

# 硅酸盐细菌对磷矿石风化作用机理的探讨

谌书<sup>1,2</sup>

(1. 固体废物处理与资源化省部共建教育部重点实验室(西南科技大学), 四川绵阳 621010; 2. 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵州贵阳 550002)

**摘要** [目的]以1株硅酸盐细菌为例研究微生物对磷矿石的风化作用。[方法]在装有100目磷矿石粉的液体培养基中接种硅酸盐细菌,按不同时间取样处理后,用原子吸收光谱仪测定培养液上清液中Ca<sup>2+</sup>的质量浓度,磷钼比色法测定水溶性磷(DP)的质量浓度;细菌作用后的残留物用电子探针、透射电镜和能谱仪进行分析。[结果]结果表明,硅酸盐细菌对磷矿石粉风化后,培养液中Ca<sup>2+</sup>和DP的质量浓度随作用时间延长而增加,细菌作用后的矿粉颗粒浑圆,边缘模糊不清,菌体及有机物对矿物有较强的剥蚀作用。[结论]经分析认为细菌对磷矿石的风化作用源自细菌生长导致的机械破坏作用、胞外分泌物的生化降解作用以及多种因素之间的协同作用。

**关键词** 硅酸盐细菌;风化作用;磷矿石;机理

**中图分类号** S154.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)33-14733-04

## Discussion on the Weathering Mechanism of Silicate Bacteria on Phosphorite

**CHEN SHU** (Key Laboratory of Solid Waste Disposal and Resource Recycle Built by Guizhou Province and Ministry of Education(Southwest University of Science and Technology), Mianyang, Sichuan 621010)

**Abstract** [Objective] The aim of the research was to study the weathering effect of microorganism on phosphorite ore by taking a strain of silicate bacteria as an example. [Method] Silicate bacteria was inoculated in the liquid culture medium loaded with 100 mesh phosphorite ore. After samples were treated for different time, the mass concentration of Ca<sup>2+</sup> in the supernatant of culture liquid was determined by using atomic absorption spectrophotometer. And the mass concentration of dissolved phosphorus (DP) was determined by phospho-molybdenum colorimetry. The residues were analyzed by electron probe, TEM and EDS after being treated with bacteria. [Result] The results indicated that the mass concentrations of Ca<sup>2+</sup> and DP in the culture liquid increased with the prolonging of inoculation time after the withering of phosphorite ore by silicate bacteria. After withering by the bacteria, the ore powder particles were perfectly round and the edge was fuzzy after the action of bacteria. The bacteria and the organic compounds had stronger erosion action on minerals. [Conclusion] Through the analysis, it was thought that the withering of bacteria on phosphorite ore was from the mechanical breakage of the bacteria growth, the bio-degradation of extracellular secretion and the synergistic action of many kinds of factors.

**Key words** Silicate bacteria; Weathering; Phosphorite ore; Mechanism

硅酸盐细菌是从土壤中分离出的一种能分化铝硅酸盐和磷灰石类矿物的细菌,能使土壤中的不溶性K、P和Si等转变为可溶性元素供植物利用<sup>[1]</sup>。有关硅酸盐细菌对矿物的风化研究国内主要集中在细菌肥料,为土壤提供有效态K和P等;国外利用其进行生物选矿,提取有价值的金属,去除杂质等<sup>[2-3]</sup>。硅酸盐细菌对硅酸盐矿物风化作用机理主要有:①微生物生长导致的生物物理风化作用。硅酸盐细菌生长繁殖形成肥厚的荚膜,分泌大量的胞外多糖,可在矿物表面形成生物膜及细菌-矿物复合体,从而在矿物颗粒表面形成一个特有的相对封闭的微环境,加速矿物的溶解<sup>[4-7]</sup>。②生物化学风化作用即微生物代谢作用造成矿物的风化溶解。主要是分泌到细胞外的无机和有机代谢物,它们可能造成环境pH值降低或络合分解以及细菌产生酶,破坏矿物的晶体结构<sup>[5,8-11]</sup>。③多因素的综合效应风化矿物。连宾研究硅酸盐细菌对钾长石和伊利石的解钾作用后认为该菌对含钾铝硅酸盐矿物的解钾作用既不是由于矿物晶体结构的完全破坏,也不完全是酸的溶解,而应该是多种因素综合作用的结果<sup>[5,10-11]</sup>。硅酸盐细菌具有溶解无机磷的能力,它与土壤的形成与演化、土壤肥力的产生、植物的矿物营养密切相关。目前,对磷矿石的风化作用机理研究不多,微生物对矿物的风化作用机理的研究与试验对象(矿物材料和菌种)和所给的环境条件密切相关。自然界磷灰石矿物主要存在于磷块岩中,笔者选用硅酸盐细菌为试验菌种,试图从细菌对磷矿石的溶蚀作用、细菌作用磷矿石后培养液中Ca<sup>2+</sup>和可溶性磷

的含量变化来探讨细菌对磷矿石风化作用的过程和机制。

## 1 材料与方法

**1.1 菌种** 硅酸盐细菌菌种由中科院地球化学研究所连宾研究员提供。

**1.2 供试矿样** 磷矿石采自贵州省开阳县磷矿区,经X射线衍射分析磷矿石的主要矿物成分为磷灰石,含少量的硅酸盐矿物,其化学成分为CaO 513.7 mg/g, MgO 4.7 mg/g, K<sub>2</sub>O 1.4 mg/g, Na<sub>2</sub>O 3.1 mg/g, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 10.4 mg/g, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 6.3 mg/g, SiO<sub>2</sub> 29.0 mg/g, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 364.6 mg/g, TiO<sub>2</sub> 0.7 mg/g, MnO<sub>2</sub> 0.5 mg/g, 其他65.6 mg/g。

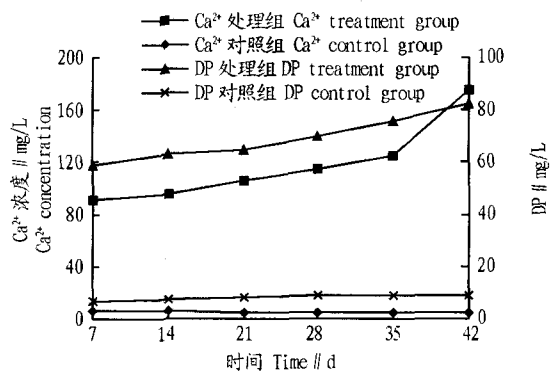


图1 硅酸盐细菌对磷矿石风化作用过程中上清液中Ca<sup>2+</sup>和DP的质量浓度随时间的变化特征

Fig.1 The change characteristics of the mass concentration of Ca<sup>2+</sup> and DP in supernatant with the time during the phosphorite ore weathering process by silicate bacteria

**1.3 培养基** 由于硅酸盐细菌可以固定大气中的氮素,故一般采用无氮培养基<sup>[10]</sup>。笔者通过预备试验发现在无氮培养基的基础上添加少量有机和无机氮源菌体生长会更好,对

**基金项目** 国家重点基础研究发展计划项目(2006CB403200);中国科学院重要方向重大项目(KZCX3-SW-140)资助。

**作者简介** 谌书(1975-),男,重庆云阳人,博士,讲师,从事环境微生物学、微生物地球化学方面的研究。

**收稿日期** 2008-08-21

矿物的风化作用更强。为此,该研究采用有氮培养基,即在无氮培养基基础上添加少量酵母膏(0.20 g/L)和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (0.5 g/L)培养该细菌,并在此培养基中研究其对磷矿粉的风化作用。

**1.4 试验设计** 在250 ml三角瓶中,加入100 ml培养基及磷矿石粉(过100目筛)3 g,121 °C灭菌30 min。冷却后,无菌操作接入事先准备好的细菌悬液1 ml(悬液中细菌个数 $10^7$ 个/ml),同时以培养基不接菌为对照。以上各处理和对照均设定6个重复,25 °C静置培养。

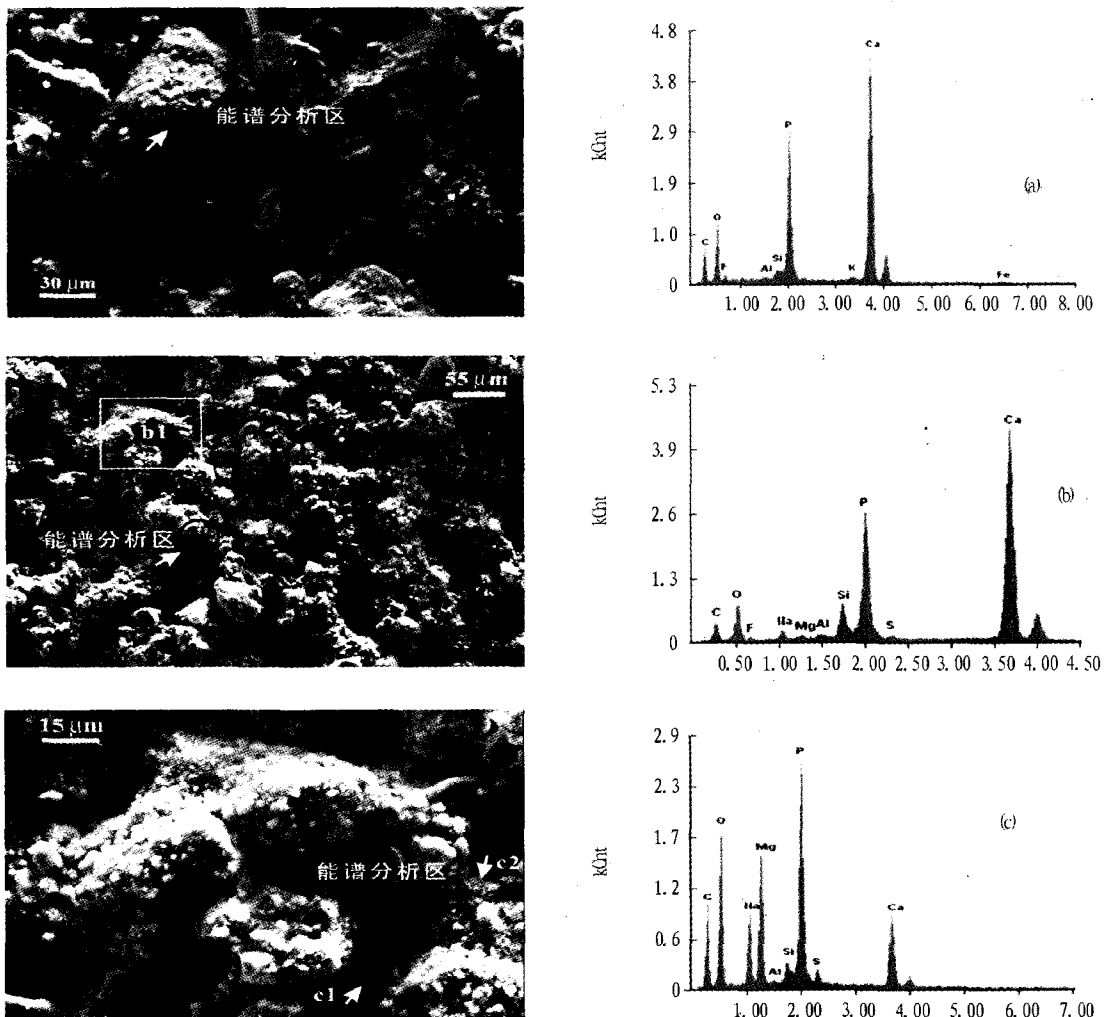
### 1.5 测试方法

**1.5.1 培养液 $\text{Ca}^{2+}$ 、DP的质量浓度测定。**每隔7 d取上清液(分别于7、14、21、28、35和42 d取样,每次取样12瓶,测定后不再使用),将样品用针头过滤器(Millipore, Whatman 滤膜,孔径0.22  $\mu\text{m}$ )过滤,取滤液5 ml置50 ml的容量瓶中定容(稀释10倍)。取5 ml置于小离心管中,加1滴浓硝酸,使其酸

化。用AAS测定 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度(相对标准偏差 $<1\%$ );用磷钼比色法测定DP的质量浓度(相对标准偏差 $<1\%$ )。

**1.5.2 矿物试样溶蚀作用观察。**电子探针和能谱仪分析:细菌作用42 d后的冷冻干燥样品粉末分散在导电胶上,在表面喷镀导电碳膜,最后用电子探针进行分析(日本岛津EPMA-1600型电子探针,仪器的工作参数为:加速电压25 kV,速流0.25 nA,扫描二次电子成像;EDS的工作参数为:加速电压25 kV,速流0.45 nA,束斑直径0.1  $\mu\text{m}$ )。

透射电镜分析菌体-矿物的相互作用:取作用42 d后的液体样品,充分摇匀后,取一小滴液体样品于微筛铜网上,自然晾干后,用透射电镜和能谱仪分析培养液中有物质与矿物作用的微观过程(日本NEC公司JEM-2000FXII透射电镜,仪器工作参数:加速电压160 kV,速流82  $\mu\text{A}$ ;能谱仪:Oxford Link ISIS;EM-ASID 20扫描成像系统)。



注:图中圆形区域为能谱仪分析区;a为未经作用的矿粉;b和c为经细菌风化作用的矿粉。

Note:The round regions were energy spectrometer analysis region;a stands for un-withered mine powder by bacteria;b and c stand for withered mine powder by bacteria.

图2 未经作用的矿粉与作用后矿粉残渣的电子探针分析图

Fig.2 Electron probe analysis on the un-withered mine powder and withered mine residue

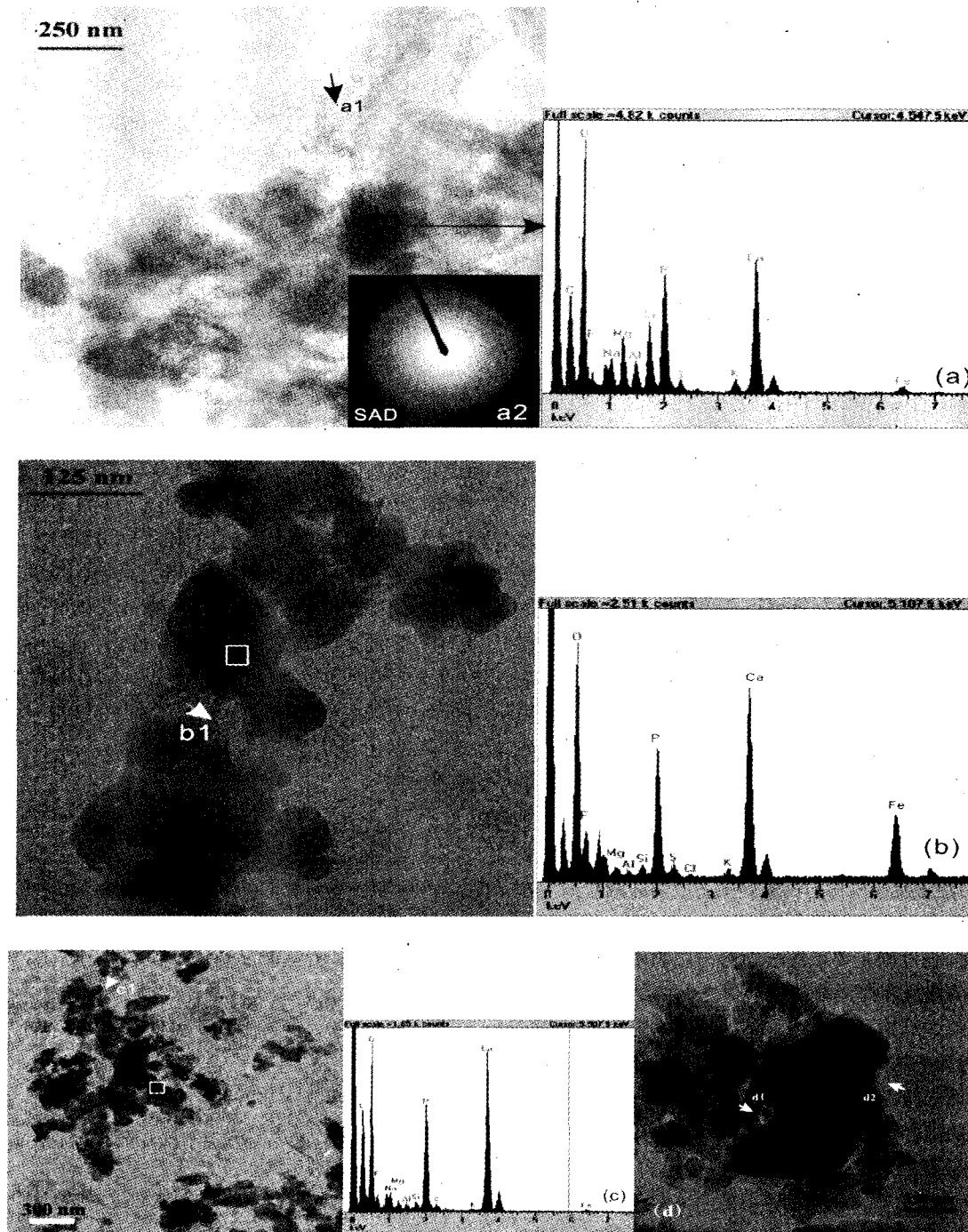
## 2 结果与分析

**2.1 不同培养时间培养液中的 $\text{Ca}^{2+}$ 和DP的质量浓度的变化特征** 培养基中硅酸盐菌对磷矿石粉产生风化作用后,上清液中 $\text{Ca}^{2+}$ 和DP的质量浓度随时间变化特征见图1。由图1可知,细菌与矿粉之间发生风化作用时, $\text{Ca}^{2+}$ 和DP的质量

浓度随培养时间的增加而增大, $\text{Ca}^{2+}$ 质量浓度由第7天的91.84 mg/L增加到42 d的174.73 mg/L, DP质量浓度由第7天的59.08 mg/L增加到第42天的82.63 mg/L。在对照组中 $\text{Ca}^{2+}$ 和DP的质量浓度随培养时间的增加基本保持不变。由 $\text{Ca}^{2+}$ 和DP的质量浓度随时间的增加情况表明,硅酸盐细菌

对磷矿石是具有风化作用的,且随培养时间的延长强度逐渐增加。这与其他学者对硅酸盐细菌对磷灰石的溶解作用的

研究结果一致<sup>[12-14]</sup>。



注:a为矿物被大分子有机物形成生物膜包裹;b为大分子有机物交连矿物颗粒;c为矿物被风化成碎屑状;d为矿物被剥蚀。

Note: a stands for the formed biomembrane wrap of minerals by macromolecular organic compounds; b stands for crosslinking macromolecular organic compounds with mineral granule; c stands for clastic minerals after withering; d stands for denuded minerals.

图3 硅酸盐细菌对矿物风化作用后有机物与矿物相互作用的透射电镜图片

Fig.3 Transmission electron microscopy figure for the interaction between organic compound and minerals after the withering effect of silicate bacteria on minerals

### 2.2 细菌的溶蚀作用

2.2.1 风化作用后残渣的表面形态分析。对未经硅酸细菌作用和作用42 d后的残体进行电子探针扫描及EDS分析,结果见图2(a~c)。图2(a)表示未经作用的矿粉,矿粉颗粒的棱角分明,大小不等,且大矿粉颗粒较多;图中箭头所指的圆形区为能谱仪分析区,结果显示该区域的主要矿物元素为Ca、P和Si等。图2(b)是硅酸盐细菌风化作用42 d后的扫描

图,经风化作用后,大矿粉颗粒已明显减少,且矿粉颗粒的棱角变得不分明,一部分小矿粉颗粒已无法分辨;矿粉颗粒之间被硅酸盐细菌分泌的胞外多糖交连。由于电镜扫描过程中的高真空环境使有机物脱水,此时形成了较多环状的空洞。图中圆形区域为能谱分析区,由能谱分析结果可知,有Na、Mg、S元素的物质产生,S元素是生物有机体的组成成分,Si的量比未经风化作用的矿粉中Si的量增加,可能是由于硅

酸细菌风化磷矿石中硅酸矿物之后, Si 与细菌胞外多糖络合吸附于菌体不易溶于介质导致 Si 含量增加<sup>[15]</sup>。图 2(c) 为图 2(b) 中 b1 区的放大, 可见矿粉颗粒之间完全被多糖类有机物胶结, 如图中 c1 和 c2 处, 胶结处的能谱分析结果表明, O、Na 和 Mg 元素的含量较高, 而 Ca 元素的含量相对较低。大矿粉颗粒表面有 0.1 ~ 5.0  $\mu\text{m}$  大小的颗粒, 这些颗粒为新形成的矿物颗粒或是部分大矿粉颗粒溶蚀后形成的小矿粉颗粒。由风化作用的扫描图分析可知, 硅酸盐菌对磷矿石有较强的风化作用, 且在风化过程中, 细菌产生的胞外多糖类大分子有机物质对矿物风化起促进作用。

**2.2.2 培养液中有机物质与矿物间相互作用过程分析。** 硅酸盐细菌与磷矿石粉风化作用 42 d 后, 培养液中有机成分与矿物间相互作用的微观过程如图 3 所示。图 3(a) 表示矿物被硅酸盐细菌的多糖类大分子有机物包裹形成生物膜, 生物膜内产生强烈的矿物溶蚀作用, 图中颜色较深处为矿物成分, 颜色较浅处为有机成分, 矿物被风化变得已无规则; 图中 a1 处像云雾状物质为多糖类有机物质, 图中矿物完全被这类有机物质粘附、包裹。图中方形区域的能谱分析结果表明, 该区元素组成成份比未经作用时的磷矿石变得更为复杂, 有多种矿物存在; 该区的选区电子衍射电子图的非晶衍射环中出现较多的衍射斑点, 这些衍射斑点由微小晶体所形成, 因此, 在矿物与多糖类物质形成的生物膜中进行着复杂的矿物溶解和新矿物生成的反应。图 3(b) 显示矿物与有机物交联的情形, 矿物晶体在生物膜内已变得浑圆; 图中 b1 处显示矿物晶体之间被有机物交连, 生物膜内的矿物晶体大小在 30 ~ 120 nm。图 3(c) 中有较多 20 ~ 30 nm 左右的矿物悬浮颗粒, 如图中 c1 所示, 通过能谱分析, 小的矿物颗粒为磷灰石晶体, 是由菌体及有机物的机械剥蚀而成。硅酸盐细菌在该研究用培养液中可分泌大量粘性物质从而易与矿物颗粒的粘附、包裹, 强度则主要取决于细菌与矿物两接触体之间形成微接触的数目和作用在两接触体之间的结合力的大小以及矿物材料的结构。菌体细胞是主要的粘附物质, 静电、共价键、氢键和范德华力促进细胞粘附包裹的作用力。在细菌与矿物表面之间存在的各种作用力的帮助下, 使细菌与矿物颗粒之间的结合得到加强, 随着参与相互粘附作用的细菌及矿物颗粒数量的增加, 使之逐渐形成稳定的、难于分开的复合体, 显然在此复合体内部因细菌的不断生长对矿物表面的机械蚀刻作用而加强。如图 3(a) 和 3(b) 所示, 磷灰石(磷矿石中主要矿物) 规则的晶形已变得混圆、边缘模糊不清。此外, 细菌培养液具有特殊物化的环境, 细菌与矿物的界面之间存在很多复杂的物化反应过程, 它们的相互作用导致矿物被溶蚀。连宾等研究硅酸盐菌对钾长石的风化时认为是菌体及多糖类物质与矿物形成复合体, 细菌矿物复合体的形成是细菌行使解 K 作用的关键; 因此, 此处可认为多糖类物质与磷灰石形成复合体也是细菌促进磷矿石风化的主要驱动力。图 3(d) 显示出磷灰石晶体被菌体及有机物“蚕食”的情形, 菌体及其分泌的有机物可能首先从磷灰石晶体的弱面处“进攻”, 慢慢向纵深处发展; 图中 d1 和 d2 处已经被剥蚀成弧形, 且 d1 处还在继续向内部进行侵蚀。在硅酸盐细菌的风化作用下, 矿物所发生的变化应该是逐步的, 从量变到质

变的过程。由于生物的机械蚀刻作用十分微弱, 因此溶蚀作用的进行只能首先选择矿物表面非常脆弱的部分如棱角、微裂隙处发生<sup>[5, 10, 16]</sup>。因而细菌对矿石颗粒风化时, 先从矿物的“薄弱”处进攻。对矿物颗粒进行聚集, 聚集的过程可能是靠细菌的生长和生长过程中所分泌的胞外大分子物质将矿物包裹起来, 慢慢的许多矿物颗粒被聚成一团, 使得矿物在菌体及其分泌物形成的生物膜中发生生化降解作用。通过硅酸盐菌对磷矿石风化的微观过程分析, 菌体及其分泌的胞外多糖类物质与矿物形成复合体是矿物风化的“反应堆”; 风化作用还包括菌体和胞外多糖等大分子物质的剥蚀、粘附和穿插等生物机械作用。

### 3 小结

硅酸盐菌对磷矿石的风化过程中, 菌体及有机物的溶蚀与剥落造成矿物的机械破坏作用; 胞外大分子物质可直接或间接地促进矿物风化, 一方面通过胞外大分子物质的络合作用直接破坏矿物晶格中的某些化学键, 另一方面胞外大分子物质对矿粉颗粒的黏附、剥蚀作用也有利于矿物的风化。可认为胶质芽孢杆菌对磷矿石的风化作用源自细菌生长所致的机械破坏作用、胞外分泌物的生化降解作用以及多种因素之间的协同作用。对胶质芽孢杆菌风化磷矿石的作用机理已有一定的认识, 但有关微生物风化作用过程中所分泌的胞外大分子物质如何参与矿物的风化? 风化过程中形成的中间产物有哪些? 这些胞外大分子物质的结构与功能又如何等问题都还有待于进一步探讨。

### 参考文献

- [1] 蒋先军, 黄昭贤, 谢德体, 等. 硅酸盐细菌代谢产物对植物生长的促进作用[J]. 西南农业大学学报, 2000, 22(2): 116 - 119.
- [2] WILLSCHEER S, BOSECKER K. Studies on the leaching behaviour of heterotrophic microorganisms isolated from an alkaline slag dump[J]. Hydrometallurgy, 2003, 71(10): 257 - 264.
- [3] STYRIAKOVA I, STYRIAK I, KRAUS I, et al. Biodestruction and deferritization of quartz sands by bacillus species[J]. Minerals Engineering, 2003, 16(8): 709 - 713.
- [4] FONTAINE T, WIERUSZESKI J M, TALMONT F, et al. Exopolysaccharide structure from *Bacillus circulans* [J]. European Journal of Biochemistry, 1991, 196: 107 - 113.
- [5] 连宾, 傅平秋, 莫德明, 等. 硅酸盐细菌解钾作用机理的综合效应[J]. 矿物学报, 2002, 22(3): 179 - 183.
- [6] FRIEDRICK S, PLATONVA N P, KARAVAIKO G I, et al. Chemical and microbiological solubilization of silicates[J]. Acta Biotechnologica, 1991, 11(3): 187 - 196.
- [7] WELCH S A, ULLMAN W J. The effect of organic acids on plagioclase dissolution rates and stoichiometry[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1993, 57: 2725 - 2736.
- [8] 孙德四, 张强. 硅酸盐细菌的选育及其脱硅效果研究[J]. 西安科技大学学报, 2006, 26(2): 235 - 239.
- [9] TAUSON E L, VINCIGRADOV E Y. Extracellular enzymes of *Bacillus mucilaginosus* [J]. Mikrobiologiya, 1988, 57(2): 236 - 240.
- [10] 连宾. 硅酸盐细菌 GY92 对伊利石的释钾作用[J]. 矿物学报, 1998, 18(2): 234 - 237.
- [11] 连宾, 陈骏, 傅平秋, 等. 微生物影响硅酸盐矿物风化作用的模拟试验[J]. 高校地质学报, 2005, 11(2): 181 - 186.
- [12] 李玉梅, 王根林, 孙彬, 等. 不同磷钾水平对硅酸盐细菌解钾溶磷能力的影响[J]. 中国农学通报, 2007, 23(5): 258 - 260.
- [13] 贺积强, 李登煜, 张小平, 等. 紫色土硅酸盐细菌的表型特征及溶磷解钾能力[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(1): 71 - 77.
- [14] 林启美, 饶正华, 孙焱鑫, 等. 一株胶质芽孢杆菌 RGBc13 的解磷解钾作用[J]. 华北农学报, 2000, 15(4): 116 - 119.
- [15] 刘五星, 徐旭土, 杨启银, 等. 胶质芽孢杆菌对土壤矿物的分解作用及机理研究[J]. 土壤, 2004, 36(5): 547 - 550.
- [16] MALINOSKAYA I M. The role of *Bacillus mucilaginosus* polysaccharide in the destruction of silicate minerals[J]. Mikrobiologiya, 1990, 59(1): 70 - 78.