

# 细菌化学诱变对低品位铜尾矿微生物浸出的影响

董颖博<sup>1 2)</sup> 林海<sup>1 2)</sup>✉ 傅开彬<sup>1)</sup> 莫晓兰<sup>1)</sup> 汪涵<sup>1)</sup>

1) 北京科技大学土木与环境工程学院, 北京 100083 2) 北京科技大学金属矿山高效开采与安全教育部重点实验室, 北京 100083

✉ 通信作者, E-mail: linhai@ces.ustb.edu.cn

**摘要** 以嗜酸氧化亚铁硫杆菌 *T. f.* 优势菌株为原始菌, 采用盐酸羟胺对其进行化学诱变, 重点研究了化学诱变对菌种活性、生长繁殖以及尾矿浸出体系的影响。结果表明, 羟胺诱变能使菌种产生明显变异, 能很好地提高菌种活性和生物浸出能力。盐酸羟胺质量分数 1.0% 时所得诱变菌的氧化活性最高, 32 h 后  $\text{Fe}^{2+}$  氧化率达到 100%, 而在相同条件下原始菌的  $\text{Fe}^{2+}$  氧化率达到 100% 则延迟 32 h。尾矿浸出 30 d, 诱变菌的铜浸出率比原始菌提高了 20.7%, 比酸浸铜浸出率提高了 85%; 同时, 到达浸出终点的时间比原始菌提前了 5~8 d。说明诱变菌浸出效果好于原始菌, 远优于化学浸出。菌种诱变前后扫描电镜测试表明, 诱变菌种的形态没有变化, 但细胞大小有所改变, 表面变得光滑且出现胞外分泌物, 同时细胞间聚团现象明显。

**关键词** 尾矿; 铜; 细菌浸出; 化学诱变; 盐酸羟胺

分类号 TD925.5

## Effects of chemical mutation on the microbial leaching of low grade copper tailings

DONG Ying-bo<sup>1 2)</sup>, LIN Hai<sup>1 2)</sup>✉, FU Kai-bin<sup>1)</sup>, MO Xiao-lan<sup>1)</sup>, WANG Han<sup>1)</sup>

1) School of Civil and Environmental Engineering, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China

2) Key Laboratory of the Ministry of Education of China for High-Efficient Mining and Safety of Metal Mines, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China

✉ Corresponding author, E-mail: linhai@ces.ustb.edu.cn

**ABSTRACT** The effects of chemical mutation by hydroxylamine hydrochloride on the activity and growth of strains and the tailing leaching system were investigated with the superior bacteria of *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*T. f.*) as an original strain. The results showed that chemical mutation by hydroxylamine hydrochloride produced an evident mutation in the strain *T. f.*, which can improve its bioactivity and bioleaching properties. The strain *T. f.* had the best oxidation after chemical mutation by hydroxylamine hydrochloride with a mass fraction of 1.0%. The oxidation rate of  $\text{Fe}^{2+}$  reached 100% after culturing for 32 h, which was 32 h in advance in comparison with the original strain. After a 30 d leaching, the copper leaching rate of the mutant strain *T. f.* was improved by 20.7% as compared with that of the original strain and it was 85% higher than the acid leaching rate. In addition, utilizing the mutant strain could shorten the leaching time of 5 to 8 d. It is indicated that the effect of bioleaching with the mutant strain is better than that with the original strain, and much better than that of the acid leaching. Scanning electron microscope analyses of the original strain and the mutant strain showed that the shape of the mutant strain did not change but the cell size did, the surface changed smooth and extracellular secretion occurred, while the clustering of cells was obvious.

**KEY WORDS** tailings; copper; bioleaching; chemical mutation; hydroxylamine hydrochloride

矿产资源是不可再生资源, 经过逐年开采利用已日渐枯竭。受过去思想认识和技术条件限制, 有的矿山选矿回收率不高, 矿产综合利用程度不足, 现已堆存甚至正排出的尾矿中都含有丰富的有用元

素<sup>[1]</sup>。对尾矿再选研究较多采用传统选矿工艺和化学浸出方法, 但均存在一定局限性<sup>[2]</sup>, 采用微生物技术处理低品位尾矿是一种有效的方法<sup>[3]</sup>。目前国外的细菌浸矿技术已较广泛应用于低品位原生矿的

浸出,但对微生物浸出尾矿研究还较少<sup>[4]</sup>。尾矿是亟待开发和利用的宝贵二次资源,与原生矿相比,矿物性质发生了一定变化,因此研究适合尾矿特性高效浸矿菌株显得尤为重要。在浸矿菌种育种方面,国内外都做了大量研究,主要选育方法包括菌种的驯化、诱变和基因工程<sup>[5]</sup>。由于驯化育种和基因工程育种还存在一定的劣势<sup>[6]</sup>,因此诱变育种便成为目前对浸矿菌种进行性能改良的首选方法。化学诱变育种技术具有易操作、剂量易控制、对基因组损伤小以及突变率高等特点,成为近年来运用最为广泛的诱变技术<sup>[7]</sup>。

本文以湖北大冶某废弃铜尾矿作为研究对象,以本实验室已开发出的优良浸出铜尾矿嗜酸氧化亚铁硫杆菌 *T. f.* 优势菌株作为原始菌,采用诱变剂盐

酸羟胺对出发菌进行化学诱变,使微生物体内遗传物质 DNA 的化学结构发生改变,以提高突变频率和扩大遗传变异幅度。研究中主要考察了不同诱变剂量对菌种生长繁殖、氧化活性以及诱变菌种对尾矿中铜浸出效率的影响,同时采用扫描电镜对浸出前后尾矿和诱变前后菌种进行了测试分析。

## 1 实验

### 1.1 实验矿样

实验矿样取自湖北大冶某废弃铜尾矿,平均铜品位为 0.2%,其主要矿物成分为黄铜矿、微量铜蓝、黄铁矿、白云石、方解石、透辉石、石英、方柱石和绿泥石等。矿样化学多元素分析结果如表 1 所示。

表 1 尾矿多元素分析结果(质量分数)

Table 1 Result of multi-element analysis of the copper tailing

													%	
Cu	Fe	S	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MgO	Zn	K <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> O	CaO	TiO <sub>2</sub>	Mn	P	Mo	
0.20	6.58	5.32	45.39	8.98	6.46	0.02	3.43	1.14	10.38	0.28	0.22	0.11	0.03	

### 1.2 菌种及培养条件

实验所用菌种为 *T. f.*, 采自湖北大冶某铜矿酸性矿坑水中(pH 值约为 4.5) 经过筛选、分离、耐铜驯化培养以及适应尾矿环境驯化培养所得,委托北京三博远志生物技术有限责任公司完成菌种鉴定和

序列测定,该菌株属于嗜酸氧化亚铁硫杆菌,同源度 100%,其 16sr DNA gene 基因库登录序列号为 FN811931.1。*T. f.* 菌株最佳培养条件为: 初始 pH 2.0, 摇床温度 30℃, 转速 160 r·min<sup>-1</sup>。采用改进型 4.5 K 培养基,其组成见表 2。

表 2 改进型 4.5 K 培养基组分及质量浓度

Table 2 Components and mass concentration of the improved 4.5 K medium

组分	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	KCl	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O
质量浓度/(g·L <sup>-1</sup> )	2.0	0.1	0.25	0.25	22.1

### 1.3 菌种诱变实验

菌种恒温培养至对数生长期,将菌液在 5 000 r·min<sup>-1</sup> 下离心 20 min,去上清液得到沉淀,用 pH 值为 2.0 预先灭过菌的硫酸溶液对沉淀进行洗涤,然后再离心去上清液,如此反复操作三次,以达到去除菌液中 Fe<sup>3+</sup> 的目的,得到无铁细胞悬浊液,在生物显微镜下进行计数,调整细菌浓度。

菌种诱变培养实验均采用 250 mL 锥形瓶,分别装入 90 mL 含不同质量分数(0.5%, 1.0%, 2.0%, 3.0%) 盐酸羟胺的改进型 4.5 K 培养基,然后分别接入 10 mL 菌液,细菌数量为 1.0 × 10<sup>8</sup> 个·mL<sup>-1</sup>。诱变处理在生长过程中进行 4 d 后开始计数,得到所用诱变剂量和菌种致死率的关系。不同剂量下诱变菌三次转代培养后,对其活性和浸铜效率进行考察。

### 1.4 尾矿浸出实验

尾矿浸出实验均在 250 mL 锥形瓶中进行,内装

入 90 mL 已灭菌 pH 值为 2 的稀硫酸溶液,接入 10 mL 对数生长期原始菌或诱变菌液(细菌数量均为 1.0 × 10<sup>8</sup> 个·mL<sup>-1</sup>),矿浆质量浓度为 50 g·L<sup>-1</sup>,置于 30℃、160 r·min<sup>-1</sup> 的空气浴恒温摇床内振荡培养,定期测定浸出液中活菌数目、pH 值、氧化还原电位和 Cu<sup>2+</sup> 浓度。蒸发掉的水分用蒸馏水补足,取样消耗的液量用相应的溶液补充,使锥形瓶内溶液至 100 mL 刻度线。

### 1.5 测试分析方法

亚铁离子的浓度采用重铬酸钾滴定法测定;pH 值采用 PHS-2F 型 pH 计测定;用铂-甘汞复合电极在 PHS-2F 型 pH 计的电位档测定氧化还原电位;Cu<sup>2+</sup> 浓度采用原子吸收光谱法测定;在 ZBM-300E 无穷远生物显微镜下采用血球计数板测定培养液和浸出液中活细菌的数量;菌种的氧化活性用细菌氧

化亚铁的能力来表示;用扫描电镜观察浸渣表面形貌以及诱变前后细菌形态的变化.

## 2 结果和讨论

### 2.1 盐酸羟胺对 *T. f.* 菌的诱变效果

盐酸羟胺( $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ )是具有特异诱变效应的诱变剂,在质量分数为0.1%~5%时可对细菌产生诱变效应<sup>[8]</sup>.诱变剂量直接影响菌种的致死率.诱变剂量大,致死率高(90%~99%),在单位存活细胞中负突变菌株多,正突变菌株少,但在不多的正突变株中可能筛选到产量提高幅度大的变株;小剂量进行处理,致死率为50%~80%,在单位存活细胞中正突变株多,然而大幅度提高产量的菌株可能较少.

本实验以盐酸羟胺用量作为诱变剂量,以致死率和正突变率作为评价指标.将除杂纯化后的菌种加入新鲜的含不同量盐酸羟胺的改进型4.5K培养基中,4d后开始计数,反复重新接种培养三次后,测不同诱变菌和原始菌(初始接种数量均为 $1.0 \times 10^6$ 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ )在同样培养条件下的 $\text{Fe}^{2+}$ 氧化率.菌种诱变时盐酸羟胺用量和细菌致死率的关系如图1所示,不同剂量对菌种的诱变效果见图2.

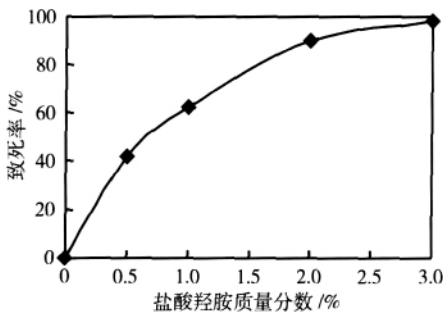


图1 盐酸羟胺质量分数对菌致死率的影响

Fig.1 Effect of the mass fraction of hydroxylamine hydrochloride on the lethality rate of bacteria

由图1可以看出,随着盐酸羟胺质量分数的增加,菌种的致死率逐渐增大.当盐酸羟胺质量分数为0.5%时,菌种死亡率为42%左右,说明在低剂量时对菌种已有较高的致死率;当盐酸羟胺浓度达到3.0%时,菌种几乎100%死亡.盐酸羟胺对菌种的诱变机理为羟胺专一地与胞嘧啶(C)发生反应,引起G:C→A:T转换.同时,盐酸羟胺还能和细胞中的其他物质作用产生过氧化氢,也具有诱变作用.在DNA的双螺旋结构中,胞嘧啶与鸟嘌呤配对,分子间形成三个氢键,这种碱基互补之间的氢键对DNA双螺旋结构的稳定性起着重要作用,在盐酸羟胺对菌种的化学诱变处理中,羟胺和胞嘧啶上的碱

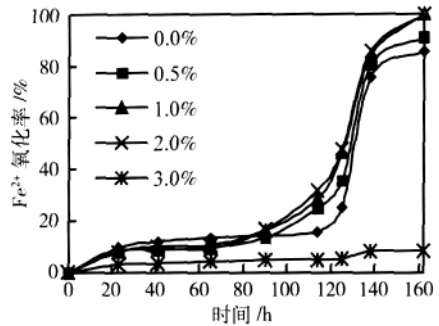


图2 不同盐酸羟胺质量分数下菌种的 $\text{Fe}^{2+}$ 氧化率

Fig.2  $\text{Fe}^{2+}$  oxidation rate at different mass fractions of hydroxylamine hydrochloride

基发生反应,使胞嘧啶结构发生变化,而羟化后的胞嘧啶与腺嘌呤配对,引起了DNA结构变化、遗传物质变异.当盐酸羟胺浓度较高时,菌种DNA结构中胞嘧啶被羟化的数量增多,羟化作用增强,从而使遗传变异幅度过大,导致菌种致死率较高.

图2为不同诱变剂量对诱变菌氧化活性的影响程度.菌种氧化活性的改善关键在于提高亚铁氧化酶的活性<sup>[9]</sup>.盐酸羟胺诱变菌种酶活性提高的机理为:改变了酶一级结构从而导致空间结构的变化,进而导致酶活性的提高.结果表明:当盐酸羟胺质量分数为0.5%、1%和2%时,诱变菌的氧化活性比原始菌的有所提高,培养160h时 $\text{Fe}^{2+}$ 的氧化率分别比原始菌 $\text{Fe}^{2+}$ 氧化率提高了约5%、15%和16%;当盐酸羟胺质量分数为3.0%时,活性很弱.因此可以推断:盐酸羟胺质量分数为3.0%时菌种亚铁氧化酶结构变化幅度太大,导致致死率太高,单位存活细胞中负突变菌株过多,使其亚铁氧化活性大大降低;而盐酸羟胺质量分数为0.5%、1%和2%时对菌种的诱变效果较好,它可以提高亚铁氧化酶活性,因此相对于原始菌具有更高亚铁氧化率.

### 2.2 诱变菌种的培养

菌种诱变处理必然破坏了原有DNA结构的稳定性,使突变位点可能处于亚稳定状态,增大了回复突变或抑制基因突变的概率.为保证突变体的稳定性,在育种过程中做一段长期的培养和观测,反复传代观测其性状稳定性.不同诱变菌接种传代培养四次后,选择其中具有较高氧化活性和生长繁殖能力的菌种与原始菌,初始接种数量均为 $1.0 \times 10^8$ 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ ,在相同条件下进行培养,定时测定培养体系的pH值、氧化还原电位( $E_h$ )、 $\text{Fe}^{2+}$ 氧化率以及菌种的生长曲线.

在菌种培养过程中,pH值是非常重要的参数,pH值的变化会影响浸矿菌种的生长繁殖和亚铁的

氧化<sup>[10]</sup>。不同菌种在培养过程中, 培养液 pH 值随时间变化如图 3 所示。结果显示, pH 值均呈现先升高后逐渐下降的趋势。经分析, 细菌在代谢过程中会消耗 H<sup>+</sup>, 在培养初期, 培养液中的主要反应为 Fe<sup>2+</sup> 的氧化, 即  $4\text{Fe}^{2+} + \text{O}_2 + 4\text{H}^+ \xrightarrow{\text{细菌}} 4\text{Fe}^{3+} + 2\text{H}_2\text{O}$ 。细菌的参与促进了该反应加速进行, 从而导致 pH 值快速升高<sup>[11]</sup>; 此后随着培养过程的进行, pH 值逐步下降, 分析原因为随着培养时间延长, Fe<sup>3+</sup> 增多,  $\text{Fe}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_3 + 3\text{H}^+$ , Fe<sup>3+</sup> 发生水解使培养体系酸度增加, pH 值有所下降<sup>[12]</sup>。图 4 为不同菌种培养过程中氧化还原电位的变化。体系由 Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> 等浓度比或是 Fe<sup>3+</sup> 浓度的变化引起电位的升高或降低。在细菌生长过程中, Fe<sup>2+</sup> 的氧化为细菌的生长提供必须的能量, 使溶液中 Fe<sup>3+</sup> 浓度增加, 溶液的混合电位逐渐升高; 当 Fe<sup>2+</sup> 氧化完全时, E<sub>h</sub> 达到最高值, 且维持在相对稳定的范围内。从图 3 和图 4 的结果可以看出, 原始菌培养体系 pH 值、E<sub>h</sub> 的变化趋势均滞后于诱变菌, pH 值达到最大值的时间比三株诱变菌均滞后 16 h 左右。诱变菌在培养 40 h 时, E<sub>h</sub> 已接近稳定状态, 维持在 580 ~ 590 mV, 而原始菌培养体系的氧化还原电位达到稳定状态至少滞后 24 h。由此可以看出诱变菌的氧化活性有所提高, 生长速度有所加快。

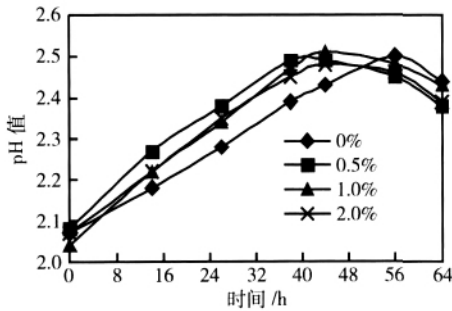


图 3 不同盐酸羟胺质量分数下 pH 值随时间变化曲线

Fig. 3 Change of pH values at different mass fractions of hydroxylamine hydrochloride

图 5 和图 6 分别为原始菌和不同诱变菌在培养过程中 Fe<sup>2+</sup> 氧化率变化情况和生长曲线。从图中可以看出诱变菌的氧化活性和生长情况好于原始菌, 这与 pH 值、E<sub>h</sub> 变化趋势分析结果相符。40 h 时, 三株诱变菌的亚铁氧化率均已达到 100%, 比原始菌提前了 24 h, 说明这三株诱变菌的氧化活性大大提高, 尤其是盐酸羟胺质量分数为 1.0% 条件下所得诱变菌活性最好, 32 h 时的亚铁氧化率已接近 100%, 而在相同条件下原始菌的亚铁氧化率达到

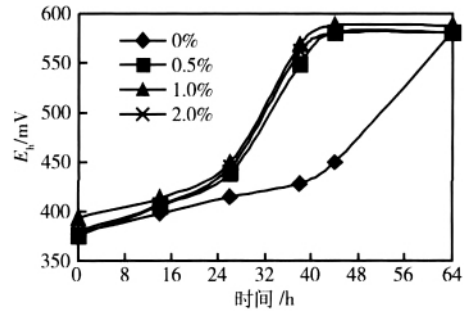


图 4 不同盐酸羟胺质量分数下 E<sub>h</sub> 随时间变化曲线

Fig. 4 Change of E<sub>h</sub> at different mass fractions of hydroxylamine hydrochloride

100% 则延迟 32 h。从生长曲线也可以看出, 诱变菌比原始菌生长速度快, 盐酸羟胺质量分数为 1.0% 所得诱变菌的生长繁殖情况最好。因此, 可推断盐酸羟胺质量分数为 1.0% 时可以有效地用于此菌种的诱变, 能使其具有更高的亚铁氧化活性, 故选择此条件下所得诱变菌进行尾矿浸出实验。

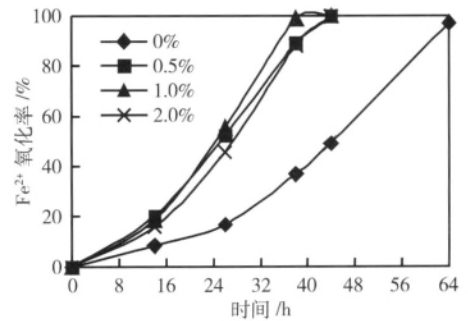


图 5 不同盐酸羟胺质量分数下 Fe<sup>2+</sup> 氧化率随时间变化曲线

Fig. 5 Change of Fe<sup>2+</sup> oxidation rate at different mass fractions of hydroxylamine hydrochloride

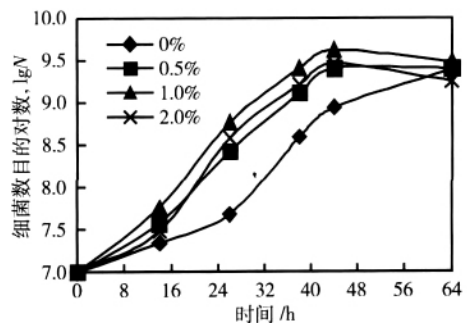


图 6 不同盐酸羟胺质量分数下菌种的生长曲线

Fig. 6 Growth curves of the strain at different mass fractions of hydroxylamine hydrochloride

### 2.3 诱变菌种对尾矿的浸出效果

以原始菌作为对照, 采用经过质量分数 1.0% 盐酸羟胺诱变后的诱变菌进行浸矿实验, 并与酸浸的浸矿效果进行了对比。由于尾矿中的无机元素可以弥补培养基中的一些营养元素, 同时实验证明浸

矿初期是否添加无机盐基础培养基对浸铜效果影响不明显,因此实验采用 pH 值为 2 的稀硫酸溶液代替无机盐基础培养基. 由于在浸矿初期尾矿中含有较多碱性脉石矿物导致体系 pH 值升高,因此在尾矿浸出实验前 5 d,每组均定时定量加入 10% 的稀硫酸,共补加 5 mL. 浸出过程中菌体的生长情况如图 7 所示,尾矿酸浸、诱变菌和原始菌的浸出效果见图 8.

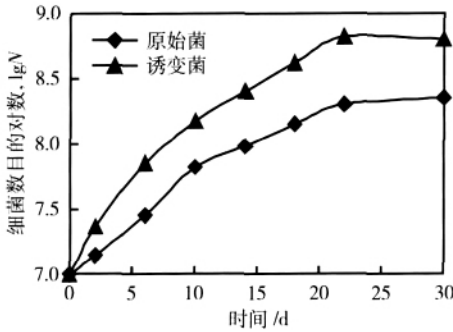


图 7 原始菌和诱变菌在浸矿体系中的生长曲线

Fig. 7 Growth curves of the original strain and mutant strain in the leaching system

数量级,说明诱变菌的选择性较好,能更好地适应尾矿浸出环境. 浸出 5 d 后,尾矿酸浸、诱变菌和原始菌浸出的铜浸出率均有较大幅度提高,酸浸铜浸出率接近 15%,诱变菌、原始菌作用下的铜浸出率约 17%,说明在浸出初期菌浸效果稍微好于酸浸,但效果不明显. 分析原因为:浸出初期 pH 值较高,不利于菌种生长,需定时补加一定量的稀硫酸,所以酸起到了主导作用,菌种起辅助作用. 5 d 之后停止补加酸,当浸出 20 d 时,酸浸尾矿浸铜率为 18% 左右,原始菌对尾矿的铜浸出率为 25.5%,而诱变菌的铜浸出率为 30.7%;浸出 25 d 时,诱变菌的铜浸出率接近 35%,达到浸出终点,而原始菌对尾矿的浸出体系至少在 30 d 后达到浸出终点. 可以得出:当 pH 值相对稳定停止补加酸后,菌浸的效果大大高于酸浸效果,同时诱变菌的浸铜效率相对于原始菌提高了 20.7% 左右,到达浸出终点的时间比原始菌提前了 5~8 d,可以认为原始菌经盐酸羟胺诱变后,引起了生物变异,使原始菌浸出尾矿的性能得到了较大提高.

### 2.4 浸出前后尾矿扫描电镜分析

图 9 和图 10 分别为尾矿和尾矿经细菌浸出后所得浸渣的扫描电镜 (SEM) 照片和能谱 (EDS) 分析图谱. 研究发现,细菌浸出后矿物受到腐蚀,表面不再光滑平整,由于细菌吸附出现了许多腐蚀小坑,受腐蚀部位多出现在矿物缺陷、裂缝和位错等区域. 这是因为细菌在矿物表面的附着是有选择性的,起初主要附着在有表面缺陷、位错等能引起表面高电荷的地方<sup>[13]</sup>. 从 SEM 面分布能谱图可以看出,尾矿和浸渣表面主要的化学成分基本相同. 表 3 为能谱分析结果,可以看出浸出后 Cu、Mg、Ca、Si、Al 和 Fe 的质量分数和原子分数有了不同程度的降低,而 S 的质量分数、原子分数有所升高. 比较可知:尾矿浸出后的浸渣表面 S 富集在矿物表面, S 富集说明在尾矿浸出过程中,表面有元素 S 生成,在矿物表面形

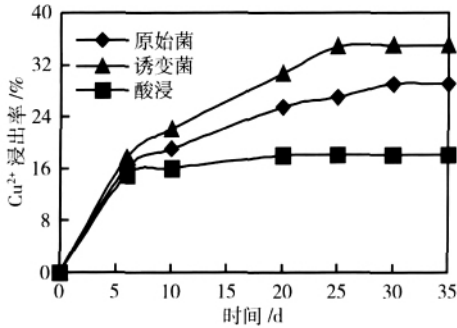


图 8 原始菌和诱变菌浸出以及酸浸对尾矿的铜浸出率的影响

Fig. 8 Effect of the original strain, mutant strain and acid leaching on the copper leaching rate

结果表明,原始菌经过盐酸羟胺诱变后,诱变菌在浸出尾矿过程中的生长比原始菌有所加快,浸出 20 d 后直到浸出终点,菌种生长浓度相差约 0.5 个

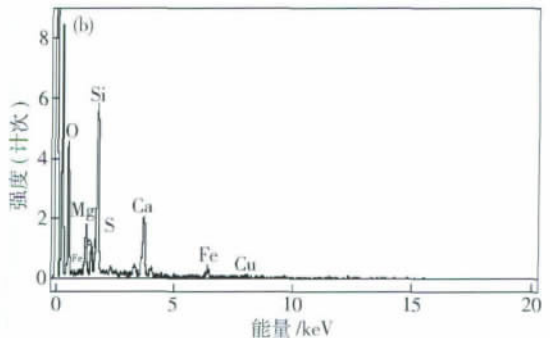
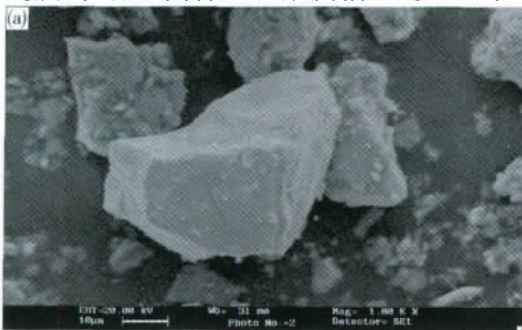


图 9 尾矿 SEM 像 (a) 和 EDS 图谱 (b)

Fig. 9 SEM image (a) and EDS pattern (b) of the copper tailing

成硫膜<sup>[14]</sup>; 在浸出过程中, Cu 和 Fe 在细菌作用下加速氧化溶解形成离子状态, 同时尾矿中的脉石矿

物随着浸出的进行将其含有的主要元素物质释放在浸出液中。

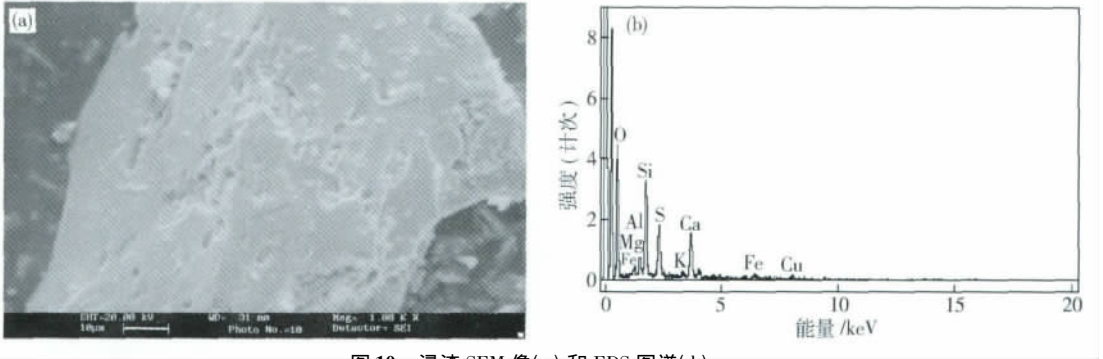


图 10 浸渣 SEM 像 (a) 和 EDS 图谱 (b)  
Fig. 10 SEM image (a) and EDS pattern (b) of the leach residue

表 3 尾矿和浸渣表面能谱分析结果

Table 3 Results of surface spectrum analysis of the copper tailing and the leach residue

试样	质量分数/%								原子分数/%							
	Cu	Fe	Ca	Si	Mg	Al	S	O	Cu	Fe	Ca	Si	Mg	Al	S	O
尾矿	1.26	1.64	4.22	8.61	2.85	1.17	0.35	79.9	0.34	0.52	1.86	5.42	2.07	0.76	0.19	88.8
浸渣	0.57	0.64	3.46	5.12	0.54	1.12	2.85	85.7	0.16	0.20	1.50	3.16	0.39	0.72	1.54	92.3

### 2.5 诱变前后菌种 SEM 分析

菌种经过诱变后, DNA 结构发生变化, 遗传物质发生变异, 细胞往往也表现出不同的大小、形状和表征特性。为了观察原始菌和诱变菌细胞表征的变化情况, 本实验采用扫描电子显微镜进行观察, 结果如图 11 所示。由观察结果可知, 原始菌经

盐酸羟胺诱变后, 形态仍为短杆状, 细胞大小有所变化, 表面变得光滑, 聚团现象更加明显, 并且细胞表面出现黏稠物质, 出现胞外分泌物。分析原因可能是细胞在盐酸羟胺存在的情况下, 分泌出一些胞外聚合物(主要成分是多糖和蛋白质)来适应环境的变化<sup>[15]</sup>。

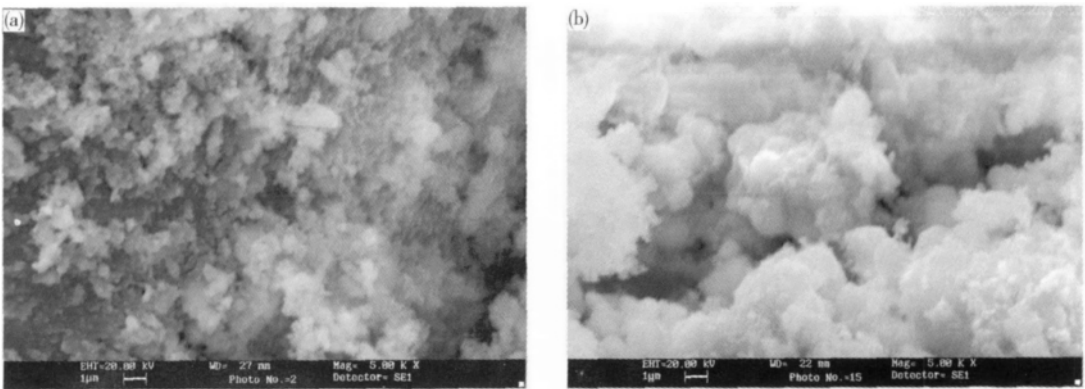


图 11 原始菌 (a) 和诱变菌 (b) 的扫描电镜图  
Fig. 11 SEM image of the original strain (a) and the mutant strain (b)

### 3 结论

(1) 不同盐酸羟胺用量对诱变菌的氧化活性影响程度有所差异。盐酸羟胺质量分数为 1.0% 时所得诱变菌的氧化活性最高, 在改进型 4.5 K 培养基中培养 32 h, 亚铁氧化率已接近 100%, 比原始菌提

前 32 h, 并且促进了其生长繁殖, 诱变效果良好。

(2) 菌种经盐酸羟胺诱变后, 性能得到很大提高, 尾矿浸出 30 d 后, 诱变菌种对尾矿的铜浸出率比原始菌提高了约 20%, 比尾矿酸浸铜浸出率提高了 85%。同时, 该菌具有较高的浸出速率, 到达浸出终点的时间比原始菌提前了 5~8 d, 表明该诱变菌



能很好地作用于低品位铜尾矿的浸出。

(3) 尾矿和浸渣表面 SEM 和 EDS 分析表明, 浸渣表面受到严重腐蚀, 浸出后 Cu、Fe 和其他脉石矿物中主要元素的质量分数和原子分数有不同程度的降低, 但是 S 有所升高。

(4) 盐酸羟胺对细菌的诱变作用主要是羟胺和胞嘧啶发生反应引起细菌的变异, 关键在于提高了亚铁氧化酶的活性, 通过改变酶一级结构从而导致空间结构的变化, 进而导致酶活性的提高。诱变后菌种形态没有发生变化, 但大小发生改变, 同时细胞表面变得光滑并出现黏稠物质, 细胞间聚团现象明显。

## 参 考 文 献

- [1] Donato D B, Nichols O, Possingham H, et al. A critical review of the effects of gold cyanide-bearing tailings solutions on wildlife. *Environ Int*, 2007, 33(7): 974
- [2] Zhang S H, Xue X X, Liu R, et al. Current situation and prospect of the comprehensive utilization of mining tailings. *Min Metall Eng*, 2005, 25(3): 44  
(张淑会, 薛向欣, 刘然, 等. 尾矿综合利用现状及其展望. 矿冶工程, 2005, 25(3): 44)
- [3] Li H X. *Bio-metallurgical of Sulfide Copper*. Beijing: Metallurgical Industry Press, 2007  
(李宏煦. 硫化铜矿的生物冶金. 北京: 冶金工业出版社, 2007)
- [4] Wang Y M, Li J Q. Development status and prospect of microbial leaching technology. *Gansu Metall*, 2004, 26(1): 36  
(王玉棉, 李军强. 微生物浸矿的技术现状及展望. 甘肃冶金, 2004, 26(1): 36)
- [5] Dong Y B, Lin H. Research progress on bioleaching technology of low-grade copper ore. *Met Mine*, 2010(1): 11  
(董颖博, 林海. 低品位铜矿微生物浸出技术的研究进展. 金属矿山, 2010(1): 11)
- [6] Ou P. Chemical mutation technique applied in industrial microorganism breeding. *J Hezhou Univ*, 2008, 24(3): 139  
(欧平. 工业微生物化学诱变育种研究及应用进展. 贺州学院学报, 2008, 24(3): 139)
- [7] Xu X J, Gong L, Meng Y S, et al. Chemical mutation of bacterium T. f and its leaching of low grade chalcopyrite ores. *Met Mine*, 2004(8): 42  
(徐晓军, 宫磊, 孟云生, 等. 硫杆菌的化学诱变及对低品位黄铜矿的浸出. 金属矿山, 2004(8): 42)
- [8] Shi Q Q, Wu S G. *Industrial Microbiology breeding*. Beijing: Science Press, 2003  
(施巧琴, 吴松刚. 工业微生物育种学. 北京: 科学出版社, 2003)
- [9] Yang X W, Qiu D F. *Hydrometallurgy*. Beijing: Metallurgical Industry Press, 1998  
(杨显万, 邱定蕃. 湿法冶金. 北京: 冶金工业出版社, 1998)
- [10] Rohwerder T, Gehrke T, Kinzler K, et al. Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, 63(3): 239
- [11] Xia L X, Peng A A, Guo X, et al. Comparison of the bioleaching ability of native and standard strains of *acidithiobacillus ferrooxidans* in chalcopyrite recovery. *Prog Mod Biomed*, 2009, 9(6): 1068  
(夏乐先, 彭安安, 郭雪, 等. 两株不同来源的嗜酸氧化亚铁硫杆菌对黄铜矿浸出的研究. 现代生物医学进展, 2009, 9(6): 1068)
- [12] Zhou H B, Xie Y J, Zhang R B, et al. Bioleaching of chalcopyrite by moderately thermophilic mixed microorganisms in stirred tank bioreactor and community succession analysis. *J Cent South Univ Sci Technol*, 2010, 41(1): 15  
(周洪波, 谢英剑, 张汝兵, 等. 中度嗜热混合菌在搅拌槽中浸出黄铜矿及其群落动态. 中南大学学报: 自然科学版, 2010, 41(1): 15)
- [13] Dong Y B, Lin H, Jiang L Y. Recovery of copper resource from mine solid waste using microbial technology//*The International Conference on Mechanic Automation and Control Engineering*. Wuhan, 2010: 4710  
(董颖博, 林海, 江乐勇. 微生物技术回收矿山固体废弃物中铜资源//机械自动化与控制工程国际学术会议. 武汉, 2010: 4710)
- [14] Yu R L, Qiu G Z, Hu Y H, et al. Bacterial extracellular polymeric substances and its contact-leaching sulfide mechanism. *Hydrometallurgy China*, 2008, 27(2): 72  
(余润兰, 邱冠周, 胡岳华, 等. 浸矿微生物/矿物界面的微团作用机制研究进展. 湿法冶金, 2008, 27(2): 72)
- [15] Third K A, Cord-Ruwisch R, Watling H R. The role of iron-oxidizing bacteria in stimulation or inhibition of chalcopyrite bioleaching. *Hydrometallurgy*, 2000, 57(3): 225