

酸碱度和铁离子对毒砂生物氧化作用的影响研究*

陈炳辉^{1,2}, 王智美³, 颜丽¹, 王梦媛¹, 李文¹

- (1. 中山大学地球科学与地质工程学院, 广东 广州 510275;
2. 广东省地质过程与矿产资源探查重点实验室, 广东 广州 510275;
3. 广东药学院公共卫生学院, 广东 广州 510310)

摘要: 毒砂的氧化作用会产生富含 As 的酸性矿山废水 (AMD) 引起了广泛关注, 但 pH 和 Fe^{2+} 离子对毒砂生物氧化作用的影响还不清楚。利用从大宝山 AMD 培养得到的氧化亚铁硫杆菌 (*A. f.*) 和毒砂进行初始 pH2.00、pH3.00 和 pH3.50 为期 30 d 的不含 Fe 培养基有菌氧化、含 Fe 培养基无菌氧化和含 Fe 培养基有菌氧化实验, 通过测定实验过程溶液的总 As 离子、 Fe^{2+} 含量和 pH 值, 获得如下结论: ①不含 Fe 培养基有菌氧化过程, 初始 pH 越低, 实验结果溶液 As 离子质量浓度越高, 初始 pH2.00 比初始 pH3.50 的溶液中 As 离子质量浓度要高大约 15 倍, 即低 pH 可促进毒砂的微生物氧化作用。②含 Fe 培养基会使毒砂生物氧化过程 pH 保持在 4.0 以下进行, 促进毒砂氧化, 提高释放的 As 离子质量浓度。在 AMD 中加入一定的碱性物质来提到 pH 值, 可降低 Fe^{2+} 质量浓度, 抑制毒砂的生物氧化作用, 降低 As 离子的含量。

关键词: 氧化亚铁硫杆菌; 毒砂; 氧化作用; 酸性矿山废水

中图分类号: X5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2014) 06-0073-05

Effects of pH and Fe (II) on Bio-oxidation of Arsenopyrite By *Acidithiobacillus ferrooxidans*

CHEN Binghui^{1,2}, WANG Zhimei³, YAN Li¹, WANG Mengyuan^{1,2}, LI Wen¹

- (1. School of Earth Science and Geological Engineering, Sun Yat-sen University,
Guangzhou 510275, China;
2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Geological Processes and Mineral Resource Survey,
Guangzhou 510275, China;
3. School of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, China)

Abstract: Many studies focus on the oxidation of arsenopyrite which results in the formation of acid mine drainage (AMD) rich of As, but effects of pH and Fe^{2+} on arsenopyrite bio-oxidation are rarely available. A strain of *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*A. f.*) isolated from the AMD of Dabaoshan and a mineral arsenopyrite were used to study the bio-oxidation of arsenopyrite. Experiments were designed to compare the difference between abiotic oxidation and bio-oxidation of arsenopyrite in pH2.00, 3.00 and 3.50 with or without additional Fe^{2+} conditions in a period of 30 days. The concentrations of As ion, Fe^{2+} and pH values during the experiments were determined. The results showed the lower original pH value the higher concentration of As ion in the result solution of bio-oxidation without additional Fe^{2+} . The concentration of As ion in the result solution of the original pH2.00 is about 15 times of that in the original pH3.50. A lower pH value can accelerate the bio-oxidation of arsenopyrite. The additional Fe^{2+} can keep the pH val-

* 收稿日期: 2014-08-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (41373079)

作者简介: 陈炳辉 (1964 年生), 男; 研究方向: 矿床学、表生地球化学; E-mail: eescbh@mail.sysu.edu.cn

ue of bio-oxidation solution in a condition of lower than 4.00, which promotes the bio-oxidation of the arsenopyrite and concentration of As ion in the result solution. The results indicate that adding some alkaline substances in the acid mine drainage to increase its pH value can reduce its Fe^{2+} concentration, decrease the bio-oxidation rate of arsenopyrite and reduce the concentration of As ions.

Key words: *Acidithiobacillus ferrooxidans*; arsenopyrite; oxidation; acid main drainage

硫化物矿物的微生物氧化作用研究被广泛地应用于湿法冶金领域,认为在氧化亚铁硫杆菌 (*A.f.*) 的作用下,硫化物矿物的氧化速度会加快。近年来,国内外学者开始重视酸性矿山环境中 *A.f.* 对黄铁矿、磁黄铁矿、黄铜矿、毒砂等硫化物矿物的生物氧化作用的研究^[1-9],发现在 $\text{pH} < 4$ 的酸性环境中,硫化物矿物以生物化学氧化过程为主,而且铁离子会加速硫化物矿物的氧化^[1-4]。

毒砂 (FeAsS) 是金属硫化物矿床及尾矿中常见的含砷硫化物矿物,毒砂氧化后释放的砷进入水环境会导致严重的生态污染,引起国内学者的关注。郁云妹等研究了毒砂的化学氧化作用与水溶液 pH 的关系,获得毒砂氧化释放的溶解 As 质量浓度随溶液 pH 升高呈 V 字形变化, pH 值在 7~8 之间最低^[8];张珊珊等通过生物氧化和化学氧化的对比试验,探讨氧化亚铁硫杆菌与毒砂相互作用的阶段性和氧化机制^[9];朱婷婷等实验研究了毒砂微生物氧化作用形成的次生矿物类型,指出毒砂在 *A.f.* 作用下的次生矿物主要为铁的硫酸盐、砷酸盐和亚砷酸盐;分析了微生物作用前后毒砂表面 Fe、As 和 S 三种元素的价态变化,探讨了毒砂表面次生矿物成因和 As 的化学态变化^[10]。但不同环境 (如 pH、 Fe^{2+} 含量等) 对毒砂生物氧化作用的影响还不清楚。

本文利用从大宝山多金属矿酸性矿山废水中培养得到的 *A.f.* 菌,研究不同初始 pH 和 Fe 离子含量对毒砂微生物氧化作用的影响,这不仅有助于深入了解毒砂的微生物氧化机理,而且对富砷酸性矿山废水的环境治理等方面有参考价值。

1 材料与方法

1.1 9K 培养基的配置

准确称取 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3.00 g, KCl 0.10 g, K_2HPO_4 0.10 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.50 g, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0.01 g, 双蒸水 600.0 mL, 用 1:1 H_2SO_4 调 pH 为 2.00, 在 121 °C 灭菌 15 min, 配制不含 Fe 的 9K 培养基。

另称取 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 44.30 g 溶于 400.0 mL 双蒸水, 用同样的方法将 pH 调为 2.00, 用孔径为

0.22 μm 过滤器过滤除菌, 然后将其与上述不含 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的 9K 培养基混合, 配制含 Fe 的 9K 培养基。

1.2 氧化亚铁硫杆菌菌悬液

从大宝山尾矿库酸性矿山废水培养得到的 *A.f.* 菌株培养液^[11], 进行加富培养, 用血球计数板计数, 实验用 *A.f.* 的菌悬液的密度达到 1×10^7 个/mL。

1.3 矿物粉末的制备

将毒砂矿样敲碎后, 在立体显微镜下除去多余杂物后, 粉碎到直径小于 0.18 mm (过 80 目筛), 用无水乙醇浸泡 30 min 后, 再用去离子水清洗 3 遍, 放置于真空干燥箱, 设定温度为 50 °C, 2 h 后取出并封存。

1.4 实验过程

所有浸泡实验均在洁净工作台 (洁净等级 100 级) 完成。浸泡实验在 250 mL 的锥形瓶中进行, 矿浆质量浓度为 3 g/mL (100 mL 溶液中含 3 g 毒砂粉末)。将毒砂粉末加入到含有 Fe^{2+} 和不含 Fe^{2+} 的 9K 培养基中, 接种 10% (加入的菌悬液/溶液总体积) 的 *A.f.* 液悬液, 用 1:1 的 H_2SO_4 调节 pH, 分别为 2.00、3.00 和 3.50, 将锥形瓶放置于振荡器 (HZQ-C 空气浴振荡器), 培养温度为 30 °C, 转速为 150 r/min, 每日振荡 20 h。同时进行无菌浸泡的对比实验。定期测定溶液中 As 离子、 Fe^{2+} 质量浓度和 pH 值。

文中样品代号的含义: Y-2、Y-3、Y-3.5 分别表示初始 pH2.00、pH3.00 和 pH3.50, 均为不含 Fe^{2+} 的 9K 培养基, 接种 *A.f.* 浸泡; FeWY-2、FeWY-3、FeWY-3.5 分别表示初始 pH2.00、pH3.00 和 pH3.50, 均为含 Fe^{2+} 的 9K 培养基, 无菌浸泡; FeY-2、FeY-3、FeY-3.5 分别表示初始 pH2.00、pH3.00 和 pH3.50, 均为含 Fe^{2+} 的 9K 培养基, 接种 *A.f.* 浸泡。

1.5 分析测试方法

实验溶液中的阳离子利用 IRIS (HR) 等离子体原子发射光谱仪 (ICP-AES) 分析, pH 值利用 PHS-25 型精密 pH 计测定。

2 实验结果

2.1 浸泡实验过程溶液变化

在含铁 9K 培养基有菌氧化实验中, 初始 pH2.00 的溶液, 前 23 d 颜色变化不大, 后 7 d 颜色变化较为明显, 至第 30 天反应结束, 溶液变为深绿色; 初始 pH3.00 的溶液, 前 23 天变化微弱, 较初始 pH2.00 溶液颜色稍深, 至第 30 天结束, 溶液变为黄绿色; 初始 pH3.50 的溶液变化较为明显, 第 2 天即已变为土黄色, 第 6 天时为黄褐色且有褐色沉淀生成, 至反应结束溶液已变为黄色, 大量沉淀附着于瓶壁和瓶底。

在含铁 9K 培养基无菌氧化实验中, 初始 pH2.00 的溶液, 与加入菌体同等 pH 条件下颜色变化类似, 前 23 d 溶液颜色除稍变浑浊外, 无其他明显变化, 至第 30 天反应结束, 溶液变为深绿色; 初始 pH3.00 的溶液, 前 23 d 变化非常微弱, 可见其逐渐变浑浊的过程, 后 7 d 变化明显, 实验结束, 变为黄绿色, 比加入菌体溶液颜色稍浅, 偏浑浊; 初始 pH3.50 的溶液变化比较特殊, 瓶壁未见沉淀。

在无铁 9K 培养基有菌氧化的实验溶液, 颜色变化不如含铁 9K 培养基溶液明显。初始 pH2.00 的溶液颜色变化比初始 pH3.00 的溶液变化明显, 前 23 d 变化较为微弱, 稍浑浊, 至第 30 天, 前者颜色为深绿色, 色泽鲜艳, 后者颜色明显稍浅, 混杂灰色; 而初始 pH3.50 的溶液, 前 23 d 溶液颜色时候未见变化, 第 23 天开始稍显浑浊, 至第 30 天溶液完全变为深绿色, 且瓶壁有大量沉淀附着。

2.2 浸泡实验过程溶液阳离子质量浓度

浸泡实验过程溶液中 As 离子和 Fe^{2+} 离子质量浓度变化如表 1 所示。

2.3 浸泡实验过程溶液 pH 变化

浸泡实验过程溶液 pH 变化如表 2 所示。

3 讨论

3.1 不同初始 pH 值对毒砂生物氧化溶液 As 离子质量浓度的影响

为了排除 Fe^{2+} 对毒砂生物氧化作用的影响, 利用不同初始 pH 值含菌不含铁培养基实验溶液 As 离子质量浓度变化来讨论不同初始 pH 值对毒砂生物氧化的影响。从图 1 可以看出, 反应前 11d, 各溶液中 As 离子质量浓度变化规律较好, 呈上升趋势, 且初始 pH2.00 的溶液中 As 离子的溶出速率

较快, 初始 pH3.00 和 3.50 的溶液 As 离子质量浓度变化较慢, 到第 11 天, 初始 pH2.00、3.00 和 3.50 的实验溶液中 As 离子质量浓度分别为 616.5, 80.0 和 48.6 mg/L (表 1), 说明反应开始 pH 越低, 毒砂生物氧化速度越快。

表 1 实验溶液中 As 离子和 Fe^{2+} 质量浓度¹⁾

时间/d	Y-2		Y-3		Y-3.5	
	As 离子	Fe^{2+}	As 离子	Fe^{2+}	As 离子	Fe^{2+}
1	159.7	80.1	47.9	3.285	37.1	2.97
3	223.0	119.3	54.25	0.835	42.05	0.48
7	371.3	216.75	62.85	3.67	48.6	0.81
11	616.5	357.6	80.0	5.9	53.5	1.9
17	430.5	98.1	39.0	1.7	458.0	261.2
23	387.0	91.35	631.5	272.1	52.5	5.85
30	847.5	506.5	239.0	51.2	57.0	9.0
时间/d	FeWY-2		FeWY-3		FeWY-3.5	
	As 离子	Fe^{2+}	As 离子	Fe^{2+}	As 离子	Fe^{2+}
1	355.85	3 850	148.4	3 435	288.65	3 430
3	575.0	4 345	322.4	4 110	479.3	3 915
7	765.0	4 494.5	648.5	4 199	637.5	3 947
11	1 142.0	8 260	1 274	8 705	931.5	7 165
17	1 308.0	8 690	1 341	8 725	898.0	7 385
23	1 693.0	9 460	690	7 475	969.0	7 930
30	1 168.0	6 980	1 878	9 090	1 436.0	7 865
时间/d	FeY-2		FeY-3		FeY-3.5	
	As 离子	Fe^{2+}	As 离子	Fe^{2+}	As 离子	Fe^{2+}
1	261.25	3 435	144.1	3 620	57.9	3 830
3	427.9	3 885	321.8	3 725	175.25	3 820
7	684.0	4 303.5	637.0	4 132	374.3	3 093
11	1 138.5	8 195	1 104.5	7 835	472.0	4 813.5
17	1 165.0	8 180	1 029.5	8 065	1 508.5	4 709.5
23	1 340.5	8 500	1 212.5	8 275	1 581.0	3 905.5
30	1 564.5	8 625	1 419.0	7 865	2 550.5	5 510

1) 分析单位: 中山大学测试中心; 第 1、3、7 天测试时稀释 5 倍, 其它测试时稀释 50 倍; 最低检测限: As 为 0.05 mg/L

从第 11-23 天, 各溶液中 As 离子质量浓度变化趋势比较复杂, 这可能与反应一段时间后毒砂氧化释放出的 Fe^{2+} 以及溶液变化过程见到的次生矿物的沉淀有关。但到反应第 30 天, 初始 pH2.00、3.00 和 3.50 的实验溶液中 As 离子质量浓度分别为 847.5, 239.0 和 57.0 mg/L, 三者比例大约为 15:4:1。即反应 30 d 后初始 pH2.00 比初始 pH3.50 的溶液中 As 离子质量浓度要高大约 15 倍。

表 2 浸泡实验过程溶液 pH 值

Table 2 The pH values of the experimental solutions

天数/d	0	1	2	3	4	5	8	12	18	24	30
Y-2	2.00	3.76	3.52	3.32	3.25	3.06	2.72	2.33	2.07	2.09	1.89
FeWY-2	2.00	3.40	3.30	3.26	3.25	3.19	3.14	2.90	2.70	2.54	2.40
FeY-2	2.00	3.41	3.38	3.34	3.28	3.28	3.17	2.92	2.64	2.45	2.34
Y-3	3.00	7.41	7.27	7.23	7.21	7.21	7.12	6.85	6.71	6.73	5.13
FeWY-3	3.00	3.63	3.57	3.49	3.44	3.39	3.3	2.94	2.66	2.55	2.36
FeY-3	3.00	3.67	3.49	3.35	3.26	3.36	3.26	2.96	2.68	2.56	2.39
Y-3.5	3.50	7.54	7.39	7.31	7.30	7.29	7.24	6.97	6.88	6.91	6.80
FeWY-3.5	3.50	3.65	3.48	3.41	3.36	3.37	3.22	2.98	2.73	2.68	2.48
FeY-3.5	3.50	3.60	3.50	3.45	3.35	3.05	2.54	2.15	1.97	1.85	1.78

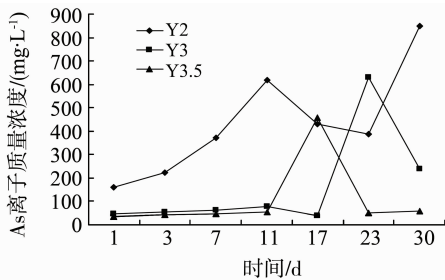


图 1 不同初始 pH 值含菌不含铁培养基实验溶液 As 离子质量浓度变化

Fig. 1 Concentration of As ion in the bio-oxidation experimental solutions without additional Fe^{2+} in different original pH values

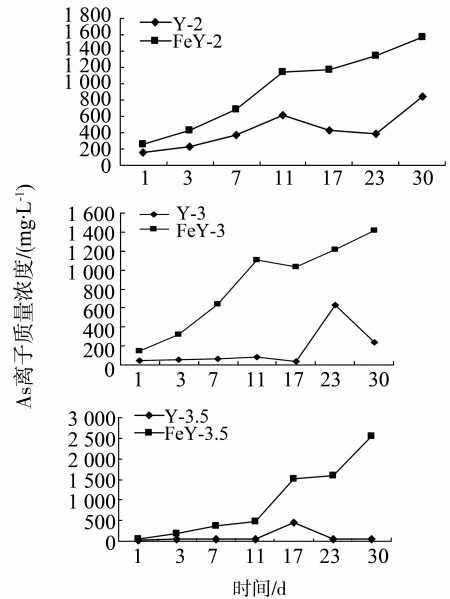
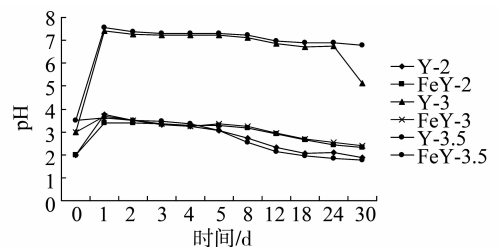
3.2 Fe^{2+} 对毒砂生物氧化作用的影响

图 2 分别对比了初始 pH2.00、3.00 和 3.50 的不含铁和含铁培养基的含菌实验结果, 可以明显看出, 相同初始 pH 的含铁培养基比不含铁培养基的实验溶液 As 离子质量浓度要高得多, 实验 30 d 后, 初始 pH2.00、3.00 和 3.50 的含铁培养基溶液中 As 离子质量浓度 (分别为 1564.5、1419.0 和 2550.5 mg/L) 比不含铁培养基溶液中 As 离子质量浓度 (分别为 847.5、239.0 和 57.0 mg/L) 分别高出约 2、6 和 45 倍。

参照实验结果中实验过程溶液变化情况, 含铁培养基比不含铁培养基实验系列中溶液颜色变化和沉淀情况要复杂, 溶液中 As 离子质量浓度变化未必真正反映毒砂的氧化速率, 但结果还是可以说明 Fe^{2+} 对毒砂生物氧化有明显的促进作用。

3.3 Fe^{2+} 对毒砂氧化作用过程溶液 pH 的影响

从表 2 可以看出有铁培养基无菌 (FeWY2、FeWY3、FeWY3.5) 和有铁培养基有菌 (FeY2、FeY3、FeY3.5) 相同初始 pH 的溶液, 在氧化过程中 pH 变化类似, 并且始终保持 pH 在 4.00 以下。

图 2 不同初始 pH 的含铁培养基和不含铁培养基的含菌实验溶液 As 离子质量浓度变化
Fig. 2 Concentrations of As ion in the bio-oxidation experimental solutions with and without additional Fe^{2+} in different original pH values图 3 不同初始 pH 的无铁有菌和有铁有菌实验溶液 pH 值变化
Fig. 3 The pH values in the bio-oxidation experimental solutions with and without additional Fe^{2+} in different original pH values

对比无铁培养基有菌 (Y2、Y3、Y3.5) 和有铁培养基有菌 (FeY2、FeY3、FeY3.5) 实验结果

(图 3), 初始 pH2.00 的溶液在整个实验过程中, 始终保持 pH < 4.0 的酸性环境, Fe^{2+} 对溶液 pH 变化影响不大。但初始 pH3.00 和 3.50 的溶液, 无铁培养基实验溶液第 1 天后, pH 迅速上升到 7.0 以上, 之后有缓慢下降, 但保持在较高的 pH5.0 ~ 8.0 之间; 而含铁培养基实验溶液中却始终保持 pH 在 4.0 以下, 结果说明 Fe^{2+} 对毒砂氧化过程保持低 pH 溶液起重要作用。

3.4 氧化亚铁硫杆菌对毒砂氧化溶液 As 离子质量浓度的影响

图 4 分别表示出了初始 pH2.00、3.00 和 3.50 的含铁无菌和含铁含菌实验结果, 可见反应的前 11 d, 含菌与不含菌实验溶液 As 离子质量浓度和变化趋势基本一致, 但第 11 天后, 无菌实验溶液 As 离子质量浓度变化比较复杂, 含菌实验液 As 离子质量浓度稳步上升, 而且 30 d 后总体上 (除了初始 pH3.00 第 30 天的数据之外) 含菌实验溶液 As 离子质量浓度比不含菌实验溶液 As 离子质量浓度要高。但从实验阶段的结果来看, 无菌和含菌氧化实验溶液 As 离子质量浓度差别不是很大, 这可能说明 Fe^{2+} 的加入, 改变的溶液的 pH 值 (保持低 pH 值), 对毒砂氧化起更重要的作用。

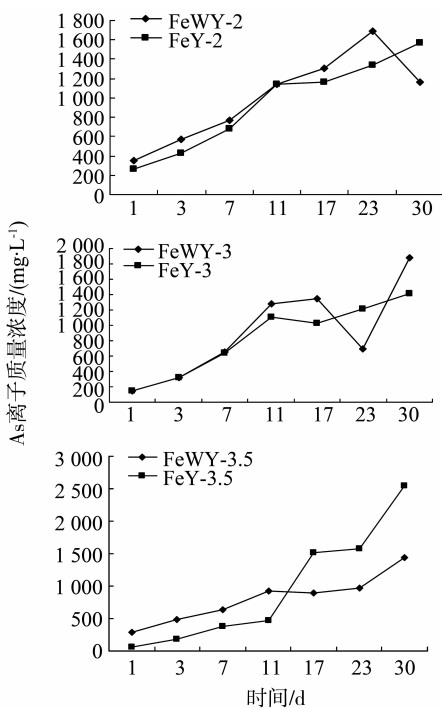


图 4 不同初始 pH 的无菌和

含菌含铁培养基实验溶液 As 离子质量浓度变化

Fig. 4 Concentrations of As ion in the abiotic oxidation and bio-oxidation experimental solutions with additional Fe^{2+} in different original pH values

4 结 论

在初始 pH 为 2.00、3.00 和 3.50 的酸性条件下, 利用 *A.f* 对毒砂进行为期 30 d 的氧化模拟实验, 获得如下结论:

- 1) 在 pH 值为 2.00 ~ 3.50 的极端酸性环境下, 低 pH 可促进毒砂的微生物氧化作用。
- 2) Fe^{2+} 会使毒砂生物氧化过程 pH 保持在 4.0 以下进行, 促进毒砂氧化, 提高释放的 As 离子质量浓度。

致谢: 感谢中山大学地球科学与地质工程学院张恩副教授为本文提供毒砂样品。

参考文献:

- [1] RIMSTIDT J D, CHERMAK J A, GAGEN P M. Rates of reaction of galena, sphalerite, chalcopryrite, and arsenopyrite with Fe (III) in acidic solutions, Environmental geochemistry of sulfide oxidation [J]. American Chemical Society, 1994: 3 - 13.
- [2] JOHNSON D B, HALLBERG K B. Acid mine drainage remediation options: a review [J]. Sci Total Environ, 2005, 338: 3 - 14.
- [3] BELZILE N, CHEN Y W, CAI M F, et al. A review on pyrrhotite oxidation [J]. Geochem, Explor, 2004, 84: 65 - 76.
- [4] SCHIPPERS A, KOCK D, SCHWARTZ M, et al. Geomicrobiological and geochemical investigation of a pyrrhotite-containing mine waste tailings dam near Selebi-Phikwe in Botswana [J]. J Geochem Explor, 2007, 92 : 151 - 158.
- [5] CORKHILL C L, VAUGHAN D J. Arsenopyrite oxidation - A review [J]. Applied Geochemistry, 2009, 24: 2342 - 2361.
- [6] 陆建军, 陆现彩, 王睿勇, 等. 金属矿山环境中矿物的微生物分解及环境效应研究进展 [J]. 高校地质学报, 2007, 13 (4) : 621 - 629.
- [7] 蒋磊, 周怀阳, 彭晓彤. 氧化亚铁硫杆菌对黄铁矿、黄铜矿和磁黄铁矿的生物氧化作用研究 [J]. 科学通报, 2007, 52 (15) : 1802 - 1813.
- [8] 郁云妹, 朱咏焯, 高振敏, 等. 地表条件下毒砂氧化作用与水溶液 pH 的关系 [J]. 矿物学报, 2007, 27 (3/4) : 235 - 240.
- [9] 张珊珊, 周怀阳, 彭晓彤. 氧化亚铁硫杆菌与毒砂相互作用的阶段性及其机理研究 [J]. 地球化学, 2008, 37 (6) : 601 - 614.
- [10] 朱婷婷, 陆现彩, 李娟, 等. *Acidithiobacillus ferrooxidans* 氧化分解毒砂的次生产物研究 [J]. 地球化学, 2011, 31 (4) : 683 - 691.
- [11] 王智美, 陈炳辉, 江春苗, 等. 粤北大宝山酸性矿山废水氧化亚铁硫杆菌及其相关性能研究 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2010, 49 (5) : 146 - 149.