

氧化亚铁硫杆菌浸出自然铜的条件优化

陈志宝*, 张爽, 晏磊, 阮洪生, 赵蕊, 葛文中, 郑小亮
(黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319)

[摘要] 目的:优化氧化亚铁硫杆菌浸出自然铜的工艺参数。方法:以自然铜浸出率为指标,采用响应面设计法考察矿浆质量分数、pH 及温度对自然铜浸出率的影响。结果:自然铜最佳浸出条件为矿浆质量分数 0.97%, pH 1.82, 温度 34.75 °C, 自然铜浸出率达 82.04%, 与预测值接近。结论:优化的浸出工艺简便、浸出效率高且重复性好。

[关键词] 生物浸出; 氧化亚铁硫杆菌; 自然铜; 响应面法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0038-03

Optimization of Bioleaching Conditions of Pyritum Using *Acidithiobacillus ferrooxidans*

CHEN Zhi-bao*, ZHANG Shuang, YAN Lei, RUAN Hong-sheng, ZHAO Rui,
GE Wen-zhong, ZHENG Xiao-liang

(College of Life Science and Biotechnology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize bioleaching parameters of pyritum using *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*A. f.*). **Method:** With leaching rate of pyritum as index, three variables including concentration, pH and temperature of pulp were investigated by response surface methodology. **Result:** A quadratic polynomial regression model was developed and optimized bioleaching conditions were as follows: pulp concentration 0.97%, pH 1.82, temperature 34.75 °C. Bioleaching rate of pyritum was up to 82.04%, it was close to the predicted value. **Conclusion:** This optimized technology was simple with high bioleaching ratio and good reproducibility.

[Key words] bioleaching; *Acidithiobacillus ferrooxidans*; pyritum; response surface method

自然铜始载于《开宝本草》,《中国药典》及现行中医药高等教材确定自然铜正品基源为黄铁矿,又名硫铁矿。其主要成分为二硫化铁(FeS_2),其中含铁 46.6%,硫 53%,还含有少量的铜、钛、钙、镁、铝、锌,以及微量镍、砷、锰、钡、硒等共计 20 种^[1]。自然铜临床用于骨折、骨坏死、骨质疏松症的治疗,疗效确切^[2]。由于自然铜水溶性极低,传统炮制工艺需将自然铜经火煅、醋淬反复多次后方能入药^[2],致使生物利用度较低。生物浸出是在一定空气、pH、

温度条件下,一些特殊的细菌可将不溶性的硫化矿转变为可溶性的矿石浸出液,然后对所需元素进行回收的技术^[3]。该技术具有实施简单、节能高效、环境友好等特点,得到世界冶金业广泛的推崇和应用。自然铜是典型的硫化矿,恰好满足微生物冶金技术的应用条件。而氧化亚铁硫杆菌的主要代谢过程是将 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} 而获得生长所需能量,该菌也可氧化硫化矿物、元素硫及可溶性硫化物^[4],对溶液中 Cu^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} 等金属离子具有一定的耐受能力^[5]。

响应面分析法是利用合理的试验设计,采用多元二次回归方程拟合因素与响应值之间的函数关系,通过对回归方程的分析来寻求最优条件参数,是解决多变量问题的有效方法之一^[6]。本实验在前期研究氧化亚铁硫杆菌浸出自然铜影响因素的基础上,选取对自然铜生物浸出影响较大的 3 个因素进

[收稿日期] 20121018(011)

[基金项目] 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12511361, 12511362);黑龙江八一农垦大学科研启动基金(B2011-13)

[通讯作者] * 陈志宝,博士,副教授,从事药理学及毒理学研究, Tel: 0459-6819291, E-mail: chenzhibao_2000@sina.com

行考察。应用响应面分析法,以矿浆浓度、pH、温度为响应因子,铁浸出率为响应值,用 Design-Expert 的 Box-Behnken 设计建立响应曲面模型,优化氧化亚铁硫杆菌浸出自然铜的工艺。

1 材料

氧化亚铁硫杆菌 (*A. f* ATCC23270, 美国典型培养物保藏中心), 9K 液体培养基 (组成参照晏磊等^[7]的报道), 所用自然铜购自大庆市药材市场, 经测定其铁含量 5%。

2 方法与结果

2.1 生物浸出试验 向锥形瓶中加入 9K 无铁液体培养基, 用 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ 调 pH, 加入适量已灭菌的自然铜, 按 10% 的接种量接种 *A. f*, 空白对照组不接种 *A. f*。锥形瓶置于不同温度摇床振荡培养 25 d, 每天按质量法用无铁 9K 液体培养基补充蒸发的液体。采用 SnCl_2 法测定总的铁离子含量^[8]。浸出率按照下式计算:

$$\text{浸出率} = (M_1 - M_2) / M_1$$

其中 M_1 为浸出体系自然铜初始铁质量, M_2 为浸出后液体中铁的质量。

2.2 响应面分析^[9-11] 在已完成的单因素试验基础上, 选取矿浆质量分数, pH 及温度为考察因素, 采用 Design-Expert 的 Box-Behnken 中心组合试验设计对浸出工艺参数进行优化, 因素水平见表 1, 试验安排及结果见表 2。

表 1 氧化亚铁硫杆菌浸出自然铜的工艺 Box-Behnken 中心组合试验因素水平

水平	A 矿浆质量分数/%	B pH	C 温度/℃
-1	0.5	1.5	30
0	1.0	1.75	35
1	1.5	2.0	40

通过 Design expert 软件对表 2 数据进行分析, 得拟合方程 $Y = 81.08 - 5.20A + 2.03B + 2.09C - 1.08AB - 0.68AC + 1.08BC - 6.15A^2 - 1.42B^2 - 9.66C^2$, 对回归方程进行可信度分析, 结果 $R^2 = 0.9985$, 变异系数 0.65, 模型误差的平方根 0.47, 说明回归方程的拟合程度很好。由回归模型可知, 一次项和平方项, 特别是 A, B, C, A^2 及 C^2 对响应值的影响显著, 但交互项的影响不显著。说明 3 个因素是二次关系。

2.3 自然铜浸出条件优化 根据回归方程, 作出响应面和等高线, 考察拟合响应曲面的形状, 分析矿浆

表 2 氧化亚铁硫杆菌浸出自然铜的工艺 Box-Behnken 中心组合试验安排

No.	A	B	C	浸出率/%
1	-1	-1	0	75.68
2	-1	1	0	81.62
3	0	0	0	67.57
4	0	0	0	69.19
5	-1	0	1	67.03
6	1	0	1	68.65
7	1	1	0	69.19
8	0	1	-1	75.14
9	0	0	0	67.57
10	-1	0	-1	58.38
11	0	1	1	73.51
12	1	0	-1	61.62
13	1	-1	0	81.08
14	0	-1	-1	80.54
15	0	-1	1	81.62

质量分数, pH 及温度对自然铜浸出率的影响。等高线图直观地反映出各因素交互作用对响应值的影响, 椭圆形表示两因素交互作用显著, 而圆形则与之相反^[9]。见图 1~3。

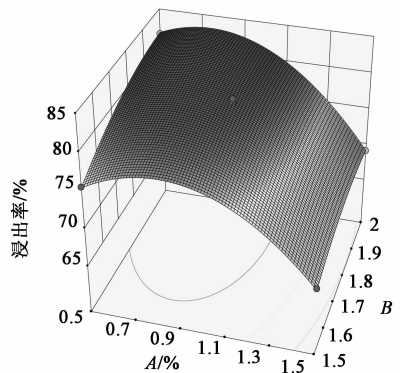


图 1 矿浆质量分数和 pH 对自然铜浸出率的响应面

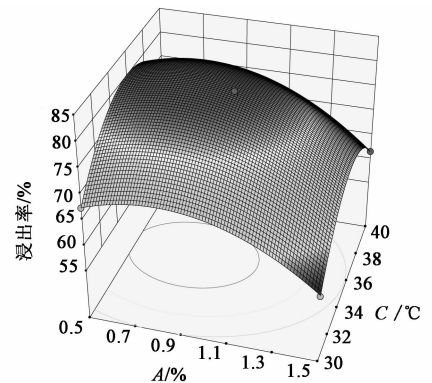


图 2 矿浆质量分数和温度对自然铜浸出率的响应面

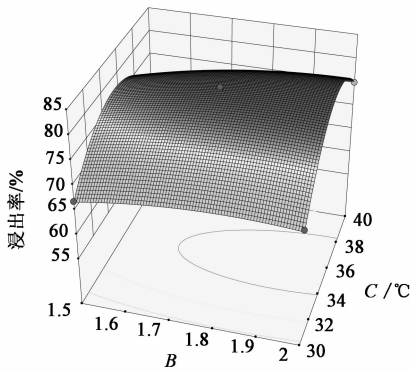


图 3 pH 和温度对自然铜浸出率的响应面

由图 1~3 可知,矿浆质量分数和温度,pH 和温度对自然铜浸出的交互作用显著,矿浆质量分数和 pH 对自然铜浸出的交互作用不显著。由 Design-Expert 软件分析可知,该回归模型存在稳定点,浸出率的最大估计值 81.70%,稳定点(A, B, C)为(-0.057, 0.29, -0.051),即矿浆质量分数 0.97%,pH 1.82,温度 34.75℃。

2.4 验证试验 为进一步验证该模型的准确性和有效性,按优选的浸出条件进行 3 次验证试验,结果浸出率平均实测值 82.04%,与预测值基本相符,表明该模型较准确。

3 讨论

自然铜为接骨方剂中不可或缺的药物,然而其在实际使用中却面临着诸多难题。首先,炮制工艺缺乏严格可控的技术规范,无科学可行的工艺操作。其次,由于自然铜水溶性极低,传统炮制方法需将自然铜经火煅、醋淬反复多次后方能入药,造成了极大的资源浪费。再者,煅淬后的自然铜大多以口服方式入药,造成了对患者肠胃的刺激,且生物利用度低。本实验建立了一种新型、高效、低成本且易于普及的微生物浸出工艺,从根本上改变自然铜传统炮制工艺的局限性,为中药二次开发提供新思路。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:132.
- [2] 庞仁俊. 自然铜浸取及其浸出液的药效研究[D]. 兰州:兰州大学,2000.
- [3] Chen Peng, Yan Lei, Leng Feifan, et al. Bioleaching of realgar by *Acidithiobacillus ferrooxidans* using ferrous iron and elemental sulfur as the sole and mixed energy sources[J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(3):3260.
- [4] Yan Lei, Yin Huanhuan, Zhang Shuang, et al. Biosorption of inorganic and organic arsenic from aqueous solution by *Acidithiobacillus ferrooxidans* BY-3 [J]. *J Hazard Mater*, 2010, 178(1-3):209.
- [5] Leng Feifan, Li Kaiyan, Zhang Xiaoxue, et al. Comparative study of inorganic arsenic resistance of several strains of *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Acidithiobacillus ferrooxidans* [J]. *Hydrometallurgy*, 2009, 98(3/4):235.
- [6] 刘代新, 宁喜斌, 张继伦. 响应面分析法优化副溶血性弧菌生长条件[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(2):306.
- [7] 晏磊, 张爽, 李雪, 等. 氧化亚铁硫杆菌的磁性及铁源种类对磁小体合成的影响[J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2012, 24(1):23.
- [8] 中华人民共和国国家标准委员会. 中华人民共和国国家标准[S]. 北京:中国标准出版社,1986:496.
- [9] 张秀红, 李宏全, 李加高, 等. 响应面法优化钝顶螺旋藻 FACHB-439 多糖提取工艺[J]. *生物技术*, 2010, 20(6):72.
- [10] 梁新丽, 王春柳, 王光发, 等. 响应曲面法优化微博辅助提取淫羊藿中淫羊藿苷工艺[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(1):11.
- [11] 陈莉, 王盛, 魏良兵, 等. 响应面分析法优化复方补乌糖浆微博提取工艺[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(2):25.

[责任编辑 全燕]