

黑曲霉两步法与化学氧化联合 浸出花岗岩铀矿石

祖媛媛^{1,2}, 李广悦^{1,2,*}, 孙静^{1,2}, 李芳艳^{1,2}, 王永东^{1,2}

1. 南华大学 铀矿冶生物技术国防重点学科实验室, 湖南 衡阳 421001;
2. 南华大学 极贫铀资源绿色开发技术湖南省重点实验室, 湖南 衡阳 421001

摘要:为了高效浸出花岗岩型铀矿石中的铀,采用黑曲霉两步法和化学氧化联合浸出,研究预培养时间、浸出时间和不同氧化剂及其用量对浸铀效果的影响。结果表明:黑曲霉两步法浸出时,采用预培养 36 h 的黑曲霉浸铀,浸出时间为 72 h 时,铀浸出率最高,为 59.34%,随着预培养时间和浸出时间的延长,铀浸出率显著下降。加入 MnO_2 、 NaClO_3 和 H_2O_2 三种氧化剂对铀浸出率均有不同程度的提高,其中加入 2.5% (与矿石质量比) 的 MnO_2 时,浸铀效果最佳,铀浸出率最高可达 74.09%,与未加氧化剂相比,铀浸出率提高了 14.8%。

关键词:花岗岩型铀矿;黑曲霉;两步法;氧化剂;联合浸出

中图分类号:TF18 文献标志码:A 文章编号:0253-9950(2021)02-0142-06

doi:10.7538/hhx.2020.YX.2019095

Two-Step Process of *Aspergillus Niger*-Chemical Oxidation Joint Leaching of Granite Uranium Ore

ZU Yuan-yuan^{1,2}, LI Guang-yue^{1,2,*}, SUN Jing^{1,2}, LI Fang-yan^{1,2}, WANG Yong-dong^{1,2}

1. Key Discipline Laboratory for National Defense for Biotechnology
in Uranium Mining and Hydrometallurgy, University of South China, Hengyang 421001, China;
2. Hunan Province Key Laboratory of Green Development Technology
for Extremely Low Grade Uranium Resources, Hengyang 421001, China

Abstract: To high-efficiently recover uranium from granite-type uranium ore, a two-step process by *Aspergillus niger* coupling with chemical oxidants was applied to investigate the effects of pre-culture time, leaching time, oxidant type and dosage on uranium extraction. The results show that the highest uranium recovery of 59.34% is achieved in 36 hours of pre-culture and 72 hours of leaching time in the two-step process by *Aspergillus niger*. The uranium recovery decreases significantly with the increase of pre-culture time and leaching time. Addition of each of MnO_2 , NaClO_3 and H_2O_2 results in an increase in uranium recovery. At a dosage of 2.5% MnO_2 by weight of uranium ore, the highest uranium recovery reaches to

收稿日期:2019-12-21;修订日期:2020-03-30

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51674146)

作者简介:祖媛媛(1993—),女,重庆合川人,硕士研究生,矿业工程专业,E-mail: 2274470184@qq.com

* 通信联系人:李广悦(1970—),男,辽宁兴城人,博士,教授,主要从事溶浸采矿、矿山环境修复与治理研究,E-mail: lgy673@163.com

74.09%, having an increase of 14.8% compared with the absence of the oxidant.

Key words: granite-type uranium ore; *Aspergillus niger*; two-step method; oxidants; joint leaching

随着高品位铀矿资源的逐渐枯竭,中低品位铀矿资源的高效开发利用已成为目前亟需解决的一项重要课题。然而,传统的浸出方法存在成本高、环境污染大等缺点,无法高效回收这些资源。生物浸出方法因其具有成本低、能耗少、生态环境危害小、工艺流程简单、资源利用率高等特点,而被广泛关注。其中,氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*)、氧化硫硫杆菌(*Acidithiobacillus thiooxidans*)等细菌浸出方法已应用于工业生产^[1]。

真菌浸出是一种新型的生物浸矿方法,其主要利用真菌代谢产生的有机酸与矿物中的金属离子形成络合物,将金属溶解出来^[2-3]。与细菌相比,真菌具有对生长环境要求低、生长速率快、生物量大等优势。黑曲霉(*Aspergillus niger*, *A. niger*)是常用的浸矿真菌,具有适应性强、代谢活性高、有机酸产量大等特点,被众多学者用于铀、铜、锰等金属的浸出研究。Amin等^[4]用从矿石中分离的黑曲霉等八种真菌开展含铀沉积岩浸铀研究,其中黑曲霉和黄曲霉的铀浸出率最高。Ghazala等^[5]开展了黑曲霉发酵液中提取的柠檬酸浸出磷矿中铀的研究,发现当固液比为1:20时,铀浸出率可达91.1%。Mehta等^[6]用黑曲霉从印度洋锰结核中浸出铜、镍、锰和钴,四种金属的浸出率分别为97%(Cu)、98%(Ni)、86%(Co)、91%(Mn)。Chaerun等^[7]用黑曲霉发酵液浸出低品位镍褐铁矿和腐泥矿,结果表明:镍褐铁矿中金属镍的浸出率达88.9%,腐泥矿中金属镍的浸出率为84.9%。Vakilchap等^[8]开展了黑曲霉浸出拜耳法赤泥中的有价金属研究,铝、钛、铁的浸出率分别为69.8%、60%、25.4%。Qu等^[9]采用黑曲霉浸出赤泥中的重金属,发现在高矿浆浓度条件下,一步浸出法会明显抑制黑曲霉产生有机酸的活性,而两步浸出法更有利于黑曲霉产酸。

花岗岩型铀矿是我国重要的一类铀矿资源,占已探明铀储量的28%左右^[10]。花岗岩铀矿中的主要铀矿物为沥青铀矿,U(IV)所占比例高。黑曲霉浸铀过程是通过黑曲霉代谢产生的有机酸的酸化和络合作用,将固相中的铀变为液相中可溶的络合物。但由于U(IV)的溶解度低,因此,需

将U(IV)氧化为U(VI)。

目前,对真菌浸矿方式的研究较多,主要包括以下三种^[11]:(1)一步浸出法,即将真菌和矿石同时培养;(2)两步浸出法,即先将真菌进行一段时间的预培养,再将矿石加入进行浸出;(3)发酵液浸出法,即先将真菌发酵培养,然后用其发酵液进行浸矿。但将黑曲霉两步法与化学氧化联合浸铀的研究仍未见报道。为此,本工作拟通过开展摇瓶实验,研究黑曲霉预培养时间、浸出时间和不同氧化剂及其用量对花岗岩铀矿石浸出的影响。

1 实验部分

1.1 仪器和材料

VB-40全自动高压蒸汽灭菌器,北京莱比信科技发展有限公司;SPH-2112F全温度恒温培养振荡器、BPMJ-150F生化培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;SW-CJ-1FD超净工作台、GZX-9140MBE数显鼓风干燥箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;Research移液枪,德国Eppendorf公司;AL104电子天平,精度万分之一,梅特勒-托利多仪器有限公司;PHS-3C精密pH计,精度百分之一,上海雷磁仪器厂;D/max 2500X射线衍射仪,日本理学公司。

实验所用黑曲霉菌株(*A. niger*)由南华大学铀矿冶生物技术国防重点学科实验室分离纯化,并置于-80℃冰箱中保藏。黑曲霉的复壮和孢子的制备采用PDA固体培养基,黑曲霉浸铀采用不添加琼脂粉的PDA液体培养基,121℃高压灭菌30 min。

花岗岩铀矿石取自于广东某铀矿山。原矿通过破碎研磨烘干后,过200目筛得到粒径小于74 μm的矿样。矿样的X射线荧光光谱分析结果列入表1。由表1可知,矿石中主要含Si、Ca、Al等成分,铀的质量分数为0.22%, $w(U(IV))/w(U(VI))=2.67:1$,U(IV)所占比例较高。

1.2 实验方法

(1) 孢子悬液的制备

将冷冻保藏的黑曲霉菌种采用PDA液体培养基活化后,接种到PDA固体培养基上,置于30℃恒温培养箱内培养96 h至孢子成熟,用无

菌蒸馏水冲洗 PDA 平板表面成熟的孢子制得孢子悬液,经 0.45 μm 微孔滤头过滤后,滴入改良纽鲍尔计数板计数,调节孢子浓度为每 100 mL 10^7 个孢子,用于黑曲霉浸铀实验。

表 1 矿样的主要化学成分

Table 1 Chemical composition of uranium ore

成分	$w/\%$	成分	$w/\%$	成分	$w/\%$
O	42.83	Na	8.86	K	0.50
Si	18.06	Fe	2.90	Ti	0.45
Ca	11.80	P	2.06	Mn	0.10
Al	10.73	Mg	1.28	U	0.22
U(IV)	0.16	U(VI)	0.06		

(2) 黑曲霉两步法浸出实验

称取 2.000 0 g 矿样,用称量纸包好,于 121 $^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 30 min 备用。将制备好的无菌 PDA 液体培养基倒入 250 mL 锥形瓶中,每瓶 100 mL。然后,接种黑曲霉孢子悬液 1 mL,在 30 $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 的条件下进行不加矿石的恒温振荡预培养。为研究预培养时间对黑曲霉浸铀的影响,设计不同的预培养时间实验组,每组的预培养时间分别为 12、24、36、48、60、72 h。当每组达到预培养时间后,加入 2.000 0 g 已灭菌矿样,再浸出 5 d。在浸出过程中,每天监测浸出液的 pH 值。浸出结束后,固液分离收集尾渣和浸出液,用三氯化钛还原/钒酸铵氧化滴定法检测尾渣铀质量分数,计算铀浸出率,确定黑曲霉的最佳预培养时间。每组实验均设 3 个平行样,结果取平均值,下同。

在最佳预培养时间的基础上研究浸出时间对黑曲霉浸铀的影响,浸出时间分别为 24、48、72、96、120、144、168 h。在浸出过程中,每天监测浸出液的 pH 值。当每组达到浸出时间后,固液分离收集尾渣和浸出液,用三氯化钛还原/钒酸铵氧化滴定法检测尾渣的铀质量分数,计算铀浸出率,确定最佳浸出时间。

(3) 氧化剂强化浸出实验

在黑曲霉最佳预培养时间基础上,同时加入灭菌矿样和氧化剂,浸出时间为上述确定的最佳浸出时间。选取 NaClO_3 、 MnO_2 、 H_2O_2 为氧化剂。 MnO_2 加入量分别为 1.5%、2.5%、5.0%、7.5%、10.0% (与矿石质量比), NaClO_3 加入量分别为 1.5%、2.5%、5.0%、7.5%、10.0% (与矿

石质量比), H_2O_2 加入量分别为 1.0%、2.0%、4.0%、6.0%、8.0% (与培养基体积比),浸出结束后用三氯化钛还原/钒酸铵氧化滴定法检测尾渣的铀质量分数($w(\text{U})$),计算铀浸出率。

(4) 尾渣铀质量分数测定及铀浸出率计算

将烘干至恒重的尾渣研磨至粒径小于 74 μm ,称取 0.3~0.5 g 尾渣置于 100 mL 烧杯中,加入 5 mL 高氯酸加热蒸干,消除有机质的干扰。其后用三氯化钛还原/钒酸铵氧化滴定法对尾渣中的铀质量分数进行测定,根据公式(1)、(2)计算尾渣铀质量分数和铀浸出率(η)。

$$w(\text{U}) = \left(\frac{\rho \times V \times 10^{-3}}{m} \right) \times 100\% \quad (1)$$

$$\eta = \left(1 - \frac{w(\text{U}) \times m_1}{w_0(\text{U}) \times m_2} \right) \times 100\% \quad (2)$$

式中: ρ ,钒酸铵标准溶液对铀的滴定度,g/L; V ,滴定消耗的钒酸铵溶液体积,mL; m ,尾渣的样品质量,g; m_1 ,尾渣总质量,g; $w_0(\text{U})$,原矿铀质量分数; m_2 ,原矿总质量,g。

2 结果与讨论

2.1 预培养时间对黑曲霉两步法浸铀的影响

黑曲霉的预培养时间(t)对铀浸出的影响示于图 1。由图 1 可知:随着预培养时间的延长,铀浸出率呈现先上升后下降的趋势,预培养 36 h 时,铀浸出率达到最大值 55.29%。铀浸出率与黑曲霉预培养时间之间的关系和黑曲霉的生物活性以及生物量有关。由黑曲霉的生长曲线(图 2)可知,0~30 h 为其生长延滞期。在此期间,黑曲霉预培养 12 h 时铀浸出率为 48.78%,预培养 24 h 为 51.50%。这是由于微生物接种到一个新环

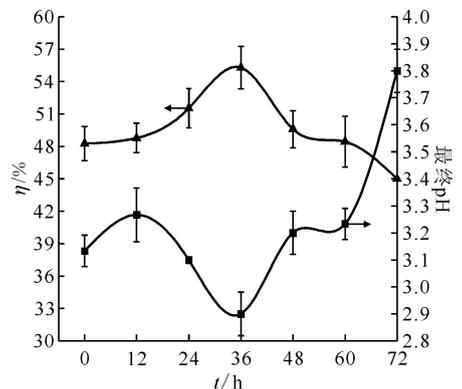


图 1 预培养时间对黑曲霉两步法浸铀的影响
Fig. 1 Effect of pre-culture time on two-step leaching of uranium by *A. niger*

境,会暂时缺乏分解催化底物的酶或者缺乏充足的中间代谢产物;同时对外界环境如温度、溶液 pH 值等较为敏感,因而细胞分裂缓慢,黑曲霉生长速率几乎为零,导致生物活性低,生物量小。在此阶段黑曲霉干重仅为 0.00~0.10 g,湿重仅为 0.00~1.50 g。另一方面,在延滞期加入矿石,增强了矿石与孢子间的剪切或者冲撞作用,使得黑曲霉延滞期延长。

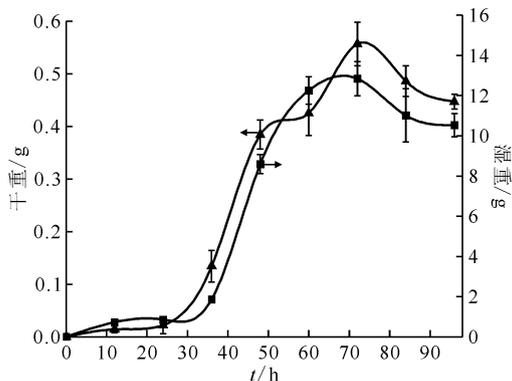


图2 黑曲霉的纯培养生长曲线

Fig. 2 Growth curves of *A. niger* in pure culture

30~72 h为指数生长期,该时期的黑曲霉已经适应了新环境,细胞开始以几何级数增长,体系中的代谢产物有机酸不断积累,孢子凝聚成多个直径为2~3 mm的菌丝球^[12]。此阶段黑曲霉生物活性最高,生物量快速增大,黑曲霉干重达到0.56 g,湿重达到12.84 g,预培养36 h时铀浸出率达到最大值55.29%。

黑曲霉预培养72 h后生长处于稳定期,在此阶段黑曲霉生物量已经达到平衡,生物活性逐渐降低,不利于后续浸矿。同时,黑曲霉菌丝球直径可达4~5 mm,此时的黑曲霉菌丝对铀存在较强的吸附作用^[13],黑曲霉预培养72 h时铀浸出率仅为45.00%,数值明显下降。

2.2 浸出时间对黑曲霉两步法浸铀的影响

选择36 h的预培养时间,研究浸出时间(t')对黑曲霉两步法浸铀的影响。浸出液最终pH和铀浸出率随浸出时间变化示于图3。由图3可知,浸出液最终的pH值随着浸出时间延长缓慢上升,浸出时间为168 h时,pH上升至3.71。pH值的上升一方面是由于随着浸出时间延长,培养基的营养物质减少,黑曲霉生长速率减缓,导致有机酸分泌量减少^[14];同时,随着浸出时间延长,黑曲霉产生的胞内碱性代谢产物会因菌丝球的裂解

和菌体细胞壁的溶解释放到胞外^[15];此外,黑曲霉生长进入衰减期后,由于营养缺乏会使其利用自身代谢产物,消耗有机酸^[16]。

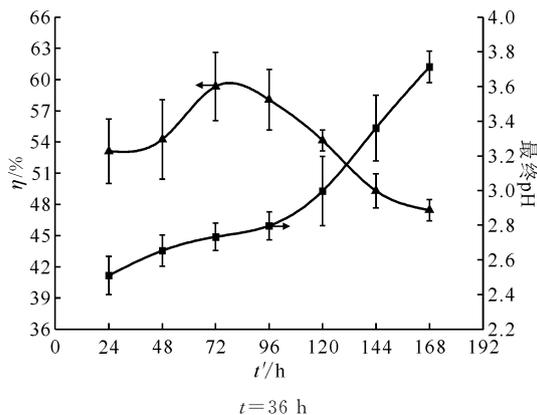


图3 浸出时间对黑曲霉两步法浸铀的影响

Fig. 3 Effect of leaching time on two-step leaching of uranium by *A. niger*

铀浸出率随浸出时间的延长呈现先上升后下降的趋势。浸出时间小于72 h时,黑曲霉代谢产生的有机酸不断积累,充足的有机酸有利于铀的浸出,第72 h时铀浸出率达到最大值59.34%。浸出时间大于72 h后,铀浸出率开始下降,浸出168 h时降至47.45%。铀浸出率下降是由于黑曲霉菌丝对铀的吸附所致。已有研究^[6,17-18]证实,真菌对铀、铜、镍等金属离子具有很强的吸附能力。Hefnawy等^[17]开展真菌浸铀时发现,土曲霉和小刺青霉对铀的吸附能力随着矿浆浓度的增加而提高。Mehta等^[6]用黑曲霉浸出印度洋锰结核时,黑曲霉对铜、镍、钴、锰均有吸附作用。Mukhopadhyay等^[18]在利用预培养的黑曲霉处理铜的生物吸附研究中,证实了金属离子和真菌细胞壁上的羧基、硫醇、羟基、羰基等官能团反应发生吸附作用。

2.3 不同氧化剂及其用量对黑曲霉两步法浸铀的影响

不同氧化剂及其用量对铀浸出率的影响示于图4。由图4可知:三种氧化剂对铀浸出率均有不同程度的提高,其中 MnO_2 的效果最为显著。 MnO_2 氧化 U^{4+} 的原理是使其溶液中的 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} , Fe^{3+} 再将难溶的 $U(IV)$ 氧化为易溶的 $U(VI)$,从而提高铀浸出率^[19]。当 MnO_2 加入量为2.5%时,铀浸出率最高,为74.09%,比空白组(不加氧化剂时铀浸出率为59.34%)提高了

14.8%。NaClO₃ 和 H₂O₂ 的氧化效果均不及 MnO₂, 最高铀浸出率分别仅为 64.77% 和 64.38%。虽然 NaClO₃ 和 H₂O₂ 均为强氧化剂, 但强氧化性会破坏微生物外层保护结构, 改变保护层通透性, 从而引起细胞渗透压改变, 破坏微生物体内的酶、蛋白质、DNA 等物质, 使细胞结构受损, 抑制真菌的生长^[20], 因而降低了生物活性。

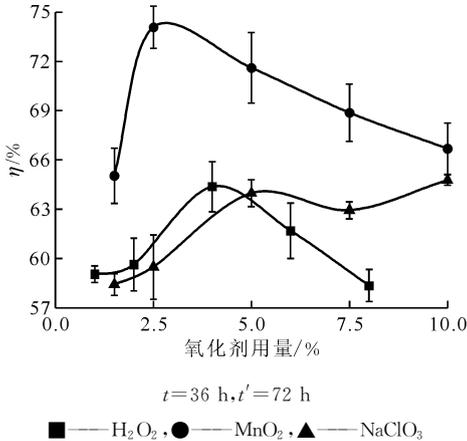


图4 不同氧化剂及其用量对浸铀的影响

Fig. 4 Effect of different oxidants on uranium recovery

MnO₂ 的加入量对铀的浸出有着显著影响, 铀浸出率随着 MnO₂ 的加入呈现先上升后下降的趋势。当加入 1.5% (与矿石质量比, 下同) 的 MnO₂ 时, 铀浸出率为 65.04%, 加入 2.5% 的 MnO₂ 时, 铀浸出率升至 74.09%, 而随着 MnO₂ 加入量的继续增加, 铀浸出率显著下降。锰元素是真菌细胞壁合成、生成孢子和次生代谢产物所必需的微量营养元^[7], 少量的锰能够促进真菌代谢, 产生有机酸^[21]。但是过量的 MnO₂ 却不利于浸出, 这主要是因为 MnO₂ 本身是铀的良好吸附剂^[22], 少量添加有助于破坏脉石矿物的结构使矿物暴露, 而过量添加会导致已浸出的铀再次吸附到 MnO₂ 表面, 造成铀浸出率降低。同时体系中过量的金属锰对真菌有一定的毒害作用^[23]。

3 结论

开展了黑曲霉两步法和化学氧化联合浸出花岗岩铀矿物的研究, 结果表明该法可提高铀浸出率。黑曲霉的预培养时间对两步法浸铀效果有显著影响, 黑曲霉预培养时间为 36 h 时铀浸出率最高, 延长或者缩短预培养时间, 均不利于铀的浸出。浸出时间对黑曲霉两步法浸铀也有明显影

响, 采用预培养 36 h 的黑曲霉浸出 72 h, 铀浸出率最高为 59.34%。在此基础上, 添加 NaClO₃、MnO₂ 和 H₂O₂ 等氧化剂均可提高铀浸出率。其中加入 2.5% 的 MnO₂ 时浸铀效果最佳, 铀浸出率可达 74.09%, 与未加氧化剂相比, 铀浸出率提高了 14.8%。

尽管真菌浸矿是一种具有良好发展前景的生物浸矿方法, 但目前仍处于实验探索阶段, 投入工业应用还存在一定距离。因此, 需在以下方面进一步研究: 开展优良浸矿菌种的选育工作, 选育出高产酸且具有耐受高矿浆浓度和金属毒性的菌株; 开展真菌浸矿的机理研究, 尤其是真菌产有机酸含量及其比对矿物浸出的影响; 寻求来源广泛、价格低廉的培养基原料, 降低菌种培养和浸矿成本。

参考文献:

- [1] Yin S, Wang L, Kabwe E, et al. Copper bioleaching in China: review and prospect [J]. Minerals, 2018, 8(2): 32-58.
- [2] Mishra A, Pradhan N, Kar R N, et al. Microbial recovery of uranium using native fungal strains [J]. Hydrometallurgy, 2009, 95(1-2): 175-177.
- [3] Simate G S, Ndlovu S, Walubita L F. The fungal and chemolithotrophic leaching of nickel laterites: challenges and opportunities [J]. Hydrometallurgy, 2010, 103(1-4): 150-157.
- [4] Amin M M, Elaassy I E, El-Feky M G, et al. Effect of mineral constituents in the bioleaching of uranium from uraniferous sedimentary rock samples, Southwestern Sinai, Egypt [J]. J Environ Radioactiv, 2014, 134: 76-82.
- [5] Ghazala R A, Fathy W M, Salem F H. Application of the produced microbial citric acid as a leachate for uranium from El-Sebaiya phosphate rock [J]. J Radiat Res Appl Sc, 2019, 121: 78-86.
- [6] Mehta K D, Das C, Pandey B D. Leaching of copper, nickel and cobalt from Indian Ocean manganese nodules by *Aspergillus niger* [J]. Hydrometallurgy, 2010, 105(1-2): 89-95.
- [7] Chaerun S K, Sulistyono R S, Minwal W P, et al. Indirect bioleaching of low-grade nickel limonite and saprolite ores using fungal metabolic organic acids generated by *Aspergillus niger* [J]. Hydrometallurgy, 2017, 174: 57-64.
- [8] Vakilchapp F, Mousavi S M, Shojasoadati S A. Role of *Aspergillus niger* in recovery enhancement of

- valuable metals from produced red mud in Bayer process[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 218: 991-998.
- [9] Qu Y, Lian B, Mo B, et al. Bioleaching of heavy metals from red mud using *Aspergillus niger* [J]. *Hydrometallurgy*, 2013, 136: 71-77.
- [10] 牛学军,谭亚辉,苏艳茹,等. 我国铀矿采冶技术发展方向和重点任务[J]. *铀矿冶*, 2013(1):22-26.
- [11] Chaerun S K, Sulisty R S, Minwala W P, et al. Indirect bioleaching of low-grade nickel limonite and saprolite ores using fungal metabolic organic acids generated by *Aspergillus niger* [J]. *Hydrometallurgy*, 2017, 174: 29-37.
- [12] 熊强,徐晴,顾帅,等. 丝状真菌形态控制及其在发酵过程优化中的应用[J]. *生物工程学报*, 2012, 28(2):178-190.
- [13] Yang J, Wang Q, Luo Q, et al. Biosorption behavior of heavy metals in bioleaching process of MSWI fly ash by *Aspergillus niger* [J]. *Biochem Eng J*, 2009, 46(3): 294-299.
- [14] Amiri F, Mousavi S M, Yaghmaei S, et al. Bioleaching kinetics of a spent refinery catalyst using *Aspergillus niger* at optimal conditions[J]. *Biochem Eng J*, 2012, 67: 208-217.
- [15] Horeh N B, Mousavi S M, Shojaosadati S A. Bioleaching of valuable metals from spent lithium-ion mobile phone batteries using *Aspergillus niger* [J]. *Journal of Power Sources*, 2016, 320: 257-266.
- [16] 张文兵. 黑曲霉对辉石中硅的浸出及其机理研究[J]. *金属矿山*, 2019, 48(11):104-108.
- [17] Hefnawy M A, El-Said M, Hussein M, et al. Fungal leaching of uranium from its geological ores in Alloga area, West Central Sinai, Egypt[J]. *J Biol Sci*, 2002, 2(5): 346-350.
- [18] Mukhopadhyay M, Noronha S B, Suraishkumar G K. Copper biosorption in a column of pretreated *Aspergillus niger* biomass[J]. *Chem Eng J*, 2008, 144: 386-390.
- [19] Venter R, Boylett M. The evaluation of various oxidants used in acid leaching of uranium[C]// *Hydrometallurgy Conference*, Johannesburg, 2009: 445-455.
- [20] 楚莉沙. 汽化过氧化氢(HPV)发生器的设计与杀菌研究[D]. 无锡:江南大学, 2017.
- [21] 彭丽媛,熊兴政,李艳,等. 锰对外生菌根真菌生长、养分吸收、有机酸分泌和菌丝体中锰分布的影响[J]. *生态学报*, 2016, 36(10):2819-2825.
- [22] 樊耀亭,吕秉玲,徐杰,等. 水溶液中二氧化锰对铀的吸附[J]. *环境科学学报*, 1999, 19(1):42-46.
- [23] 王文秀,马靖宇,朱祎捷,等. 一株海洋锰氧化真菌的分离、鉴定及其对 Mn(II) 的氧化特性[J]. *应用与环境生物学报*, 2015, 21(6):1032-1036.