

一株浸矿细菌的分离及其对低品位硫化镍铜矿中镍的浸出

熊学权, 季秀玲, 魏云林, 林连兵

(昆明理工大学 生物工程技术研究中心, 云南 昆明 650224)

摘要: 从云南某铜矿井下酸性污水中分离到嗜酸菌株 ynxd-1, 对其形态、生长特性、16S rRNA 基因序列及其对低品位硫化镍铜矿的摇瓶浸出效果进行了研究. 结果表明: 细菌细胞呈短杆状, 革兰氏染色阴性, 不产芽孢, 最适 pH 值及生长温度分别为 2.0 和 30°C. 菌株 ynxd-1 在 10% (W/V) 矿浆浓度及 30°C 温度的条件下摇瓶培养浸出 28 d 低品位硫化镍铜矿镍的浸出率为 56.4%. 16S rRNA 基因序列分析表明, 菌株 ynxd-1 与嗜酸氧化亚铁硫杆菌的同源性达到 99%, 可以鉴定为嗜酸氧化亚铁硫杆菌菌株.

关键词: 生物浸出; 低品位硫化镍铜矿; 16S rRNA 基因; 氧化亚铁硫杆菌

中图分类号: Q937.97 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-855X(2010)02-0020-07

Isolation of Strain Ynxd-1 and Its Leaching Efficiency of Low-Grade Sulfide Nickel and Copper Ore

XIONG Xue-quan, JI Xiu-ling, WEI Yun-lin, LIN Lian-bing

(Research Center of Biological Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650024, China)

Abstract An acidophilic strain ynxd-1 is isolated from an acid copper mine drainage, and its morphology, growth characteristics, 16S rRNA gene sequence, low-grade sulfide nickel and copper ore leaching efficiency are then studied. The result shows that the bacteria cell is rod-shaped, gram-negative and that spore formation is not observed. It grows optimally at 30°C and pH 2.0. After leached with strain ynxd-1 in shaken flask at 30°C for 28 days, the leaching efficiency of low-grade sulfide nickel and copper ore pulp (10%, W/V) reaches 56.4%. On the basis of 16S rRNA gene sequence similarity, strain ynxd-1 is shown to belong to *Acidithiobacillus ferrooxidans*, being related to the type strains of *A. ferrooxidans* (99% similarity).

Key words bioleaching; low-grade sulfide nickel and copper ore; 16S rRNA gene; *Acidithiobacillus ferrooxidans*

0 引言

利用中温嗜酸菌(氧化亚铁硫杆菌 *Acidithiobacillus ferrooxidans*, 氧化硫硫杆菌 *Acidithiobacillus thiooxidans*, 氧化亚铁钩端螺旋菌 *Leptospirillum ferrooxidans*)浸出各种金属硫化矿, 是工业化处理贫矿、尾矿及难选矿最经济的方法之一, 并且已经得到广泛的应用^[1-2]. 细菌浸出-电积联合流程已经成功应用于铀、金、锌、铜及其它金属的提取^[3]. 有关浸出机理^[4-5]、浸出动力学^[6]、浸出影响因素^[7]、工业应用^[8-9]以及浸出反应器结构等已有广泛报道. 目前, 生物浸出多应用于处理低品位黄铜矿, 并取得了可观的经济效益. 在国外, 智利的 Cerro Colorado 铜矿建成了世界上规模最大的次生铜生物堆浸提铜厂, 年产阴极铜 12 万

收稿日期: 2009-05-12 基金项目: 国家自然科学基金项目(项目编号: 30660009); 云南省自然科学基金项目(项目编号: 2005E0068M)资助.

第一作者简介: 熊学权(1977-), 男, 硕士研究生. 主要研究方向: 生物冶金. E-mail: xiongxequan@163.com

[10]. 在国内, 紫金山铜矿已形成第一条地下开采 - 生物堆浸 - 萃取 - 电积千吨级生产线, 累计生产阴极铜 3 209 t 获得客观的经济效益. 但对于低品位硫化镍铜矿的生物浸出, 在国内尚处于实验室研究阶段, 工业化生物浸出也在探索之中.

本研究利用分离获得的 $y_{nxd}-1$ 菌株, 研究其形态、生长特性及系统进化, 并利用该菌株对低品位硫化镍铜矿进行了摇瓶浸出试验, 考察了该菌株对低品位硫化镍铜矿浸出的可行性.

1 实验材料

1.1 菌株

取自云南某铜矿井下酸性污水和淤泥, 采样点污泥表面能看到明显的铁锈色, 取样点的 pH 值为 2.5 ~ 5.0.

1.2 矿样

实验用矿样为低品位硫化镍铜矿, 经 X-衍射及物相分析, 主要矿物成分为: 镍磁黄铁矿、镍黄铁矿、黄铜矿、硫化镍矿、磁铁矿. 矿样中镍、铜的品位分别为 0.83% 和 0.45%, 矿样经细磨后细度 ≤ 0.075 mm.

1.3 培养基

9K 液体培养基^[11]: A 液 (g/L): $(NH_4)_2SO_4$ 3.0, K_2HPO_4 0.5, KCl 0.1, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5, $Ca(NO_3)_2$ 0.01, 去离子水溶解, 调 pH 值 2.0 B 液 (g/L): $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 44.78 去离子水溶解, 调 pH 值至 2.0. A 液于 121°C 高温湿热灭菌 20 min, B 液用孔径为 0.22 μm 的滤膜过滤除菌, A、B 液均匀混合后备用.

9K 固体培养基: A 液 (g/L): $(NH_4)_2SO_4$ 3.0, K_2HPO_4 0.5, KCl 0.1, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5, $Ca(NO_3)_2$ 0.01, 去离子水溶解, 调 pH 值 2.0 B 液 (g/L): $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 44.78 去离子水溶解, 调 pH 值至 2.0 用孔径为 0.22 μm 的细菌滤膜过滤除菌. Gelrite gellan gum 按 1% (W/V) 比例加热搅拌溶于 A 液中, 121°C 高温湿热灭菌 20 min 将溶有 Gelrite gellan gum 的 A 液在 70°C 左右与 B 液混合均匀后倒平板.

2 实验方法

2.1 菌株富集培养和分离

取 90 mL 的 9K 液体培养基于 250 mL 三角瓶中, 接入 10 mL 酸性水样及泥浆的混合物, 在 30°C 的恒温摇床中振荡培养 7 d 左右, 摇床转速为 170 r/min^[12]. 培养至培养液的颜色呈红棕色, 取 0.02 mL 培养液涂布于 9K 固体平板上, 在 30°C 培养 3~5 d 后, 挑取单菌落接入 9K 液体培养基中培养, 如此经三次纯化获得纯菌株命名为 $y_{nxd}-1$, 纯菌株培养液于 4°C 保存, 用于后续实验.

2.2 温度和 pH 值对菌株生长的影响

最适宜生长温度测定方法: 将处于对数生长期的菌株 $y_{nxd}-1$ 培养液 5 mL 接种于 45 mL 的 9K 液体培养中, 分别置于 25°C、30°C、35°C、40°C、45°C 下振荡培养 3 d 利用血球板计数法分别检测细菌数量, 确定最适生长温度.

最适生长 pH 值测定方法: 将处于对数生长期的菌株 $y_{nxd}-1$ 培养液 5 mL 接种于 45 mL, pH 值分别为 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 的 9K 液体培养中, 置于 30°C 下振荡培养 3 d 通过血球板计数法检测其中细菌的数量, 确定最适生长 pH 值.

2.3 菌株氧化活性测定

将处于对数生长期的菌株 $y_{nxd}-1$ 培养液 5 mL 接种于 45 mL 的 9K 液体培养中, 再以 5 mL 的去离子水接入另一 45 mL 的 9K 液体培养中作为对照, 将它们置于 30°C 振荡培养, 每隔 24 h 取出 1 mL 培养液, 用重铬酸钾滴定法^[13-14]测定两者 9K 液体培养液中二价铁含量, 通过测定菌株对二价铁的氧化效率评价其氧化活性.

Fe^{2+} 氧化率 (%) 表示: Fe^{2+} 氧化率 (%) = $(C_0 - C_t) / C_0 \times 100\%$. 其中, C_0 , C_t 分别为溶液中 Fe^{2+} 的初始浓度和最终浓度 (g/L).

2.4 浸矿实验

2.4.1 菌株 *ynxd-1* 对低品位硫化镍铜矿的浸出

在 1、2 号 250 mL 三角瓶中分别加入 90 mL 去离子水和 10 g 矿粉, 各瓶中再分别加入 0.015 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 0.01 g K_2HPO_4 作为营养物, 加浓硫酸调初始 pH 值为 2.0。在温度为 30℃、振荡转速为 170 r/min 的条件下进行酸浸预处理(因矿石中含有氧化矿, 氧化矿的主要成分是碳酸盐, 所以要进行酸浸预处理)。预浸期间, 浸出液的 pH 值波动较大, 用浓硫酸调其 pH 值, pH 值稳定在 2.0 左右时, 在 1 号瓶中接入 10 mL 处于对数生长期的 *ynxd-1* 菌液(接菌浓度为 5.3×10^7 个/mL)进行菌浸, 在 2 号瓶中接入 10 mL 无菌水作为对照与 1 号瓶同步浸出, 蒸发的水分以无菌水补充。

浸出过程中, 每隔 2 d 取一次样, 用 Phs-3c 型 pH 计测定 1 号浸出液的 pH 值及 Eh 值。用血球板计数法^[15]检测 1 号瓶浸出液中细菌浓度。利用紫外分光光度法^[12-13]分析 1、2 号瓶浸出液中镍、铜离子浓度。待浸出结束后, 矿浆经沉淀、去上清、洗涤、干燥等处理得到浸出渣样, 将渣样用浓盐酸、浓硝酸和硫酸溶液(浓硫酸与水按 1:1 体积比混合)溶解(三者的体积比为 3:2:2), 然后过滤, 取一定量的滤液经显色处理, 用紫外分光光度法测其浓度, 换算成品位, 对照原矿样品位, 计算出浸出率。浸出率计算公式表示为:

$$\text{镍、铜浸出率}(\%) = (G_0 - G_i) / G_0 \times 100\%$$

式中, G_0 为原矿品位, G_i 为浸出后渣样品位。

2.4.2 Fe^{2+} 及硫粉对浸出率的影响

由于浸矿细菌是利用 Fe^{2+} 和低价硫作为能源的无机化能自养型细菌^[16-17], 所以在矿浆中添加一定量的 Fe^{2+} 和硫粉, 考察这样是否有助于提高浸出速度。实验在一组 250 mL 三角瓶中进行, 设置了四瓶矿浆, 其中 1 号瓶为对照, 2、3、4 瓶按不同的方式加入硫酸亚铁和硫粉, 如表 1 所示, 其他培养条件均相同。

表 1 Fe^{2+} 及硫粉对浸出率的影响的试验设计

Tab 1 Experiment for analyzing the effects of Fe^{2+} and sulfur on leaching rate

编号	添加物	加入量 /g	体积 /mL	矿浆浓度 /%	培养温度 /℃	接菌量 /%	转速 /rpm	pH 值
1	无	—	—	—	—	—	—	—
2	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.47	100	10	30	10	170	2.0
3	S	2	—	—	—	—	—	—
4	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{S}$	4.47+2	—	—	—	—	—	—

2.5 菌株的 16S rRNA 基因、序列测定及系统发育分析

取 0.02 mL 培养液均匀涂布到 9K 固体平板上, 放入 30℃ 培养箱培养 3~5 d 后可获得单菌落, 用灭菌牙签挑取单菌落转入到 9K 液体培养基中扩大培养, 2~3 d 后培养液变成红棕色, 依次用普通滤纸过滤及 800 g 离心处理 5 min, 除去培养液中的黄钾铁矾类沉淀, 然后再 5500 g 离心 10 min 收集菌体, 菌体沉淀加入 pH 8.0 的 TE 溶液 1 mL 制成菌体悬浮液, 转至 1.5 mL EP 管中, 用小型离心机 12000 g 离心 5 min, 去上清, 沉淀为菌体。

用 DNA 提取试剂盒(购自北京百泰克生物科技有限公司)提取菌体 DNA 基因组。

对提取的 DNA 进行 PCR 扩增^[18]: 利用 16S rRNA 基因的一对通用引物^[19]进行 16S rRNA 基因序列 PCR 扩增, 引物序列如下, 正向引物: 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'(对应 E. coli 序列位置为 8~27); 反向引物: 5'-ACGGCTACCTTCTTACGACTT-3(对应 E. coli 序列位置为 1492~1512)(由上海生工生物工程技术有限公司合成)。PCR 扩增条件^[20]: 94℃ 预变性 4 min; 30 个循环: 94℃ 变性 45 s; 50℃ 退火 45 s; 72℃ 延伸 90 s; 再 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物经胶回收后, 用 Invitrogen 公司生产的 TOPO TA 试剂盒克隆 16S rRNA 基因片段并转化大肠杆菌, 通过菌落 PCR 扩增检测转化产物, 由上海生工生物工程技术有限公司完成测序。

将所测菌株 16S rDNA 序列用 Blastn 程序在 GenBank 中进行相似性比较, 选取相似性较大的序列用 Mega3.1 进行系统发育分析, 用邻接法(Neighbor-Joining)构建系统进化树, 用于检验支持率的重复抽样

次数为 100 次。

3 结果与讨论

3.1 菌株 ynxd-1 的分离及菌体形态特征

细菌液体富集培养液涂布于 9K 固体平板上, 经培养 3~5 d 后, 肉眼可观察到平板上有小菌落隆起生长, 菌落颜色随着培养时间的延长从黄色逐渐过渡到铁锈红色。培养至第 7 d 将平板上的菌落用灭菌的牙签转接到新的平板上培养, 经三次转接纯化后获得 ynxd-1 菌株, 菌株形态经电镜观察可见细胞呈杆状 (图 1), 两端钝圆, 其直径 $0.3 \sim 0.5 \mu\text{m}$, 长度 $1.2 \sim 2.0 \mu\text{m}$ 。菌株的革兰氏染色为阴性。

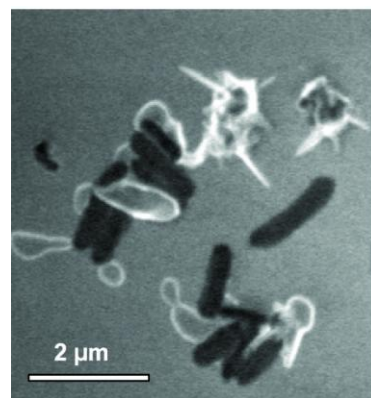


图1 ynxd-1菌株的菌体形态 (bar, 2.0 μm; 放大10000×)
Fig.1 Morphology of strain ynxd-1 (bar, 2.0 μm; 10000×)

3.2 温度对细菌生长的影响

绝大多数生长在矿井酸性废水和污泥浆中的细菌属嗜酸中温菌, 生长温度一般为 $25 \sim 45^\circ\text{C}$ [21-22], 温度对 ynxd-1 菌株生长的影响如图 2 所示。

由图 2 可知, ynxd-1 菌株的最适宜生长温度约为 30°C , 当温度低于 25°C 时, 细菌活力变弱, 生长繁殖缓慢, 当温度高于 40°C 时, 细菌生长受到严重的抑制。

3.3 pH 值对细菌生长的影响

pH 值也是影响细菌生长的重要因素之一, 不同 pH 值对菌株生长的影响如图 3 所示。

从图 3 可以看出, 初始 pH 值对细菌有较大影响, 适合细菌生长的 pH 为 2.0 细菌浓度达到 5.3×10^7 个 /mL, 培养液中细菌浓度达到最大值。当 pH 小于 1.5 时, 细菌生长逐步受到抑制, 当 pH 值大于 2.5 时细菌数量急剧下降, 细菌的最适宜的生长 pH 在 1.8~2.5 之间。

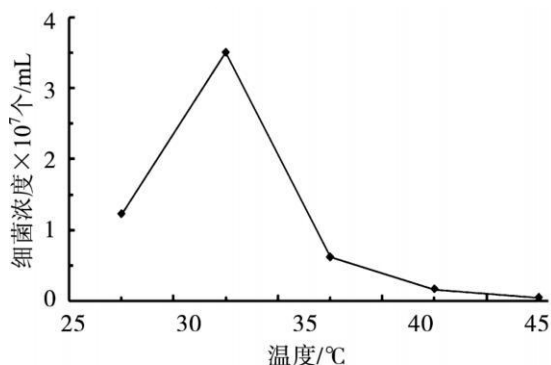


图2 温度对ynxd-1菌株生长的影响
Fig.2 Effect of temperature on growth of strain ynxd-1

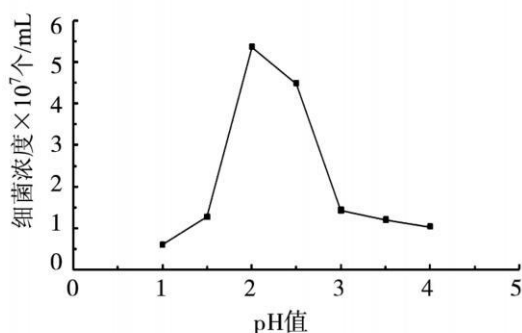


图3 pH对ynxd-1菌株生长的影响
Fig.3 Effect of pH value on growth of ynxd-1 strain

3.4 菌株 ynxd-1 的氧化活性

细菌在生物浸矿中的作用 [23] 之一是将 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} , Fe^{3+} 再作用于矿石使其分解, Fe^{3+} 又被还原成 Fe^{2+} 。细菌的另一作用是把低价硫氧化成高价硫, 形成硫酸以维持浸矿过程中酸性环境。所以细菌对 Fe^{2+} 氧化效率直接影响矿石的浸出速率, 菌株的 Fe^{2+} 氧化速率体现其代谢活性, 菌株对 Fe^{2+} 氧化效率如表 2 所示。

由表 2 可以看出, ynxd-1 菌株对 Fe^{2+} 的氧化率在 24h、48h、72h 分别达到了 21.1%、63.3% 和 98.2%, 随着时间的推移, 氧化率有明显的提高。

表 2 ynxd-1 菌株对 Fe^{2+} 的氧化率

Tab 2 Fe^{2+} oxidation efficiency of strain ynxd-1

菌株	24h 氧化率 / %	48h 氧化率 / %	72h 氧化率 / %
ynxd-1	21.1	63.3	98.2
对照	3.1	5.2	7.2

3.5 *ynxd-1* 菌株对低品位硫化镍铜矿的浸出效果

ynxd-1 菌株浸出率结果见图 4 结果表明: 浸出 28 d 后, 接菌 *ynxd-1* 和对照条件下镍的浸出分别为 56.4% 和 15.7% (注: 前 3 d 为预浸阶段)。菌株 *ynxd-1* 的存在显著地加速了矿粉的溶解, 提高镍的浸出率, 说明该菌株对低品位硫化镍铜矿具有一定的浸出潜力。

3.6 低品位硫化镍铜矿的浸出过程中 pH 值及氧化还原电位的变化

浸出过程中 pH 值及氧化还原电位的变化见图 5

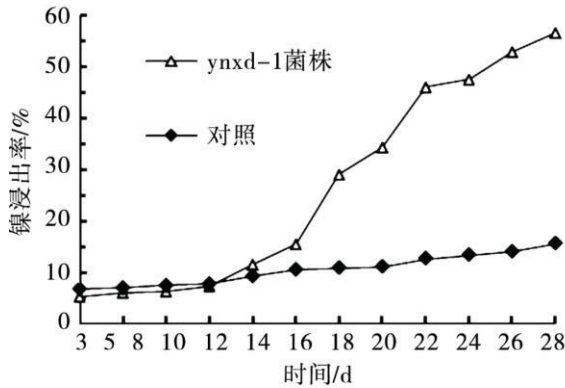


图4 *ynxd-1* 菌株浸出低品位硫化镍铜矿的效果
Fig.4 Low-grade sulfide nickel and copper ore leaching efficiency by strain *ynxd-1*

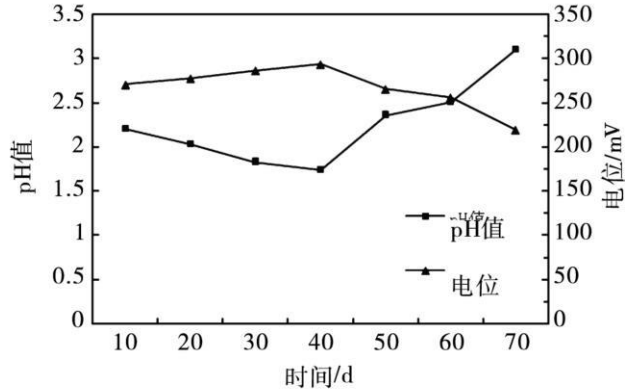


图5 pH 值及氧化还原电位的变化
Fig.5 Changes of pH and oxidation-reduction potential

从图 5 中可知, pH 值先降低后上升, 氧化还原电位先升高后降低, 与 pH 值的变化相反。实验过程中可以观察到, 在接入菌株的 3~5 d 内, 矿浆颜色逐渐变为浅黄色, 随着浸出时间推移, 溶液颜色变得更浅, 最终矿浆经过澄清后颜色变为淡绿色。据文献报道, 硫化镍矿浸出液中氧化还原电位一般都在 500 mV 以上^[24], 氧化还原电位越高, 细菌的氧化活性越强。本次实验浸出液的最高氧化还原电位没超过 300 mV, 浸出过程中氧化还原电位处于较低水平, 但浸出率却依然逐渐增加。氧化还原电位低可能有以下三个原因: ①细菌在浸出不同类型的硫化矿时, 所能达到的氧化还原电位的高低也有一定的差异; ② *ynxd-1* 菌株吸附到低品位硫化镍铜矿矿物表面直接与矿物发生作用使矿物溶解浸, 没有或者少量的将 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} , 张广积^[25]研究了 Fe^{3+} 和细菌对镍黄铁矿的浸出作用, 结果表明: Fe^{3+} 浸出镍黄铁矿的速率很慢, 仅比对照酸浸的速度快, 细菌浸出则快得多, 说明细菌对矿物的氧化直接作用占主导地位; ③由于浸矿体系中存在大量的 NH_4^+ , H^+ , K^+ , SO_4^{2-} 等离子, Fe^{3+} 易与这些离子发生反应而生成铁矾类沉淀消耗 Fe^{3+} 而降低氧化还原电位^[26]。

3.7 Fe^{2+} 和硫粉对浸出率的影响

按照不同的方式向矿浆中加入一定量的硫酸亚铁和硫粉, 经过 25 d 的浸出。结果表明: 加入硫酸亚铁的矿浆颜色先变成红棕色, 但浸出率并没有显著提高, 浸出实验结束后取渣样检测表明 (见表 3), 1 号浸出率最高, 2 号次之, 3 号最低, 说明加入 Fe^{2+} 和硫粉并不能提高浸出率, 反而影响浸出率。原因可能是细菌优先利用 Fe^{2+} 或者硫粉作为能源, Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} , 随着 pH 的升高, Fe^{3+} 水解形成胶体及黄铁钾矾类沉淀包裹住矿物颗粒^[23]; 另外, 加入的相当量的硫粉没有立即氧化为硫酸, 而以胶体和微小颗粒的形式被细菌储存起来^[27], 这些胶体和细小颗粒易于覆盖在矿物颗粒表面上。上述两个原因的存在阻碍了细菌与矿物颗粒的接触, 进而降低了浸出率。

表 3 添加 Fe^{2+} 和硫粉对浸出率的影响

编号	1	2	3	4
添加物	—	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	S	$FeSO_4 \cdot 7H_2O + S$
预浸阶段浸出率 / %	5.44	5.25	5.10	5.13
浸出 15 d 浸出率 / %	33.46	26.53	18.17	24.20
浸出 28 d 浸出率 / %	55.96	51.79	38.8	48.20

3.8 菌株系统发育分析

ynxd-1 菌株的 16S rRNA 基因序列 1500 bp 将该序列提交到 Blastn 进行同源检索分析。检索表明, 该菌株与嗜酸氧化亚铁硫杆菌菌株 (*A. ferrooxidans*) 同源性最高为 99.1%。选取与此序列有相近同源性的菌株的 16S rRNA 基因序列, 利用 M age3.1 软件构建系统发育树, 如图 6 所示。菌株 ynxd-1 与 *A. ferrooxidans* 的 16S rRNA 基因序列基本一致, 可将其鉴定为嗜酸氧化亚铁硫杆菌菌株。

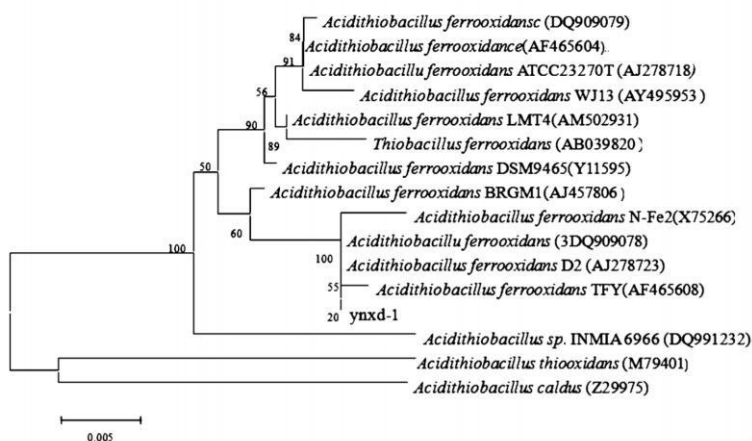


图6 ynxd-1菌株的系统进化分析
Fig.6 Phylogenetic tree of strain ynxd-1

4 结 论

- (1) 分离得到的 ynxd-1 菌株属于嗜酸氧化亚铁硫杆菌, 最适宜生长的 pH 值和温度分别为 2.0、30℃;
- (2) ynxd-1 菌株对亚铁离子具有较高的氧化效率, 培养 72 h 后, 培养基中亚铁离子的氧化率达到了 98.2%, 该菌株具备了浸出硫化矿的能力;
- (3) 在对低品位硫化镍铜矿的摇瓶浸出过程中, 加入亚铁离子和硫粉并不能有效地提高浸出率, 反而影响浸出速度。浸出液的氧化还原电位维持在 250~300 mV, 但浸出率依然能增加, 这可能与矿石的结构成分、细菌的作用方式、浸出液中复杂的化学反应有关;
- (4) 通过对照实验可知, 菌株 ynxd-1 对低品位硫化镍铜矿摇瓶浸出有较好的效果, 有一定的工业应用前景。

参考文献:

- [1] Bartlett R W. Biooxidation heap pretreatment of sulfide refractory gold ore [J]. 1996, 16(2): 89-124
- [2] Smith R W, Misra M. Recent developments in the bioprocessing of minerals [J]. Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review, 1993, 12(1): 37-60
- [3] Poulin R, Lawrence R W. Economic and environmental niches of biohydrometallurgy [J]. Minerals Engineering, 1996, 9(8): 799-810
- [4] Cunniffell F. The formation of biofilms of iron-oxidising bacteria on pyrite [J]. Minerals engineering 1996, 9(10): 1081-1089
- [5] Yelbji R Mirajkar K, Natarajan K. Growth and attachment of Thiobacillus ferrooxidans during sulfide mineral leaching [J]. International journal of mineral processing 1997, 50(3): 203-210
- [6] Miguel N, Herrera Jacques V, Wiertz Paulina Ruiz, et al. A phenomenological model of the bioleaching of complex sulfide ores [J]. Hydrometallurgy, 1989, 22(1-2): 193-206
- [7] 聂树人. “难选冶”金矿石堆浸提金进展 [J]. 四川地质科技情报, 1997, 24-17, 23
- [8] N·普拉德汉, 李长根, 崔洪山. 黄铜矿生物堆浸评述 [J]. 国外金属矿选矿, 2008, 45(6): 2-8
- [9] 周洪波, 曾伟民, 李莹, 等. 硫化矿高温生物浸出工艺研究和应用进展 [J]. 金属矿山, 2006(10): 5-12
- [10] 黄建芬. 生物浸矿技术在铜矿山的应用现状及研究趋势 [J]. 甘肃冶金, 2007, 29(4): 40-42
- [11] 张在海, 邱冠周, 胡岳华, 等. 氧化亚铁硫杆菌的菌落分离研究 [J]. 矿产综合利用, 2001(1): 19-23
- [12] Boon M, Snider M, Hansford G S. The oxidation kinetics of zinc sulphide with Thiobacillus ferrooxidans [J]. Hydrometallurgy, 1998, 48(12): 171-186
- [13] 任浏祯, 覃文庆, 王军, 等. 黄铜矿细菌浸出过程中的多因素影响 [J]. 矿冶工程, 2008, 28(4): 61-65
- [14] 陶德祥. 基础定量化学分析 [M]. 上海: 华东师范大学出版社, 1990
- [15] 钱存柔, 黄仪秀. 血球计数板直接计数法测定微生物生长 [M]. 北京: 微生物学实验教程, 2005, (1): 97-99

- [16] Mikkelsen D, Kappler U, Wehli et al Visualization of pyrite leaching by selected thermophilic archaea: nature of microorganism - ore interactions during bioleaching [J]. Hydrometallurgy, 2007, 88(1-4): 143-153.
- [17] Rohwender T, Gehke T, Kinzler K, et al Bioleaching review part A: progress in bioleaching fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 63(3): 239-48.
- [18] 邹平, 张文彬, 林连兵, 等. 以黄铜矿为主的低品位硫化铜矿生物浸出体系中的细菌优势菌群 [J]. 过程工程学报, 2008, 8(4): 761-767.
- [19] Lane D J, Pace B, Olsen G J, et al Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1985, 82(20): 6955-6959.
- [20] 张兰兰, 邹平, 魏云林, 等. 一株氧化亚铁硫杆菌的系统进化分析及其浸矿效果研究 [J]. 矿冶工程, 2008, 28(4): 77-80.
- [21] Jack Barrett, Hughes M N, Kamavako G L M et al Extraction by Bacterial Oxidation of Minerals [M]. Ellis Horwood, 1993.
- [22] 姚国成, 阮仁满, 温健康. 生物冶金常用浸矿菌种及改良育种的基本方法 [J]. 金属矿山, 2002, (11): 26-29.
- [23] 方兆珩, 柯家骏. 生物浸出低品位镍铜硫化矿 [J]. 有色金属, 2002, (4): 2-20.
- [24] 陈泉军, 方兆珩. 硫杆菌浸出低品位镍铜硫化矿 [J]. 过程工程学报, 2001, 1(1): 49-53.
- [25] 张广积, 方兆珩. 氧化亚铁硫杆菌浸出镍黄铁矿机理的初步分析 [J]. 过程工程学报, 2001, 1(4): 374-377.
- [26] 谢海云, 刘中华, 周峨. 高铁离子浓度下氧化亚铁硫杆菌的生长行为 [J]. 过程工程学报, 2004, 4(1): 43-46.
- [27] Jose A. Rojas-Chapana, Michael Giersig, Helmut Tributsch. The path of Sulfur During the Bio-oxidation of Pyrite by Thiobacillus Ferrooxidans [J]. Fuel, 1996, 75(8): 923-930.

(上接第 19 页)

参考文献:

- [1] Smola B, Stulkova I, Von Buch F, et al Molecular Structural aspects of high performance Mg alloys design [J]. Materials Science and Engineering A, 2002, 324(1-2): 113.
- [2] Mordke B L. Development of highly creep resistant magnesium alloys. Journal of Materials Processing Technology, 2001, 117(3): 391.
- [3] Cathro K J, Deutscher R L, Sharma R A. Electrowinning magnesium from its oxide in a melt containing neodymium chloride [J]. Journal of Applied Electrochemistry, 1997, 27(4): 404.
- [4] Zhang D P, Fang D Q, Wang J, et al Preparation of Magnesium-Rare Earth Master Alloy Using Electrowinning Method with Subsidence Cathode [J]. Materials Science Forum, 2005, 488-489: 235.
- [5] Bratland D, Boe G, Grjothem K. Electrowinning of Yttrium-Aluminum and Yttrium-Magnesium Alloys From Molten Fluorides [J]. Rev. Chim. Miner, 1973, 10(1): 347.
- [6] 贺圣, 李宗安, 颜世宏, 等. YF_3-LiF 熔盐体系中氧化物电解共沉积钇镁合金的阴极过程研究 [J]. 中国稀土学报, 25(1): 120.
- [7] Ranieri IM, Bressiani A H A, Morato S P, et al The phase diagram of the system $LiF-GdF_3$ [J]. Journal of Alloys and Compounds, 2004, 379(1-2): 95.
- [8] Guo C P, Du Z M, Li C R. A thermodynamic description of the $Gd-Mg-Sn$ system [J]. Calphad, 2010, 34(1): 90-97.
- [9] 徐光宪. 稀土(中册) [M]. 北京: 冶金工业出版社, 1995: 168, 129.
- [10] 吴其山. $Nd_2O_3-NdF_3-LiF$ 熔盐体系中电导率及钽溶解度的测定 [J]. 稀有金属与硬质合金, 2006, 34(1): 52.
- [11] 胡宪伟, 王兆文, 罗旭东, 等. 氟化物熔盐中含钽及钽-氧络合离子存在形式的研究 [J]. 稀土, 2008, 29(5): 58.