]. 北京：石油工业出版社. 1994，72-133

方兆珩. 生物氧化浸矿反应器的研究进展. 黄金科学技术，2002，10（6）：1-7

黄孔宣. 国外难处理金矿石处理工艺评述，国外黄金参考，1992，（3）：1-7

姜成林，徐丽华. 微生物资源学[M]. 上海：科学出版社，1997

柯家骏. 难浸金矿氰化提金的现状与问题[J]. 黄金科学技术，1998，6(1)： 32

李俊萌. 难处理金矿石预处理方法研究现状及其发展趋势，2003，27（4）：478-481

李绍卿，查广平，冯秀芳，等. 高铜、高砷、高硫金矿石或金精矿氰化浸金工艺[J]. 黄金，2003，24（6）：32-34

刘汉钊. 难处理金矿石难浸的原因及预处理方法，黄金，1997，18（9）：44-47

刘汉钊. 难处理金矿石堆浸的预处理技术[J]. 四川地质学报，1997，17(3) ：231

（美）哈伯斯著，黄桂柱，易瑛译. 湿法冶金.北京：冶金工业出版社，1975

邱冠周等. 某难处理金精矿浸金新工艺试验研究. 黄金，1997，18（6）：32-35

沈 萍. 微生物学[M]. 北京：高等教育出版社

孙先锋等. 氧化亚铁硫杆菌的分离及其生长条件的研究[J]. 西北大学学报(自然科学版)，2000，30(2)：143-146

童 雄. 微生物浸矿的理论与实践[M]. 北京：冶金工业出版社，1997

王康林，汪模辉，蒋金龙. 难处理金矿石的细菌氧化预处理研究现状 [J]. 黄金科学技术，2001，9 (1) ：19-24

王 彤，姜言权. 分析化学试验. 北京：高等教育出版社，2002，94－96

谢 斌，陆跃华，李关芳. 生物冶金法处理难浸金矿的研究和应用[J]. 贵金属，1996，(3) ：47

徐远志. 难浸金矿的预处理方法及影响其工艺选择的冶金学因素[J]. 云南冶金，，1998，27 (增刊) ：9.

杨晓娟等. 固定化氧化亚铁硫杆菌培养条件对黄铁矾沉淀的影响[J]. 中国生物工程杂志，2006，27（1）：64-68

尹升华，吴爱祥，苏永定. 低品位矿石微生物浸出作用机理研究[J]. 矿业. 2006，15(2)：23-27

周一康. 难处理金矿石预处理方法研究进展及对策建议[A]. 黄金选冶新技术、新设备交流会议论文集[C]. 福建紫金：1999，19－24

附录 1

硫元素含量的分析方法

参照 GB11899-89 中华人民共和国国家国标，采用硫酸钡重量法。

基本原理

实验经过氧化钠（Na_2O_2）-碳酸钠熔融或碳酸钠-氧化锌半熔后，硫转化为可溶性硫酸盐，经水浸过滤，除去铁等氢氧化物后，在 0.05~0.1mol/L 盐酸溶液中加入氯化钠溶液使其与硫酸根形成硫酸钡沉淀，滤出后灼烧称重，换算成硫的含量。

测试步骤

称取 0.2~0.5g 试样，置于预先盛有 3~5g 碳酸钠-氧化锌（3：2）混合熔剂的 30ml 瓷坩埚中，搅匀，上面再盖以 1~2g 混合熔剂，从室温下放入高温炉中，从室温逐渐升高温度至 750~800℃，在此温度保持 1 小时，取出冷却，置于 250ml 烧杯中，加入 150ml 热水浸取，洗坩埚及盖，如溶液呈绿色，加乙醇数滴使锰酸盐还原，加热煮沸数分钟，并搅碎半熔物，趁热过滤，用热的 2%碳酸钠溶液洗涤沉淀 6~8 次。在滤液中加入几滴甲基橙指示剂，用 1：1 盐酸中和至显红色，用水调节溶液的体积到 300ml，溶液加热至沸腾（赶尽二氧化碳），加入热的 10%氯化钡溶液 10~30ml，充分搅拌，煮沸并保温半小时，然后静置 4h 以上。用滤纸过滤，净沉淀及滤纸移入已恒重的瓷坩埚中，低温烘干灰化，然后在 800~850℃灼烧 1h，取出冷却称重，并重复灼烧，直至恒重，根据硫酸钡的重量计算 S 的含量。

$$S\%=\frac{m_1\times 0.1374}{m}\times 100$$

式中 m_1:硫酸钡的重量(g)

m:式样的重量(g)

0.1374:硫酸钡换算为硫的因数

附录 2

二氧化硅的分析方法

参照 GB2010 中华人民共和国国家国标，采用动物凝胶聚重量法。

试剂配置

1）无水碳酸钠；

2）盐酸溶液：1+1。 1 份浓盐酸(*p*l. 19 g/ml)与 1 份水混匀；

3）盐酸溶液：2+98。 2 份浓盐酸(*p*l. 19 g/ml)与 98 份水混匀；

4）动物胶溶液：1%。溶解 1g 动物胶溶于 100 ml 约 70℃水中(用时配制)；

测试步骤

称取 0.5g 试样置于铂坩埚中。加 4g 无水碳酸钠混匀，然后再覆盖 1g 无水碳酸钠，盖好坩埚盖，置于高温炉中逐渐升温至 950-1000℃，保持 20-30 min，取出冷却。用 40 ml 盐酸溶液((1 十 1)将熔融物浸取于盖有表面皿的 200-250 ml 瓷蒸发皿中，洗净坩埚，待反应停止后，取下表面皿并冲洗干净。在水浴上将溶液蒸至湿盐状，取下稍冷，加盐酸(*p*l.19 g/ml)20 ml，搅拌均匀，在水浴中(70-80℃)保温 5min，缓缓加入动物胶溶液(1%)10ml，充分搅拌后稍冷，用中速滤纸过滤，滤液收集于 250 ml 容量瓶中。用温热的盐酸洗液((2+98)洗涤沉淀 6-8 次，再用温热蒸溜水洗至无氯离子(用 1%硝酸银溶液检验)。将沉淀连同滤纸一起放入铂坩埚中，干燥灰化，在 1000 士 20℃的温度下用高温炉灼烧 40-60 min 取出，在干燥器中冷却，称重，直至恒重。

$$SiO_2（\%）=\frac{m_1-m_2}{m}\times 100$$

式中　m_1：坩埚+沉淀重量（g）

m_2：　坩埚重量（g）

m：　试样重量（g）

附录 3

铁的分析方法

参照 GB3049-82 中华人民共和国国家标准，采用邻菲啰啉分光光度法检测。

基本原理：

亚铁离子在 pH3~9 之间的溶液中与邻菲啰啉生成稳定的橙红色络合物[$(C_{12}H_8N_2)_3Fe^{3+}$]，此络合物在避光时可稳定保存半年。采用 721 型分光光度计，测量波长为 510nm，其摩尔吸光系数为 $1.1\times10^4 L\cdot mol^{-1}\cdot cm$，比色皿厚度为 10mm。

若用还原剂（如盐酸羟胺）将高铁离子还原，则本法可测高铁离子及总铁含量。

配制试剂：

1）铁标准溶液：准确称取 0.7020g 分析纯硫酸亚铁铵[$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2\cdot6H_2O$]溶于 1+1 硫酸 50ml 中，移入 1L 容量瓶中，加水至刻度，摇匀。准确移取该液 25.00ml 置于 100ml 容量瓶中，加水至刻度，摇匀。

2）0.5%邻菲啰啉水溶液；

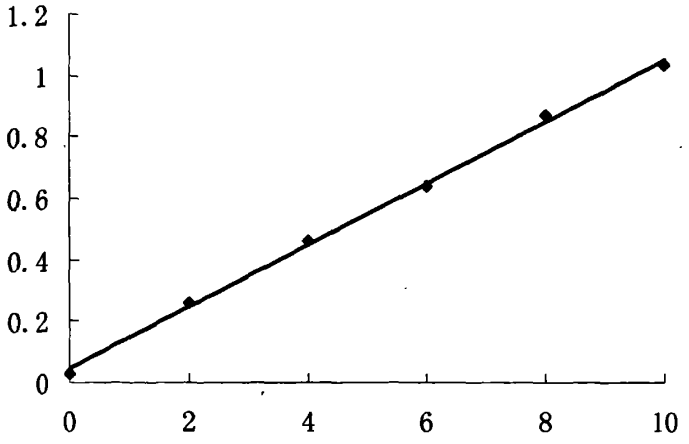
3）10%（m/v）盐酸羟胺水溶液；

4）醋酸缓冲溶液：称取 40g 分析纯醋酸胺，加 50ml 冰醋酸，加水溶解后稀释至 100ml。

5）1+3 盐酸

标准曲线的绘制：

分别吸取铁标准溶液 0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0ml 于六只 150ml 锥形瓶中，加入蒸馏水至 50.00ml，再加盐酸 1ml，盐酸羟胺 1ml，玻璃珠 1-2 粒，然后加热煮沸至溶液剩 15ml 左右，冷却至室温，定量转移至 50ml 具塞刻度管中。加一小片刚果红试纸，滴加饱和乙酸钠溶液至试纸刚刚变红，加入 5ml 缓冲溶液，邻菲啰啉 2ml，加水至标线，摇匀，显色 5min 后，用 10mm 比色皿，以水为参比，在 510nm 处测量吸光度为 OD 值。以铁标准溶液的浓度为横坐标，以 OD_{510} 值为纵坐标作图，即得标准曲线。



计算公式：

$y=0.1006x+0.0465$（$R^2=0.9981$）

式中 y：OD510 值；

x：亚铁离子浓度（μg/ml）

亚铁含量的测定：

将样品稀释至 0~0.1mg/ml 的浓度范围，加盐酸调 pH 接近 2.0。取 0.5ml 稀释的样品，放入 10ml 试管，加入 1ml 缓冲溶液，加入 0.5ml 显色溶液，用水补至总体积 2.5ml，摇匀后，静置显色 5min，用蒸馏水矫零，在 510nm 处测其 OD 值。根据 OD 值在标准曲线上查找所对应的浓度，即为稀释样品的亚铁浓度。