

广东连县红土型金矿中的微生物及对重金属元素的浸出作用^{*}

陈炳辉¹, 刘琥琥², 毋福海², 徐文烈³
(1. 中山大学地球科学系, 广东 广州 510275;
2. 广东药学院, 广东 广州 510224;
3. 中山大学化学与化工学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 对广东省连县观头垌红土型金矿中的微生物进行培养、分离和鉴定, 获得的主要微生物类型有芽孢杆菌属、肠杆菌属、假单孢杆菌属、乳杆菌属、不动杆菌属、气单孢杆菌属、利斯特氏菌属、土壤杆菌属、棒状杆菌属、莫拉氏菌属等细菌, 青霉菌属、交链孢霉属、芽枝霉菌属、酵母菌属和毛霉属等真菌以及化能自养菌(硫杆菌属)。浸出实验表明, 微生物可以加速 Cu、Cd、Zn 的浸出, G⁻菌对 Cu、Zn 的浸出效果明显, 而 G⁺菌对 Cd 的浸出效果较好。

关键词: 微生物; 金矿; 风化壳; 重金属
中图分类号: P593; P618.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2005) 01-0103-04

在与成矿元素有关的风化壳中的微生物研究方面, 近年来国内外已有学者对与金、铀等成矿元素有关的风化壳中的微生物进行培养、分离和鉴定, 培养出各种类型的微生物; 在许多地区发现了土壤中细菌数目与重金属矿床之间的关系, 利用土壤中蜡状芽孢杆菌寻找隐伏金、铜、铀等矿床的研究取得了较大的进展, 对微生物聚金作用的机理也做了初步的研究^[1-6]。

本文着重研究含金的碳酸岩风化壳中存在的微生物类型, 并初步研究了微生物对 Au 和 Cu、Cd、Pb、Zn 等重金属元素的浸出作用, 研究结果有助于了解红土风化壳中存在的微生物和发展这些元素的微生物地球化学理论, 也可为微生物找矿、环境保护等方面提供有益的资料。

1 矿区及采样概况

观头垌金矿为一小型的红土型金矿点, 产于石灰岩的风化壳中, 风化壳厚度 5~8 m, 矿山由农民进行地表剥离露天开采, 对周围环境影响较大。

选择正在开采的两个表土层已剥离的风化壳剖面进行采样, 采样点的分布及层位描述如表 1 所示。

剖面 I, 表土层为黑褐—黄褐色, 主要由腐殖质和粘土组成, 含植物根系。

剖面 II, 全风化层上部为黄褐色; 中部渐变为

红褐色; 下部为褐红色, 局部含半风化的石灰岩碎块。结构疏松, 手捏易碎, 主要由粘土矿物组成。

表 1 采样位置
Tab 1 Sampling positions

剖面编号	样品编号	采样深度/m	层位
I	4	0.5	表土层底部
	3	2	全风化层上部
	2	3.5	全风化层中部
	1	5	全风化层下部
II	4	0.5	表土层底部
	3	1.5	全风化层上部
	2	3	全风化层中部
	1	5	全风化层下部

1.1 培养基的准备
运送增菌培养基: 缓冲蛋白胨水、高氏培养基。

2 种培养基各分装 100 mL 于 250 mL 的烧瓶中, 共装 16 瓶, 其中缓冲蛋白胨水和高氏培养基各 8 瓶。以 7 kg/h 的高压蒸汽灭菌 20 min。

1.2 采样方法
在剖面的每个采样点水平挖进一个高、宽、深 30 cm 的洞穴, 用酒精火焰消毒后, 再用灭菌小铲向内挖深 10 cm, 采集样品约 10 g 分别加入缓冲蛋白胨水和高氏培养基中, 用塞塞紧后摇匀。运回实验室后, 缓冲蛋白胨水放 37℃培养箱培养, 高氏

^{*} 收稿日期: 2004-03-04
基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (990232)
作者简介: 陈炳辉 (1964 年生), 男, 教授; E-mail: cee03@zsu.edu.cn
(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

培养基放 25℃培养箱培养。同时采集各平衡样品约 1 kg，装入胶袋中，备用。

2 微生物分离培养与鉴定

2.1 主要培养基和试剂

2.1.1 分离培养基 牛肉浸液肉汤基础琼脂平板、氧化亚铁硫杆菌培养基平板、高氏培养基平板。

2.1.2 生化反应培养基 糖发酵管, O/F 试验培养基, 卵磷脂酶试验培养基, 明胶液化试验培养基, 尿素酶试验培养基, 淀粉酶试验培养基, 吲哚试验培养基, 甲基红试验培养基, V-P 试验培养基, 枸橼酸盐试验培养基, 硝酸盐还原试验培养基。

2.1.3 试剂 氧化酶, 触酶试剂, 美兰染色剂, 革兰氏染色液。

2.2 实验方法

2.2.1 分离培养 将各样品在缓冲蛋白胨水培养

基和高氏培养基中培养 2 d 后，挑取缓冲蛋白胨水培养基中菌液在牛肉浸液培养基和氧化亚铁硫杆菌培养基平板上划线分离，挑取高氏培养基上菌液接种到高氏培养基平板上划线分离。牛肉浸液培养基平板和氧化亚铁硫杆菌培养基平板放 37℃培养箱培养，高氏培养基放 25℃培养箱培养。之后每天挑取有代表性的不同类型菌落接种于牛肉浸液肉汤斜面、高氏培养基斜面、氧化亚铁硫杆菌培养液。

2.2.2 微生物鉴定

(1) 细菌鉴定。先观察细菌在培养基上的菌落特征、生长情况和颜色等，进行培养特征鉴定；再从肉汤斜面、氧化硫杆菌培养基及高氏斜面中挑选分纯的细菌菌株，进行涂片、染色、镜检，做形态特征鉴定；然后按细菌学鉴定的常用方法进行细菌对碳、氮化合物的分解和利用试验，进行生理生化反应鉴定。鉴定结果如表 2 所示。

表 2 细菌的培养特征、形态特征、生理生化试验及鉴定结果¹⁾
Tab 2 Cultured and morphological characteristics physiological and biochemical testing results of the bacteria

菌株	平板生长情况	生物显微镜 下检查结果	生理生化试验											鉴定 结果
			甘露醇	木糖	乳糖	明胶 液化	卵磷 脂酶	淀粉 酶	山梨 酸	磷酸盐 还原	葡萄 糖	氧化 酶	触酶	
1	菌落圆形, 表面呈蜡样, 边缘不平整。菌落灰白色透明。	G ⁺ 杆状, 有芽孢	—	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—	芽孢杆菌
2	菌落圆形, 表面光滑湿润, 呈白色。	G ⁺ 杆状	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+	+	利斯特氏菌
3	菌落圆形, 表面光滑湿润, 呈灰白色透明。	G ⁺ 杆状, 粗短	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	棒状杆菌属
4	菌落圆形, 表面光滑湿润, 突起呈灰黄色。	G ⁺ 杆状, 菌体细小	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	乳杆菌属
11	菌落圆形, 表面光滑湿润, 呈灰白色。	G ⁺ 杆状, 菌体较短	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	不确定

菌株	平板生长情况	生物显微镜 下检查结果	生理生化试验													鉴定 结果
			甘露醇	木糖	乳糖	氧化酶	触酶	吲哚	甲基红	V-P	枸橼酸盐	H ₂ S 实验	尿素酶	动力试验	OF 实验	
5	菌落圆形, 表面光滑湿润, 呈灰白色。	G ⁻ 短杆状	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+	+	++	肠杆菌属
6	菌落圆形, 表面光滑湿润, 呈白色。	G ⁻ 短杆状	—	—	—	+	+	—	—	—	+	—	+	+	++	假单孢杆菌属
7	菌落圆形, 表面光滑湿润, 呈黄色。	G ⁻ 短杆状	—	—	+	—	+	—	—	—	+	—	+	—	+-	不动杆菌属
8	菌落圆形, 表面光滑湿润, 呈黄色。	G ⁻ 短杆状	—	—	+	+	—	—	—	—	+	—	+	—	++	气单孢杆菌属
9	菌落圆形, 表面光滑湿润, 边缘整齐, 白色透明。	G ⁻ 杆状	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—	+	—	++	土壤杆菌属
10	菌落圆形, 表面光滑湿润, 呈灰白色透明。	G ⁻ 杆状	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++	莫拉氏菌属
12	菌落圆形, 表面呈蜡状, 米黄色透明。	G ⁻ 杆状	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+-	不确定

1) + 表示产酸(糖、醇利用试验中)/能进行分解/正反应; — 表示不产酸(糖、醇利用试验中)/不能进行分解和利用/负反应

(2) 真菌鉴定。从高氏培养基平板中挑取不同类型的真菌接种高氏斜面分纯，观察真菌菌落形态、颜色和光泽，进一步挑菌作小培养，2~4 d 后，镜检孢子头、孢子梗、孢子、菌丝的形态，以作鉴别，结果如表 3 所示。

(3) 自养型细菌鉴定。好氧化能自养菌采用氧化亚铁硫杆菌培养基进行分离培养，进行划线分离后放 25℃培养箱培养 15 d，有圆形、表面光滑、

凸起的菌落生长，革兰氏染色为阴性，菌体细而短。将这种菌落再转种肉汤斜面，有菌生长。根据这些特点，确认其为硫杆菌属。

2.3 结 果

按上述方法对所采的两个剖面各样品中的微生物研究结果，其分布特征如表 4 所示。培养出的微生物类型：细菌 11 种类型共 50 株，真菌 5 种类型共 15 株，自养菌 6 株，另有 3 株未确定菌株。

表 3 真菌培养特征和鉴定结果
Tab 3 The cultured characteristics and identification of the fungi

菌株编号	高氏平板生长形态	小培养镜下观察	鉴定结果
1	菌落生长快，绒状，中间艾绿色	帚状枝为单轮生，分生孢子梗短，分生孢子球形，近球形	青霉属
2	菌落呈绒状，开始浅灰色，以后变灰黑色	分生孢子梗短，分枝或不分枝，分生孢子倒棒状	交链孢霉属
3	菌落呈绒状或絮状，黑绿色	菌丝有隔，有分枝，分生孢子呈链状生长，孢子呈卵型，椭圆型	芽枝霉菌
4	菌落圆形，白色，光滑	镜检为 G ⁺ 球菌	酵母菌属
5	生长极其迅速，疏松絮状呈白色，无假根	菌丝不分隔，较粗，孢子囊球形，有囊轴，孢子圆形	毛霉属

表 4 观头垌金矿 I 号和 II 号剖面中微生物类型及数量（株）
Tab 4 Microorganisms in profile I and II of Guantoudong gold deposit

微生物种类	I-1	I-2	I-3	I-4	II-1	II-2	II-3	II-4	合计
芽孢杆菌属	3	3	3	2	1	2	2	5	21
利斯特氏菌属	0	0	1	0	0	0	1	0	2
棒状杆菌属	0	0	0	0	0	1	0	0	1
乳杆菌属	0	0	0	0	0	0	2	0	2
肠杆菌属	0	1	2	4	0	0	0	0	7
假单孢菌属	0	0	0	3	0	1	0	2	6
不动杆菌属	0	0	0	1	1	1	1	0	4
气单孢菌属	0	1	2	1	0	0	0	0	4
沙雷氏菌属	0	1	0	0	0	0	0	0	1
土壤杆菌属	1	0	0	0	0	0	0	0	1
莫拉氏菌属	0	0	0	0	0	0	0	1	1
青霉菌属	1	1	0	0	2	0	1	2	7
交链孢霉属	1	0	0	0	1	0	1	1	4
芽枝霉属	1	0	0	0	1	0	0	0	2
毛霉属	0	0	1	0	0	0	0	0	1
酵母菌	1	0	0	0	0	0	0	0	1
自养菌	0	0	1	2	0	1	1	1	6
不确定	0	2	0	0	0	0	1	0	3
合计总数（株）	8	9	10	13	6	6	10	12	74

3 微生物对成矿元素的浸出实验

3.1 实验材料和仪器

全风化壳矿样、牛肉浸泡液肉汤培养基、恒温摇床、IRS（HR）型全谱直读等离子体原子发射光

谱仪（ICP—AES）。

3.2 浸泡实验

将采集的剖面 I 的 4 个点位的矿样各 80g 进行研磨到 100 目，混合后，准确称量 10 g 放入含有从剖面中分离出的 G⁺ 菌、G⁻ 菌、自养菌和混合菌的

各培养基中，同时做蒸馏水空白实验；然后放入 25 ℃，20 r/min 摇床培养 7 d 后，用定量滤纸过滤滤液。同时将原混合矿样用王水浸泡后，用定量滤纸过滤。将过滤液用硝酸—高氯酸体系消化，定容。用 ICP-AES 法测定滤液中重金属元素的含量，再转换为每克样品中重金属元素的含量。

3.3 结果与讨论

实验结果如表 5 所示，可见，各种微生物浸泡液中 Au 的含量大多低于仪器的检出限，但与蒸馏水浸泡液相比，所浸出的 Au、Pb 含量减少，Cu、Cd、Zn 的含量增加。结果说明各种微生物可以加速 Cu、Cd、Zn 的浸出作用，其中 G⁻ 菌对 Cu、Zn 的浸出效果最好，而 G⁺ 菌对 Cd 的浸出效果较好；所实验的微生物对 Au、Pb 可能主要起固定富集作用。微生物对风化壳中 Cu、Cd、Zn 浸出结果，会增加周围环境中可溶态重金属的含量，值得注意。

表 5 矿样和各浸泡液中重金属元素的含量¹⁾

Tah 5 Contents of heavy metals in the mixed ore and the leaching liquids $\mu\text{g/g}$

元素	矿样	蒸馏水	自养菌	G ⁻ 菌	G ⁺ 菌	混合菌
Au	0.73	0.04	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.01
Cd	2.840	< 0.003	0.009	0.007	0.014	0.008
Cu	14.89	0.044	0.175	0.418	0.133	0.299
Pb	45.60	0.38	0.21	0.26	0.27	0.12
Zn	45.80	0.346	0.955	1.776	0.409	0.600

1) 测试单位：中山大学测试中心

4 结 论

连县观头垌具金矿化的红土风化壳中的微生物经初步鉴定包括有芽孢杆菌属、肠杆菌属、假单孢杆菌属、乳杆菌属、不动杆菌属、气单孢杆菌属、利斯特氏菌属、土壤杆菌属、棒状杆菌属、莫拉氏菌属等细菌，青霉菌属、交链孢霉属、芽枝霉菌、酵母菌属和毛霉属等真菌以及化能自养菌（硫杆菌属）。微生物可以加速 Cu 和 Cd、Zn 元素的浸出作用，其中 G⁻ 菌对 Cu、Zn 的浸出效果最好，G⁺ 菌对 Cd 的浸出效果较好。

参考文献:

[1] MELCHIOR A. Geomicrobiology applied to mineral exploration in Mexico[J] . J Geochem Explor, 1994, 51: 193—212.

[2] MELCHIOR A, DEJONGHE L, HUGHES G. A geomicrobiological study of soils collected from auriferous areas of Argentina[J] . J Geochem Explor, 1996, 56: 219—227.

[3] PARDUHN N L. A microbial method of mineral exploration: a case history at the Mesquit deposit[J] . J Geochem Explor, 1991, 41: 137—149.

[4] 汤显春, 牛桂兰, 谢树成, 等. 生物矿化—蜡状芽孢杆菌聚金作用的研究[J] . 微生物学杂志, 2001, 21(1): 31—32.

[5] 王红梅, 杨逢清, 周修高, 等. 典型金矿区土壤微生物的找矿潜力评价: 矿化和非矿化因素的综合影响[J] . 中国科学(D 辑), 2002, 32(11): 928—933.

[6] 李红, 张爱云, 申爱丽. 桂西北明山金矿床表生带微生物类群特征及其成矿作用探讨[J] . 地球化学, 2000, 29(1): 50—55.

Microorganisms in Guantoudong Lateritic Gold Deposit and Their Effects on Leaching of Heavy Metals

CHEN Bing hui¹, LIU Hu hu², WU Fu hai², XU Wen tie³

(1. Department of Earth Sciences, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Guangdong Pharmacology College, Guangzhou 510224, China;

3. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Microorganisms in the lateritic profiles of Guantoudong gold deposit in Lianxian, Guangdong were cultured, isolated and identified. The microorganisms include bacteria such as *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Actinetobacter*, *Aeromona*, *Listeria*, *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Moraxella*, and fungi such as *Penicillium*, *Alternaria*, *Saccharomyces*, *Mucor*. The chemautotroph *Thiobacillus* was also isolated. It was shown in a case of leaching experiment that the microorganisms accelerated the leaching of Cu, Cd, Zn, of which the Gram negative bacteria were the most efficient for leaching Cu, Zn but the Gram positive bacteria were better for leaching Cd.

Key words: Microorganism; gold deposit; weathering crust; heavy metals