

论文

微生物粘附加速钙长石溶解的直接证据: 透析法实验研究

周跃飞^{①②}, 王汝成^{①*}, 陆现彩^①

① 内生金属成矿机制研究国家重点实验室, 南京大学地球科学与工程学院, 南京 210093;

② 合肥工业大学资源与环境工程学院, 合肥 230009

* 联系人, E-mail: rcwang@nju.edu.cn

收稿日期: 2009-12-14; 接受日期: 2010-07-06

国家重点基础研究发展计划(编号: 2007CB815603)、国家自然科学基金(批准号: 40802015)和教育部博士点基金(批准号: 20050284043, 20050284044)资助

摘要 微生物的粘附对矿物的溶解有较大影响. 本文通过对比实验, 利用透析的方法, 系统研究了钙长石与多粘芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)及其大分子代谢产物直接接触和无接触(透析)时的溶解行为. 实验结果表明, 在实验持续的 10 天内, 细菌作用下钙长石的溶解显著加速, 同时伴有纳米级次生沉淀的生成(只在接触实验中)及钙长石表面相对于 Si 贫 Ca, Al 的淋滤层的形成. 对有菌的接触和透析实验, 元素 Ca, Al 和 Si 的溶出特征差异明显, 主要表现为: Ca 在透析条件下的溶出能力显著强于接触条件下, 而 Al 和 Si 正相反. 这一溶出差异性表明, 在机理上钙长石中 Ca 的溶出主要与质子交换作用有关, Al 和 Si 的溶出则主要与配体络合作用优先破坏其架状结构中的 Al-O-Si 键有关. 研究同时表明, 在溶解动力学上, Ca 的溶出主要受表面反应和淋滤层扩散控制, 粘附的细菌会通过抑制表面反应以及 Ca 向溶液中的扩散来影响其溶出动力学; Al 和 Si 的溶出则主要受表面反应控制, 细菌的粘附可以加速该动力学过程.

关键词

钙长石

Paenibacillus polymyxa

粘附

溶解

透析法

自然界的土壤和水体中广泛分布着微生物, 微生物通常会通过范德华力、静电相互作用力、氢键等粘附于矿物、岩石等固体物质表面^[1,2]. 这种粘附作用往往能够直接影响矿物或岩石表面的理化性质, 从而改变其溶解行为^[3-9]. 如粘附于矿物或岩石表面的微生物的代谢物在扩散速率较低时, 会在其周围积聚, 形成“液膜”^[5-7,9]; 同时, 大量微生物及代谢物也可以通过化学键的作用相互交联, 在矿物或岩石表面形成生物膜^[10]. 无论是液膜还是生物膜, 往往均具

有特殊的物质组成及含量(如氢离子、有机配体等), 因此会对矿物或岩石的溶解能力产生较大影响. 以自然界广泛存在的长石为例, 在微生物存在时, 其表面很容易形成液膜或生物膜^[5,8-10], 由于质子交换(即酸解作用)和配体络合是微生物及其代谢物促进长石溶解的两种主要机制^[5,11-14], 因此, 微生物在长石表面的粘附对长石溶解具有重要影响^[8-10].

然而, 目前关于微生物粘附影响长石溶解的研究大多还停留在定性描述阶段. 这是因为在长石-溶

液-微生物三相系中, 微生物通常通过三种方式影响长石溶解: (1) 与长石接触时的粘附效应; (2) 与代谢产物一同进入溶液, 通过改变溶液理化性质(pH、有机配体种类及浓度等)影响长石溶解的溶液效应^[5,9,10]; (3) 可能存在的粘附效应和溶液效应的协同效应. 而在通常的室内模拟实验中, 长石和微生物在溶液相中是直接接触的^[8-10], 这样的实验设计难以区分溶液效应和粘附效应(以及可能的协同效应), 其结果是使得在探讨粘附对长石中不同元素溶出的作用机制(质子交换和配体络合)时, 难以消除溶液效应的影响, 进而通过定量的方式进行解释. 此外, 在溶解动力学上, 由于液膜或生物膜的存在, 长石中各元素的溶出动力学模式可能也会发生改变, 已有的动力学模式如表面反应控制、扩散控制、淋滤层-表面反应控制等^[15-20], 是否仍适用于粘附条件下的溶解, 也还有待研究.

据此, 为有效区分微生物影响长石溶解的溶液效应和粘附效应, 本文在前人实验研究的基础上^[10], 改进实验设计, 引入透析方法^[21], 通过对比多粘芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)直接接触和无接触条件下长石溶解行为的差异, 研究微生物及其代谢产物的粘附行为在长石溶解过程中的作用, 并探讨粘附作用的动力学意义.

1 实验材料及方法

1.1 实验材料

实验用钙长石挑选自福建莆田岱前山层状角闪辉长岩. 供试长石的粒径约 80~200 目($d=0.075\sim 0.180$ mm), 其中 An 的质量百分含量约 90%^[22]. 实验前先用酒精超声清洗 5 次(每次 10 min), 然后在 pH=4.0 的稀盐酸溶液中浸泡 2 h, 再用去离子水超声清洗至溶液澄清. 最后将钙长石在 70℃ 下烘干后使用.

实验用细菌为多粘芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*), 选取该细菌作为实验菌的依据是该菌株为表生条件下广泛存在的化能异养型兼性厌氧菌, 与一般的化能异养菌相似, 其在生长过程中能产生大量的有机酸(如甲酸、乙酸、乳酸、柠檬酸)及多聚糖等, 这些产物和细菌自身均有可能促进矿物溶解, 如已有研究表明该细菌及其代谢产物对铝土矿中杂质 Ca 的溶出具有显著促进作用^[23]. 因此, 选用该细菌, 可以更真实地反应自然界的地质微生物过程^[23-25]. 细

菌购自中国普通微生物菌种保藏管理中心(CGMCC). 菌种经活化后用牛肉蛋白培养基(牛肉膏 0.3%, 蛋白胨 1%, NaCl 0.5%)(W/V)(根据 CGMCC 的建议培养基配制)进行连续培养后保存待用.

为了有效阻止细菌及其高分子量代谢物(如多聚糖)粘附在长石表面, 本实验使用透析袋包裹钙长石颗粒. 透析袋的材质为纤维素聚酯, 孔径为 14000(即只能透过分子量低于 14000 的物质, 物理孔径约 25 Å). 多粘芽孢杆菌代谢产生的高分子量代谢物主要为多聚糖, 多为分子量在 17000 左右的中糖(约占多聚糖质量的 80%)和糖醛酸(约 16.5%)^[25], 因此细菌及其多聚糖类代谢物均不能通过透析袋与矿物直接接触. 实验前, 首先将透析袋在 2%(W/V)的 NaHCO₃ 和 1 mmol L⁻¹ 的 EDTA(pH=8.0)中煮沸 10 min, 用去离子水清洗后, 再于 1 mmol L⁻¹ 的 EDTA (pH=8.0)中煮沸 10 min, 用二次去离子水清洗后备用.

1.2 实验方法

本研究设计了三组实验: ① 无培养基、无透析袋的无菌实验(编号 a1); ② 有培养基、有细菌, 不使用透析袋实验(编号 a2); ③ 有培养基、有细菌, 使用透析袋实验(编号 a3). 每组实验做三个重复.

具体实验步骤为: 首先称取钙长石 9 份, 每份 0.80 g, 其中 3 份装入透析袋并用橡皮筋封口; 将 9 份钙长石样品连同配制好的改性布氏培养基(蔗糖 0.5%, 酵母膏 0.02%, KH₂PO₄ 0.05%, (NH₄)₂SO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.015%)(W/V)^[26]在 121℃ 的条件下蒸汽灭菌 20 min; 将灭菌后的培养基分装入已消毒的聚乙烯三角瓶中, 每瓶 100 mL, 其中三只直接加入经灭菌的钙长石粉末(a2), 另三只加已装入透析袋的灭菌长石(a3); 量取 2 mL 经牛肉蛋白培养基培养的 *P. polymyxa* 菌液, 以 5000 rpm 的速率离心分离 10 min 后, 使用无菌二次水清洗分离出的沉淀物 5 遍, 随后将之接种到实验的三角瓶中; 此外, 尚需使用灭菌二次水加等量钙长石的方法做无菌对比实验(a1). 将所有三组 9 个三角瓶置于恒温摇床上, 在 30℃, 100 rpm 的条件下进行 240 h 的连续溶解实验.

1.3 取样及测试方法

在实验过程中, 分别在第 0, 18, 48, 96, 168 和 240 h 时取样, 每次取上清液 5 mL, 测定 pH 值. 为了脱附细菌及其代谢产物表面吸附的 Ca, Al 及 Si, 溶液

随后用 $1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ 酸化至 $1.00 < \text{pH} < 2.00$ ^[27], 酸化溶液放置 1 h 后(中间间歇摇振以使脱附充分), 在高速离心机上以 10000 rpm 的速度离心 10 min, 抽取上清液采用电感耦合等离子发射光谱(ICP-AES)法测定 Ca, Al, Si 浓度. 仪器型号为 JY38S, 测试精度为: Ca 0.75 nmol L^{-1} , Al $0.15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, Si $0.11 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

为了考察长石溶解前后表面化学结构的变化, 将残余钙长石烘干后进行微区激光拉曼光谱测试, 仪器型号为 Renishaw RM2000, 采用 Ar 离子激光器为激发光源, 激光波长为 514 nm, 狭缝宽 $40 \text{ } \mu\text{m}$, 扫描波数范围为 $100 \sim 1200 \text{ cm}^{-1}$, 扫描时间为 10 s. 为了观察实验前后长石的表面形貌变化, 将反应前后的长石冷冻干燥后进行扫描电镜观察. 采用的仪器为 JSM-6300 型扫描电子显微镜, 测试条件为: 加速电压 20 kV, 流速 $80 \text{ } \mu\text{A}$.

ICP-AES 和激光拉曼测试在南京大学内生金属矿床成矿机制研究国家重点实验室进行, 扫描电镜观察在中国科学院南京地质古生物研究所现代古生物学和地层学国家重点实验室进行.

2 实验结果

2.1 细菌生长与溶液 pH 值

根据周跃飞等^[28]在同样培养条件下测定的 *P. polymyxa* 生长曲线, 在培养约 18 h 后, 细菌进入生长稳定期, 此时的最大细菌量约为 $(1 \sim 2) \times 10^7 \text{ 个 mL}^{-1}$, 48 h 后进入衰亡期.

无菌实验(a1)的 pH 值在整个实验过程中变化不大(图 1). 有菌实验中, 溶液 pH 值随细菌生长出现有规律的变化: 在 0~18 h, 从 7.0 迅速下降至 4.3; 18 h 后, 下降速率变缓并逐渐趋于稳定; 96 h 后开始缓慢升高, 其中实验 a2 的升高幅度(到结束时升高了约 0.3)比 a3 小(到实验结束时升高了约 1.0). pH 值在实验后期逐渐升高的现象, 与 Welch 等^[29]的发现相似.

2.2 元素浓度

图 2 表示了实验溶液中钙长石的三种主要元素(Ca, Al, Si)浓度的变化情况. 可以看出, 总体上, 实验结束时三种元素的浓度均在有菌条件下增加更多. 从浓度变化过程上看, 无菌条件下各元素浓度变化不具有阶段性, 而有菌条件下各元素浓度变化阶段性明显, 具体体现为:

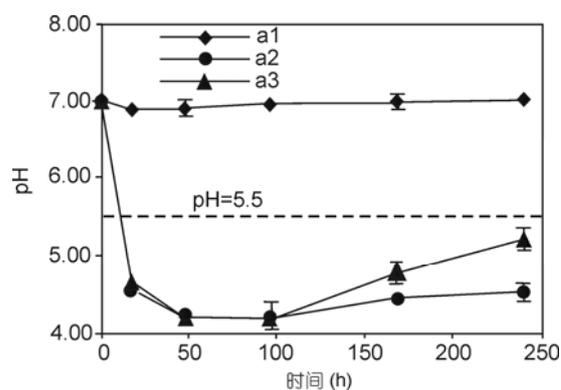


图 1 实验溶液 pH 随时间的变化

(1) 无菌实验. 实验初始时候 Ca 浓度增幅较大, 随后则逐渐降低, 到实验后期浓度几乎不再变化(图 2(a)), 浓度随时间的变化具有对数特征(表 1). Al 和 Si 的浓度则保持较低的恒定增幅(图 2(b)), 浓度-时间总体上呈线性关系(表 1). 实验结束时 Ca 浓度增加最多, Al 和 Si 均增加较少.

(2) 有菌实验. 三种元素浓度变化均可显著分为两个阶段, 即初始的 18 h (与细菌生长的迟缓期和对数生长期相对应)和之后的时间段(与细菌生长的稳定期和衰亡期对应). 在初始 18 h, 三种元素浓度变化均不大; 18 h 后, 各元素浓度均明显上升. 这种浓度变化的阶段性与 Hutchens 等^[30]的实验结果相似. 在第二阶段, 三种元素浓度变化的特征与无菌条件下相似, 即 Ca 的浓度上升速率为开始较大, 随后逐渐降低, 浓度-时间具有对数关系, Si 和 Al 保持稳定上升, 浓度-时间具有线性关系(表 1). 实验结束后 Ca 浓度上升最多, Si 次之, Al 最少. 接触和透析实验中三种元素浓度变化规律均相似, 两组实验的差异性主要体现为实验结束时, Ca 在透析实验中浓度增加更多, 而 Al 和 Si 在接触实验中浓度增加更多.

2.3 表面形貌

利用扫描电子显微镜对钙长石样品在实验前后的微区形貌进行了观察. 从图 3(a)及 3(b)可以看出, 溶解前的钙长石表面棱角比较分明, 粗糙度较高. 无菌条件下溶解 10 天后, 钙长石表面变得较为平整, 其表面的微细颗粒状突起也变得圆滑(图 3(c), (d)), 但与实验前的长石相比, 二者微形貌差异不甚显著. 对有菌实验, 则无论是在接触还是透析模式下, 钙长石的表面形貌均发生了比较明显的变化(图 3(e), (g)).

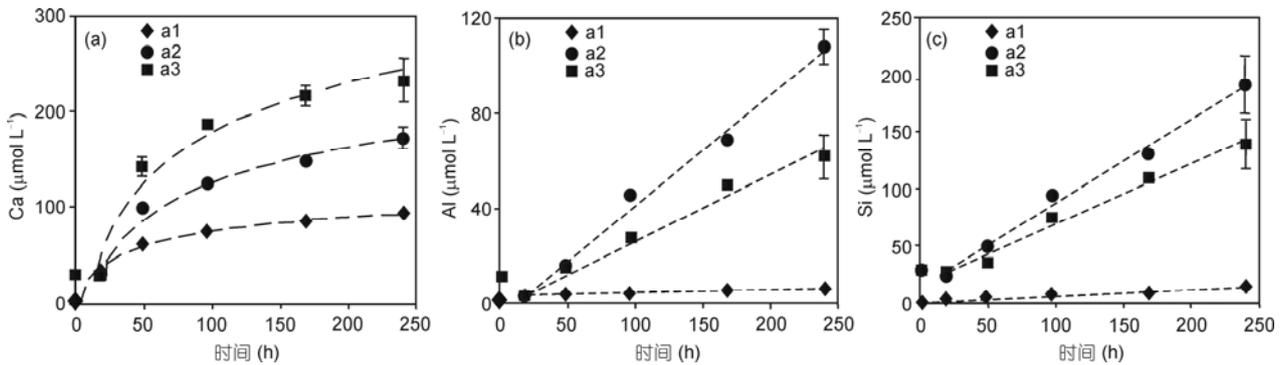


图2 元素浓度随时间的变化

虚线为元素浓度-时间拟合曲线, 实验 a1 为 0~240 h 的拟合, a2 和 a3 为 18~240 h 的拟合, 拟合方程见表 1

表1 溶液中各溶出元素浓度(C)-时间(t)拟合方程及相关系数(R²)^{a)}

元素	拟合方程	R ²	浓度变化速率方程 ($r=dC/dt$)
Ca	$C_{a1}=21.8\ln t-25$	0.99	$21.8/t$
	$C_{a2}=54\ln t-123$	0.98	$54/t$
	$C_{a3}=75.7\ln t-169$	0.97	$75.7/t$
Al	$C_{a1}=1.27\ln t-0.89$	0.86	$1.27/t$
	$C_{a2}=0.47t-5.4$	0.99	0.47
	$C_{a3}=0.28t-2.1$	0.97	0.28
Si	$C_{a1}=0.05t+1.68$	0.91	0.05
	$C_{a2}=0.73t+15$	0.99	0.73
	$C_{a3}=0.52t+18.8$	0.98	0.52

a) C 的单位为 $\mu\text{mol L}^{-1}$, t 的单位为 h

图 3(e)为接触实验后的钙长石表面微形貌, 可以显见棱角处(图中 A 所示的位置)变得比较圆滑; 同时, 接触实验中的钙长石表面还出现沉淀现象(图 3(e), (f)), 在钙长石表面较光滑的断面平台上, 大量粒径约 100~200 nm 的微球粒沉淀于矿物表面. 图 3(g)是透析实验后的钙长石表面微形貌, 在机械破碎较强烈的地方(图中 B 所示的位置), 长石因溶解而残余了许多粒径在 100~200 nm 的微细颗粒(图 3(h)). 图 3(f)和 (h)的微细颗粒在粒径和形貌上具有相似性, 但二者在聚集特征上有较大差异, 前者呈葡萄状无序堆积, 后者为串珠状残余体, 这表明二者在成因上是不同的.

2.4 激光拉曼光谱

使用激光拉曼光谱对实验前后长石表面结构进行了微区分析, 结果如图 4 所示. 图中 503 cm^{-1} 处最强峰是钙长石的特征峰^[31]. 在中低波数区域(100~900 cm^{-1}), 各样品的拉曼谱峰其强度和位置基本相同. 在 900~1200 cm^{-1} 高波数段主要出现三个峰: 905,

975 和 1070 cm^{-1} . 对细菌作用后的样品, 这几个峰出现了相对于原样和无菌样的一些变化. 强度上, 峰强普遍减弱, 其中尤以接触实验的 905 cm^{-1} 峰和透析实验的 1070 cm^{-1} 峰为甚; 峰位上, 细菌作用后样品的 975 cm^{-1} 峰向高频方向偏移了约 3 个波数, 而无菌溶解实验后的样品只出现相同方向 1 个波数的偏移.

3 讨论

3.1 细菌对长石溶解的影响

由实验结果可知, 在无菌实验中, 经过 10 天的溶解, 不仅溶液中 Ca 浓度出现了一定程度的增加, 同时矿物表面变得比较光滑, 相关的拉曼谱峰也产生了一定的位移, 这些现象均表明钙长石在中性水溶液中也具有一定的溶解能力. 但是, 值得注意的是, 由于曾将样品进行过酸处理, 该过程可能曾导致许多 H^+ 吸附到矿物表面, 在清洗时由于没能充分脱附, 因此这部分残留的 H^+ 会在随后的实验中加速长石的溶解. 因此, 尽管本研究设定的初始溶液 pH 为 7.0, 但矿物表面 H^+ 浓度是高于溶液中浓度的, “吸附性 H^+ ”的存在及其对矿物的溶解导致出现“质子交换作用导致了 Ca^{2+} 的溶出, 但溶液 pH 却保持中性”的矛盾现象.

然而, 与无菌实验相比, 有菌实验中不仅溶液中各元素浓度上升更多, 而且矿物表面变得更加平整, 此外, 还形成了次生沉淀(接触实验)并且长石表面结构也发生了更大的改变(拉曼光谱结果), 这些现象均反映了细菌及其代谢产物能显著加速长石溶解. 在接触实验中, 溶解产物除以可溶态存在外, 还以次生沉淀物的形式附着于矿物表面(图 3(e), (f)), 在透析

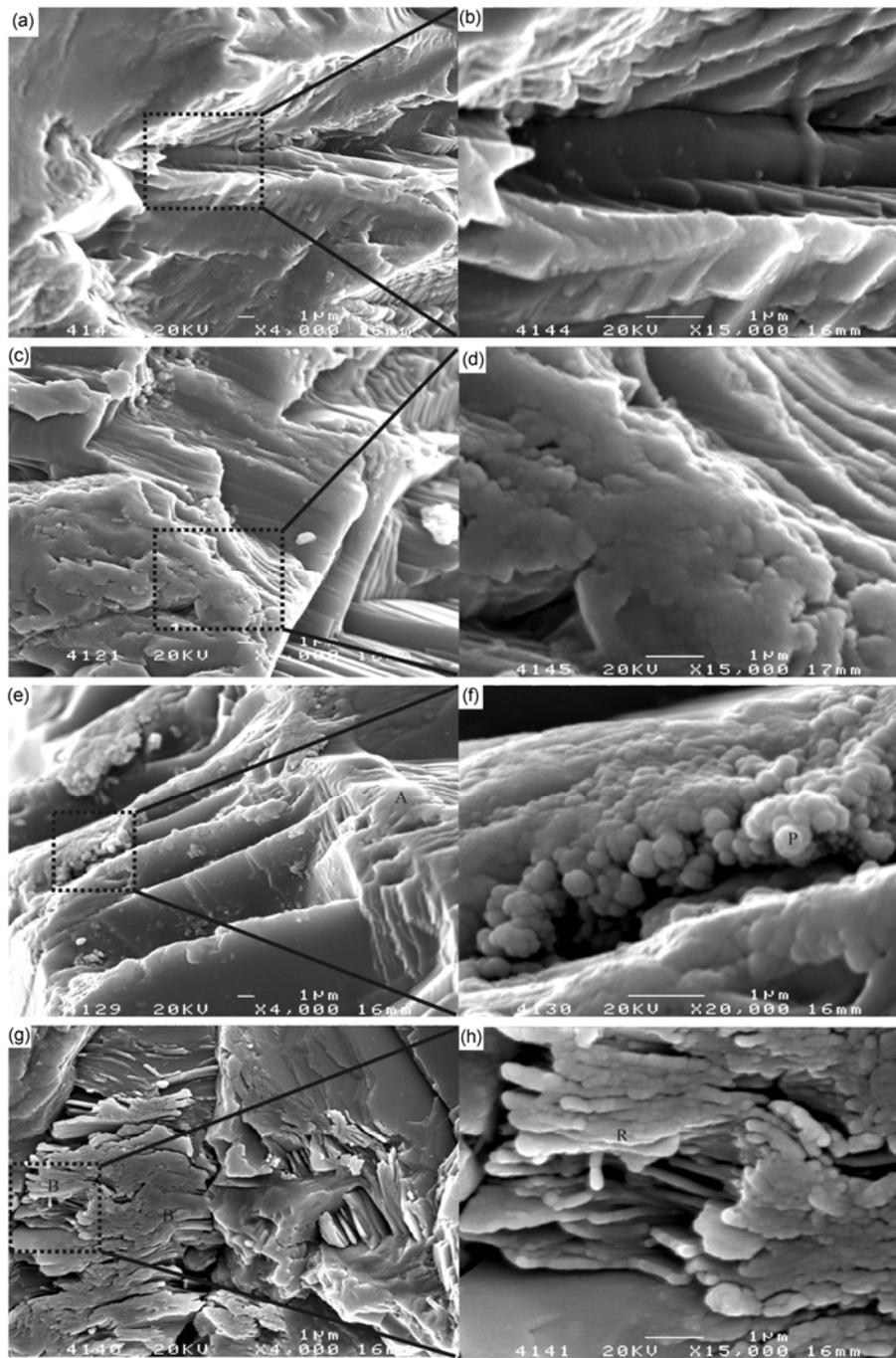


图3 溶解前后钙长石表面形貌特征

(a) 溶解前; (b) (a)的局部放大; (c) 无菌 10 天; (d) (c)的局部放大(表面出现少许溶蚀现象); (e) 接触 10 天(表面高能位出现较强烈的溶解); (f) (e)的局部放大(接触实验中产生纳米级次生沉淀); (g) 透析 10 天(表面高能位出现较强烈溶解); (h) (g)的局部放大(原来的薄片/板状物质溶解后残余大量相互串连的纳米级颗粒). A, B 分别为接触和透析实验中溶解较强烈的位置; P, 沉淀; R, 溶解残余

实验中则不存在类似沉淀. 由于这些次生沉淀物的粒径(100~200 nm)大于透析袋孔径(约 25 Å)而小于菌体尺寸(约 0.5 μm×2 μm)^[32], 推断其可能为以细胞碎

片、细菌的表面官能团及其高分子量代谢物等为成核物质的沉淀物. 这表明在细菌-矿物-溶液体系中, 细菌及其代谢物对矿物的溶解和次生沉淀的形成均具有促

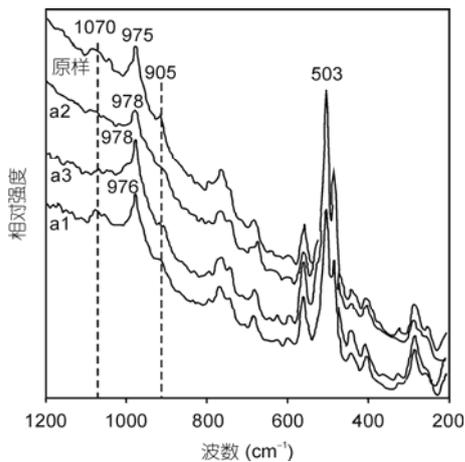


图4 溶解前后钙长石表面的拉曼光谱

进作用。

实验结束时, 三组实验溶液中 Ca, Al, Si 浓度的摩尔比分别为: 7.5/0.5/1, 0.9/0.6/1 和 1.7/0.5/1, 而原样中三种元素的原子数比为 0.4/0.8/1^[22], 由此可见, 如果不考虑沉淀消耗, 则三组实验中 Ca 的溶出相对于 Si 都是较快的, 由此可能导致了长石表面的贫钙, 这与前人的研究是一致的^[33]. 对 Al, 单从浓度比值上看其溶出能力不如 Si, 但是前人研究认为长石在酸、有机配体及微生物的作用下 Al 通常优先于 Si 溶出^[33-36], 这与元素浓度分析得出的结论相反. 因此, 需要寻找更多的证据, 对此现象做进一步的解释, 而本研究试图通过拉曼光谱结果进行解析。

根据 Lasaga 和 Gibbs^[37]的量子力学计算, 长石的拉曼光谱在 0~300 cm^{-1} 波段内的峰属于晶体格架的联合振动, 300~700 cm^{-1} 间的峰属于 Si-O-Si 键的弯曲振动, 700~1200 cm^{-1} 间的峰属于 T-O(T 为 Si 或 Al) 的伸缩振动. Velde 和 Boyer^[38]进一步将 700~1200 cm^{-1} 范围的峰归为硅(铝)氧四面体中桥氧或非桥氧的振动. 通常情况下, 拉曼峰的强度与物质的含量有关, 而峰位的变化与晶格的内应力有关. 因此, 根据 905 和 1070 cm^{-1} 处峰的属性及其相对强度的减弱可知微生物作用下长石表面的硅(铝)氧四面体结构发生了较强的破坏. 有研究表明^[39], 架状铝硅酸盐在高频波段的峰位会随 Al/Si 比的减小向高波数偏移. 相对于原样, 细菌作用后的长石在 975 cm^{-1} 处的峰发生了蓝移, 加之峰强的变化, 表明长石表面发生了 Al 相对于 Si 的亏损. 这种微生物作用下 Al 相对于 Si 亏损的溶解特征, 与前人的实验是相符的. 由此可见,

通过 Al, Si 浓度比和拉曼光谱结果得出不同结论的原因, 是在考察 Al 和 Si 比时, 忽略了沉淀的影响. 当沉淀的量较大, 同时 Al 比 Si 具有更高的沉淀效率时, 溶液中 Al/Si 的值便不能真实反映长石中元素溶出的优先性。

在长石中, Al 通常是以铝氧四面体的形式存在的, 与 Si 共同构成了长石的架状结构. 由于在长石中 Al 只以 Al-O-Si 键结构存在^[40], 因此细菌代谢产物对长石格架的溶解, 主要表现在对 Al-O-Si 键的破坏作用上. 事实上, 975 cm^{-1} 处的峰与 Al-O-Si 的反对称伸缩振动有关^[31,41], 而 1070 cm^{-1} 与 Si-O-Si 的反对称伸缩振动有关, 细菌溶解后, “前者峰位发生偏移, 后者无偏移”的拉曼光谱特征已表明细菌及其代谢物优先破坏 Al-O-Si 桥氧键, 随后才破坏 Si-O-Si 桥氧键。

综合前述讨论可知, 细菌 *P. polymyxa* 可以加速钙长石的溶解和次生沉淀的生成. 溶解为非等化学的, Ca 和 Al 优先于 Si 溶出, 细菌及其代谢物首先破坏钙长石晶体格架中的 Al-O-Si 键, 溶解后长石表面形成了相对于 Si 贫 Ca 和 Al 的淋滤层。

3.2 细菌-长石相互作用机制

细菌 *P. polymyxa* 的代谢产生多种有机酸(如甲酸、乙酸、乳酸、柠檬酸等)和多聚糖^[24,25], 这些物质通常能以质子交换和配体络合方式促进长石的溶解^[5,11-14,34,42]. 已有研究表明 *P. polymyxa* 能有效溶解铝土矿中的含 Ca 和 Fe 杂质矿物相, 如方解石、针铁矿、赤铁矿等^[23], 细菌的接触和不接触机制均起作用. 但是, 目前关于该类细菌与铝硅酸盐矿物的相互作用机制研究还不多见。

在无机条件下, 当 $\text{pH} < 5.5$ 时, 长石的溶解速率通常随酸性增强而增大^[12,43]; 而在含有机酸体系中, 当 pH 在 3.5~8.5 之间时, 有机物中的基团(如羧基)会通过配体络合作用显著加速其溶解^[12,44]. 在本研究中, 有菌实验的 pH 值保持在 4.0~5.0 之间(图 1), 而细菌及其代谢产物包含丰富的多种有机基团, 因此质子交换和配体络合两种溶解形式都应存在. 在本研究中, 如果不考虑沉淀消耗, 则各元素的浓度变化速率可以被认为即是其溶出速率. 表 1 的结果表明, 无论是接触还是透析实验, Ca 的溶出速率在 18 h 后均逐渐降低, Al 和 Si 则保持恒定. 而在这一阶段, pH 的变化特征为先降低后升高. 由此可见, Ca 的溶出速率与 pH 变化具有相关性, 该过程是主要通过质子交

换作用进行的. 这一结果与前人的研究相同^[12,45-47], 即在酸性溶液中, 长石中平衡电荷的碱金属和碱土金属元素通常会首先通过质子交换作用而溶出. 由于 pH 的变化并未影响 Al 和 Si 的溶出速率(无菌条件下的吸附 H^+ 也没有改变两种元素的溶出速率), 因此两种元素的溶出速率主要与配体络合作用有关. 事实上, 对比接触和透析实验结果(图 2), 也可进一步证明该推断的正确性. 接触实验中细菌及多聚糖与矿物接触机会多, 络合作用更普遍, 因此 Al 和 Si 的溶出能力要强于透析实验中. 这种络合作用既包括小分子量代谢物的络合(透析实验中也有 Al 和 Si 溶出量的上升), 也包括细菌的粘附导致的络合(接触实验中 Al 和 Si 溶出量更大). 而由于激光拉曼光谱已表明粘附会导致长石中的 Al-O-Si 键首先遭到破坏, 说明配体会优先络合 Al 和通过桥氧与 Al 连接的 Si.

鉴于 H^+ 对 Al 和 Si 溶出的参与度不大, 因此, 有菌实验后期 pH 的上升, 便只可能与 Ca 的溶出消耗了酸有关, 即 Ca 主要通过质子交换作用溶出. 由于细菌在生长稳定期和衰亡期产酸能力较差, 因此当耗酸能力超过产酸能力时, 溶液 pH 上升, pH 上升的结果, 是使得质子交换能力变弱, Ca 溶出速率降低. 此外, 需要注意的是, 样品处理时残留的“吸附性 H^+ ”在有菌实验中对 Ca 的溶出也是有贡献的, 因此, 如果没有这种 H^+ 离子的存在, 可以显见的是, 实验结束后溶液 pH 会上升更多, 而 Ca 的溶出量会更低.

由图 2 的曲线形状及表 1 的拟合方程可见, 对 Ca, Al 和 Si 三种元素, 接触实验和透析实验中其溶出模式均相同, 细菌及其代谢物的粘附没有改变三种元素的溶出机制, Ca 仍然以质子交换为主, Al 和 Si 仍以配体络合为主, 只是粘附作用促进或抑制了这两种机制.

3.3 细菌粘附作用对长石溶解动力学的影响

对 Ca 的溶出, 在不考虑沉淀情况下的两组微生物实验中, 由 Ca 浓度随时间的变化均具对数特征可见, Ca 的溶出速率随反应时间增长而降低(表 1), 此时 Ca 的溶出反应不是零级反应, 溶出受反应物浓度的影响. 由于 Ca 主要通过质子交换方式溶出, 因此对透析实验, 制约 Ca 溶出的因素包括两方面: pH 值和长石表面可溶性 Ca 的浓度. 在实验后期, 由于 pH 有所升高, 导致了溶液对 Ca 溶出能力的降低, 此时 Ca 的溶出受表面反应控制; 又由于淋滤层的形成,

导致 Ca 在长石表面的含量下降, 这种含量下将也必将降低 Ca 的溶出速率, 这种淋滤层导致溶解速率降低的动力学模式通常被称作“淋滤层扩散模式”^[40,48]. 因此, 对透析实验, Ca 溶出除了受表面反应控制外, 还受淋滤层扩散的影响, 与无机酸条件下长石中碱金属及碱土金属溶出速率的控制机制相同^[40]. 对接触实验, Ca 的溶出模式与透析实验相同, 只是其浓度增长速率不如透析实验, 推测细菌的粘附抑制了 Ca 的溶出. 一方面, 细菌及其代谢物在长石表面的粘附, 不利于 Ca 向溶液中扩散, 导致 Ca 在细菌-长石界面的微环境中积聚, 抑制了钙长石溶解的持续进行; 另一方面, 这种微环境还会阻止溶液中的 H^+ 离子到达长石表面, 相当于长石的有效反应面积减少^[4,5,9,49]. 因此, 在细菌-矿物接触的条件下, Ca 的溶出仍主要受表面反应和淋滤层扩散控制, 而粘附的细菌会通过抑制表面反应和元素扩散来影响 Ca 的溶出动力学.

对 Al 和 Si 的溶出动力学, 无论是在接触还是透析实验中, 当不考虑沉淀消耗时, Al 和 Si 具有相同的浓度增长模式, 溶出速率均不随时间而变化, 推测二者的释出反应为两种可能的动力学模式: (1) 零级反应, 此时长石表面 Al 和 Si 的浓度及络合物的浓度均对溶出速率无影响, Al 和 Si 的溶出只受表面反应控制; (2) 非零级反应, 但此时表面 Al 和 Si 浓度变化对速率的影响被与之络合的物质的浓度变化等因素的影响所抵消, 致使 Al 和 Si 的溶出在表观上仍表现为只受表面反应控制. 对比接触和透析实验结果知道, 细菌的粘附加速了该动力学过程, 但未改变其溶出的控制模式. 尽管业已表明有菌实验中长石表面会出现 Al 相对于 Si 的亏损, 但这种亏损也未改变 Al 的溶出动力学.

从前述实验结果已知, 无论是接触还是透析实验, 微生物作用均能导致长石表面形成富 Si 的淋滤层, 因此, 对本研究使用的长石, 与非生物酸性条件下相同, 其在微生物作用下溶解的速控步, 仍然是 Si 的溶出^[37,50].

4 结论

本文通过使用透析方法开展对比实验研究, 探讨了微生物及其高分子量代谢物在长石表面的粘附对钙长石溶解的影响, 获得了一些关于长石微生物溶解的粘附效应的新认识: (1) 在微生物粘附的微环境中长石中各元素的溶出机制不会发生改变, 碱金

属和碱土金属的溶出仍以质子交换为主, Al 和 Si 的溶出仍以配体络合为主, 配体络合作用优先破坏架状结构中的 Al-O-Si 键; (2) 细菌的粘附会抑制质子交换反应, 抑制碱金属和碱土金属的溶出, 但能促进配体络合反应, 加速 Al 和 Si 的溶出; (3) 细菌及其代

谢产物作用下, 长石中碱(土)金属的溶出主要受表面反应和淋滤层扩散控制, 粘附的细菌会通过抑制表面反应和元素扩散来影响其溶出动力学; Al 和 Si 的溶出则只受表面反应控制, 细菌的粘附可以加速该动力学过程.

致谢 南京大学地球科学与工程学院周新民教授和徐夕生教授提供了本研究所需的地质样品, 拉曼光谱工作由该学院王天刚完成, 南京农业大学周立祥教授和审稿专家对本文的修改提出了非常宝贵的意见, 在此表示衷心感谢.

参考文献

- Hazen T C, Jimenez L, de Victoria G L. Comparison of bacteria from deep subsurface sediment and adjacent groundwater. *Microb Ecol*, 1991, 22: 293-304
- Holm P E, Nielsen P H, Albrechtsen H J, et al. Importance of unattached bacteria and bacteria attached to sediment in determining potentials for the degradation of xenobiotic organic contaminants in an aerobic aquifer. *Appl Environ Microbiol*, 1992, 58: 3020-3026
- Ehrlich H L. How microbes influence mineral growth and dissolution. *Chem Geol*, 1996, 132: 5-9
- Ullman W J, Kirchman D L, Welch S A, et al. Laboratory evidence for microbially mediated silicate mineral dissolution in nature. *Chem Geol*, 1996, 132: 11-17
- Welch S A, Ullman W J. The effect of microbial glucose metabolism bytownite feldspar dissolution rates between 5°C and 35°C. *Geochim Cosmochim Acta*, 1999, 63: 3247-3259
- Wilson M J. Weathering of the primary rock-forming minerals: Processes, products and rates. *Clay Mineral*, 2004, 39: 233-266
- 陆建军, 陆现彩, 王睿勇, 等. 多金属矿山环境中矿物的微生物分解及环境效应研究进展. *高校地质学报*, 2007, 13: 621-629
- Lian B, Wang B, Pan M, et al. Microbial release of potassium from K-bearing minerals by thermophilic fungus *Aspergillus fumigatus*. *Geochim Cosmochim Acta*, 2008, 72: 87-98
- Hiebert F K, Bennett P C. Microbial control of silicate weathering in organic-rich ground water. *Science*, 1992, 258: 278-281
- Barker W W, Welch S A, Chu S, et al. Experimental observations of the effects of bacteria on aluminosilicate weathering. *Am Mineral*, 1998, 83: 1551-1563
- Bennett P C, Melcer M E, Siegel D I, et al. The dissolution of quartz in dilute aqueous solutions of organic acids at 25°C. *Geochim Cosmochim Acta*, 1988, 52: 1521-1530
- Amrhein C, Suarez D L. The use of a surface complexation model to describe the kinetics of ligand-promoted dissolution of anorthite. *Geochim Cosmochim Acta*, 1988, 52: 2785-2793
- Wieland E, Wehrli B, Stumm W. The coordination chemistry of weathering: III. A generalization on the dissolution rates of minerals. *Geochim Cosmochim Acta*, 1999, 52: 1969-1981
- Sterflinger K. Fungi as geologic agents. *Geomicrobiol J*, 2000, 17: 97-124
- Casey W H, Bunker B. Leaching of mineral and glass surfaces during dissolution. *Rev Mineral*, 1990, 23: 397-425
- Muir I J, Bancroft G M, Shotyk W, et al. A SIMS and XPS study of dissolving plagioclase. *Geochim Cosmochim Acta*, 1990, 54: 2247-2256
- Hellmann R. The albite-water system: Part I. The kinetics of dissolution as a function of pH at 100, 200, and 300°C. *Geochim Cosmochim Acta*, 1994, 58: 595-611
- Hellmann R. The albite-water system: Part II. The time evolution of the stoichiometry of dissolution as a function of pH at 100, 200, and 300°C. *Geochim Cosmochim Acta*, 1995, 59: 1669-1697
- Gout R, Oelkers E H, Schott J, et al. The surface chemistry and structure of acid-leached albite: New insights on the dissolution mechanism of the alkali feldspars. *Geochim Cosmochim Acta*, 1997, 61: 3013-3018
- 肖奕, 王汝成, 陆现彩, 等. 低温碱性溶液中微纹长石溶解性质研究. *矿物学报*, 2003, 23: 333-340
- Kohler S J, Bosbach D, Oelkers E H. Do clay mineral dissolution rates reach steady state? *Geochim Cosmochim Acta*, 2005, 69: 1997-2006
- 周新民, 徐夕生, 董传万, 等. 中国东南活动大陆边缘的矿物标志: 钙长石质斜长石. *科学通报*, 1994, 39: 1011-1014
- Anand P, Modak J M, Natarajan K A. Biobeneficiation of bauxite using *Bacillus polymyxa*: Calcium and iron removal. *Int J Mineral Process*,

- 1996, 48: 51–60
- 24 Mankad T, Nauman E B. Effect of oxygen on steady state product distribution in *Bacillus polymyxa* fermentations. *Biotechnol Bioeng*, 1992, 40: 413–426
- 25 Santhiya D, Subramanian S, Natarajan K A. Surface chemical studies on sphalerite and galena using extracellular polysaccharides isolated from *Bacillus polymyxa*. *J Coll Interf Sci*, 2002, 256: 237–248
- 26 Bromfield S M. Reduction of ferric compounds by soil bacteria. *J Gen Microbiol*, 1954, 11: 1–6
- 27 Wightman P G, Fein J B. The effect of bacterial cell wall adsorption on mineral solubilities. *Chem Geol*, 2004, 212: 247–254
- 28 周跃飞, 王汝成, 陆现彩, 等. 微生物-矿物接触模式影响矿物溶解机制的实验研究. *高校地质学报*, 2007, 13: 657–661
- 29 Welch S A, Barker W W, Banfield J F. Microbial extracellular polysaccharides and plagioclase dissolution. *Geochim Cosmochim Acta*, 1999, 63: 1405–1419
- 30 Hutchens E, Valsami-Jones E, McEldowney S, et al. The role of heterotrophic bacteria in feldspar dissolution—An experimental approach. *Mineral Mag*, 2003, 67: 1157–1170
- 31 Le Parc R, Champagnon B, Dianoux J, et al. Anorthite and $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$ glass: Low frequency Raman spectroscopy and neutron scattering. *J Non-crystal Solid*, 1992, 323: 155–161
- 32 周跃飞, 王汝成, 陆现彩. 玄武岩微生物分解过程中的矿物表面效应. *岩石矿物学杂志*, 2008, 27: 59–66
- 33 Oelkers E H, Schott J. Experimental study of anorthite dissolution and the relative mechanism of feldspar hydrolysis. *Geochim Cosmochim Acta*, 1995, 59: 5039–5053
- 34 黄思静, 杨俊杰, 张文正, 等. 不同温度条件下乙酸对长石溶蚀过程的实验研究. *沉积学报*, 1995, 13: 7–17
- 35 Frogner P, Broman C, Lindblom S. Weathering detected by Raman spectroscopy using Al-ordering in albite. *Chem Geol*, 1998, 151: 161–168
- 36 Smith J V. Atmospheric weathering and silica-coated feldspar: Analogy with zeolite molecular sieves, granite weathering, soil formation, ornamental slabs, and ceramics. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1998, 95: 3366–3369
- 37 Lasaga A C, Gibbs G V. Quantum mechanical potential surfaces and calculations on minerals and molecular clusters. *Phys Chem Mineral*, 1988, 16: 29–41
- 38 Velde B, Boyer H J. Raman microprobe spectra of naturally shocked microcline feldspars. *J Geophys Res*, 1985, 90: 3675–3682
- 39 Neuville D R, Cormier L, Massiot D. Al environment in tectosilicate and peraluminous glasses: A ^{27}Al MQ-MAS NMR, Raman, and XANES investigation. *Geochim Cosmochim Acta*, 2004, 68: 5071–5079
- 40 Ribbe P H. Chemistry, structure and nomenclature of feldspars. *Rev Mineral*, 1983, 2: 1–19
- 41 Sharma S K, Simons B, Yoder H S. Raman study of anorthite, calcium Tschermak's pyroxene, and gehlenite in crystalline and glassy states. *Am Mineral*, 1983, 68: 1113–1125
- 42 向廷生, 蔡春芳, 付华娥. 不同温度、羧酸溶液中长石溶解模拟实验. *沉积学报*, 2004, 22: 597–602
- 43 Drever J I, Stillings L L. The role of organic acids in mineral weathering. *Coll Surf A*, 1997, 120: 167–181
- 44 罗孝俊, 杨卫东. 有机酸对长石溶解度影响的热力学研究. *矿物学报*, 2001, 21: 183–188
- 45 Muir I J, Nesbitt H W. Controls on differential leaching of calcium and aluminium from labradorite in dilute electrolyte solutions. *Geochim Cosmochim Acta*, 1992, 56: 3979–3985
- 46 Muir I J, Nesbitt H W. Reactions of aqueous cations at the labradorite-water interface: Coupled effect of surface processes and diffusion. *Geochim Cosmochim Acta*, 1997, 61: 265–274
- 47 Oxburgh R, Drever J, Sun Y T. Mechanism of plagioclase dissolution in acid solution at 25°C. *Geochim Cosmochim Acta*, 1994, 58: 661–669
- 48 Casey W H, Ludwig C. Silicate mineral dissolution as a ligand-exchange reaction. *Rev Mineral*, 1995, 31: 87–117
- 49 Welch S A, Vandevivere P. Effect of microbial and other naturally occurring polymers on mineral dissolution. *Geomicrobiol J*, 1994, 12: 227–238
- 50 Oelkers E H. General kinetic description of multioxide silicate mineral and glass dissolution. *Geochim Cosmochim Acta*, 2001, 65: 3703–3719