

利用氧化亚铁硫杆菌和氧化硫硫杆菌去除 污泥中重金属的研究^{*}

沈 镭¹, 张太平², 贾晓珊¹

(1. 中山大学环境科学与工程学院环境工程系, 广东 广州 510275;
2. 华南理工大学环境科学与工程学院环境工程系, 广东 广州 510641)

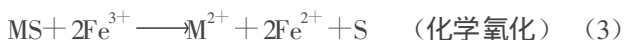
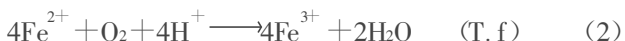
摘 要: 重金属的去除是污水污泥处理中亟待解决的问题。生物浸出法是去除污泥中重金属的新兴方法, 具有低成本、无二次污染等特点。利用含硫温泉采集到的泉水, 通过一系列培养、分离、纯化得到的氧化亚铁硫杆菌(T.f)和氧化硫硫杆菌(T.t)浸出污泥中的铜、锌、锰、铬、镉。在此基础上, 比较了在不同底物浓度下用T.f和T.t分别浸出重金属的效果, 研究了底物浓度、污泥浓度和起始 pH 等基本因素对重金属去除效果的影响。结果证明, T.f去除重金属的效果比T.t好, 在T.f和T.t的作用下, 污泥中大部分的重金属得到了有效的去除。

关键词: 生物浸出; 氧化亚铁硫杆菌(T.f); 氧化硫硫杆菌(T.t); 污泥; 重金属

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579(2005)02-0111-05

近年来, 我国由污水处理过程产生的污泥量迅速增长, 其中含有大量的重金属, 不及时处理将造成严重的二次污染和资源浪费。目前我国对其处理主要采用化学浸提法, 即用强酸将不溶性金属溶出, 但这具有很大的局限性: 耗酸量很大、成本高、管理复杂, 难以全面推广使用^[1], 因此开发新型的处理方法是当前的迫切需要。

20 世纪 80 年代, 加拿大等发达国家开始进行利用生物浸出法(bioleaching)去除污泥中的重金属的研究^[2]。生物浸出法使用的主要微生物为氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*, T.f)和氧化硫硫杆菌(*Thiobacillus thiooxidans*, T.t)。它们均为专性好氧, 化能自养的嗜酸短杆菌^[3], 能通过氧化底物而产酸, 将污泥中的难溶性重金属转化成金属硫酸盐而溶出。主要的反应方程式如下(M代表重金属)^[4]:



1996 年, Sreekrishnan 和 Tyagi 等^[4,5]研究了同步污泥消化与金属浸出(SSDML)系统的可行性, 使污泥重金属的生物浸出达到了一定的产业化应用。我国对生物浸出法的研究起步较晚。目前有关去除污泥重金属的研究仍鲜有系统的报道。而且,

已报道的研究绝大多数集中在 T.f 上, 对 T.t 等其他浸出微生物的研究很少。本研究从微生物及工艺操作两方面对有可能成为新型污泥处理方法的生物浸出法展开研究。首先通过培养、分离及纯化得到 T.f 和 T.t, 随后研究了不同底物浓度下, 分别用 T.f 和 T.t 浸出污泥重金属的不同效果, 及由 T.f 和 T.t 组成的混合菌株在不同污泥浓度和不同起始 pH 条件下浸出重金属的效果的差异。

1 材料与方法

1.1 硫杆菌的种样品与培养基

硫杆菌的种样品来自广东新兴县龙山温泉出水口, 泉水温度约为 30℃, pH 约 7.5。T.f 培养用 9K 液体培养基^[6]、9K 固体培养基^[7]和里腾氏(leathen)培养基^[8]; T.t 培养用液体基础培养基、液体选择培养基和固体选择培养基^[9]。

1.2 硫杆菌的培养方法

(1) T.f: 吸取种样品的温泉水 10 mL 放入盛有 30 mL 9K 液体培养基的锥形瓶中, 置于恒温水浴振荡器内, 在 30℃及转速 200 r/min 的条件下开始培养。当溶液变为红棕色, 吸取上清液 10 mL 加入 9K 液体培养基 100 mL, 于原条件下再培养。再用相同办法转接 1 次。然后将培养好的菌液取 0.2 mL 到盛有 9K 固体培养基的培养皿中涂布均匀, 于 30℃的生化培养箱中倒置培养 12 h, 再置于 4℃

^{*} 收稿日期: 2004-01-08

基金项目: 国家“985 工程”基金资助项目(32000-3253282); 中山大学“百人计划”重点资助项目

作者简介: 沈镭(1980 年生), 男, 硕士研究生; 通讯联系人: 贾晓珊; E-mail: eesjxs@zsu.edu.cn

的冰箱中培养 12 h。先热后冷交替培养约 1 周，9K 固体培养基上长出针尖大小的褐色小点菌落（见图 1）。挑取外观均匀的菌落接种至盛有 10 mL 里腾氏培养基的试管中，置于恒温水浴振荡器内，在 30 ℃及 200 r/min 的条件下培养，直至试管中的溶液变为红棕色。重复以上过程 2~3 次后，将得到较纯的菌株，将其接入里腾氏培养基中，置于 30 ℃及 200 r/min 的恒温水浴振荡器内培养备用。

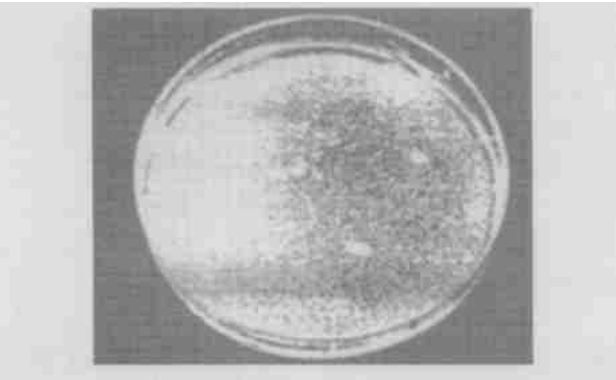


图 1 9K 固体培养基上的 T. f 菌落^[10]

Fig. 1 Colony of T. f on 9K solid medium

(2) T. t: 吸取种样品的温泉水 10 mL 放入盛有 30 mL 液体基础培养基的锥形瓶中，置于恒温水浴振荡器内，在 30 ℃及 160 r/min 的条件下培养。3 d 后，吸取上清液 10 mL 加入液体选择培养基 100 mL，于原条件下再培养 5 d 左右，溶液出现白色浑浊。再用相同办法转接一次。然后将培养好的菌液用无菌水稀释 1 000 和 10 000 倍，从中各取 0.2 mL 到盛有固体选择培养基的培养皿中涂布均匀，于 30 ℃的生化培养箱中倒置培养，约 3 d 后固体培养基上出现乳白色小点菌落（见图 2）。挑取外观均匀的菌落到盛有固体选择培养基的培养皿中反复划线培养数次。得到较纯的菌株之后，将其接入含液体选择培养基的试管中，置于 30 ℃及 120 r/min 的恒温水浴振荡器内培养备用。

1.3 硫杆菌的观察、鉴定与计数

取培养好的 2 种菌液，用草酸铵结晶紫染液染色，在 10×100 倍显微镜下观察，结合菌落特征，对照文献 [3] 进行鉴定，采用血球计数法对细菌计数。

2 浸出实验

2.1 污泥样品

浸出实验所用污泥采自广州市黄埔开发区活性污泥处理装置中的二沉池污泥。该污泥特性：密度为 1.011 06 g/L，含水率为 98.96%，pH 为 6.40。

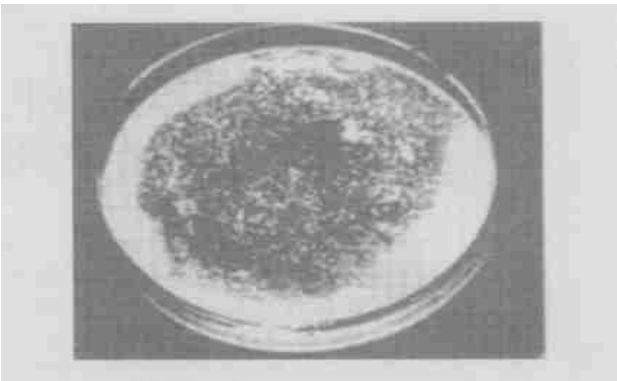


图 2 固体选择培养基上的 T. t 菌落^[10]

Fig. 2 Colony of T. t on selective solid medium

将污泥离心分离，所得上清液用浓硫酸、浓硝酸和高氯酸消解；将所得污泥固体研磨至通过 200 目筛，然后用浓硝酸、氢氟酸、浓盐酸和高氯酸消解，用火焰原子吸收分光光度法测定以上两种消解液的重金属含量，两者之和（液相+固相）即为污泥中该重金属的总含量。每千克干污泥中的重金属的含量为：Cu，7 618.73；Zn，1 795.13；Mn，12 04.66；Cr，301.45；Cd，121.48 mg。

2.2 实验方法与分析方法

浸出实验在 250 mL 锥形瓶中进行。各瓶试样均置于恒温水浴振荡器中，在 30 ℃及 120 r/min 的条件下，同时开始浸出。浸出实验开始后，每天用精密酸度计（PSH 2C）测定各试样的 pH 一次。待各瓶中的 pH 基本稳定后，停止浸出，并将各瓶浸出液用定性滤纸过滤。用火焰原子吸收分光光度法测定滤液的重金属含量。

金属浸出率 = $\frac{\text{浸出液中质量} - \text{所加污泥液相中质量}}{\text{所加污泥固相中质量}} \times 100\%$

3 结果与分析

3.1 不同底物浓度下单独用 T. f 和 T. t 的浸出实验

(1) T. f: 本实验采用 FeSO₄ 作为 T. f 的底物。在 5 个 250 mL 锥形瓶中均加入 10 mL 污泥、T. f 菌液 2 mL 及 0.005 g 硫粉。然后分别加入 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 g 的 FeSO₄·7H₂O。最后都加蒸馏水至 200 mL。初期各瓶中 pH 在 4.23~4.62 之间。浸出实验开始后，各瓶中的 pH 均持续下降，至第 6 天开始趋于稳定。在底物浓度较高的瓶中，pH 达到稳定所需时间也相对较长。8 d 后停止实验。此时各瓶的 pH 位于 2.67~2.89 之间。浸出结果见图 3。

(2) T. t: 本实验采用 Na₂S₂O₃ 作为 T. t 的底物。同样在 5 个 250 mL 锥形瓶中均加入 10 mL 污泥及 T. t 菌液 2 mL。然后分别加入 0.10、0.15、

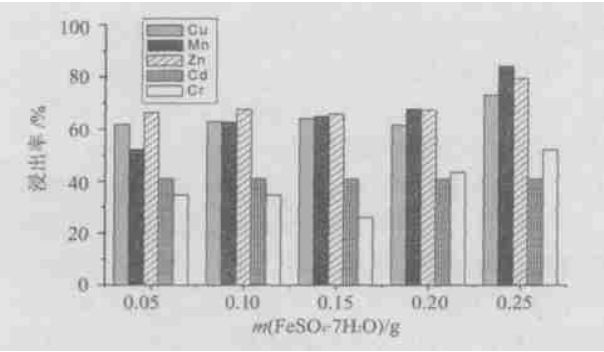


图 3 添加不同质量 FeSO_4 的 T. f 浸出效果比较

Fig 3 Rates of heavy metals removed by T. f with different concentration of FeSO_4

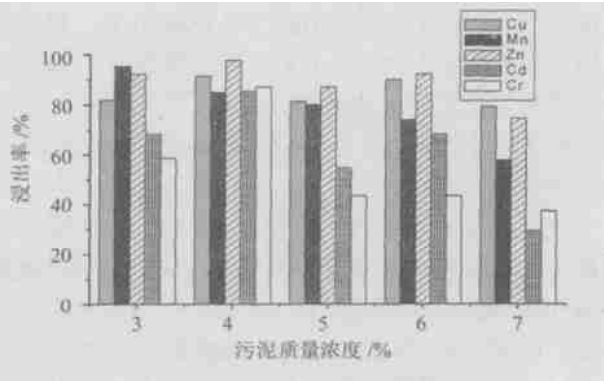


图 5 在不同污泥质量浓度下用 T. f 和 T. t 联合浸出的效果比较

Fig 5 Rates of heavy metals removed by T. f and T. t at different sludge concentration

0.20、0.25、0.30 g 的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 。最后均加蒸馏水至 200 mL。初期各瓶中 pH 在 6.80~7.06 之间。浸出实验开始后前 4 d 内，各瓶中的 pH 持续缓慢上升，最高达 7.78。自第 5 d 开始，各瓶中的 pH 明显下降。10 d 后停止实验。此时各瓶的 pH 分别为 2.68、4.16、3.09、3.66、3.04。浸出结果见图 4。

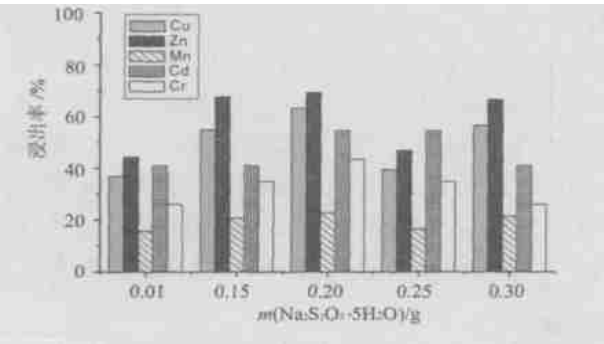


图 4 添加不同质量 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的 T. t 浸出效果比较

Fig 4 Rates of heavy metals removed by T. t with different concentration of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

3.2 不同污泥质量浓度下用 T. f 和 T. t 混合菌株的浸出实验

在 5 个 250 mL 锥形瓶中均加入 0.20 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、0.20 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.005 g 硫粉、T. f 菌液 1 mL 及 T. t 菌液 1 mL，然后分别加入 6、8、10、12、14 mL 的污泥。再加蒸馏水至 200 mL。初期各瓶的污泥质量浓度分别为 3%、4%、5%、6%、7%；且各瓶的 pH 在 5.40~5.58 之间。浸出初期，各瓶中的 pH 都略微升高，3~4 d 后开始下降。污泥质量浓度为 4% 的试样于第 6 天时测得本组实验的最低 pH 2.53。8 d 后停止实验。此时各瓶的 pH 在 2.56~3.19 之间。浸出结果见图 5。

3.3 不同起始 pH 条件下用 T. f 和 T. t 混合菌株的

浸出实验

在 5 个 250 mL 锥形瓶中均加入 0.20 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、0.20 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.005 g 硫粉、T. f 菌液 1 mL、T. t 菌液 1 mL 及 10 mL 污泥。然后都加蒸馏水至 200 mL。用硫酸将各瓶 pH 分别调至 5.46、4.33、3.47、2.96、1.98 后开始浸出实验。10 d 后停止实验。在起始 pH 为 1.98 的瓶中，pH 一直维持在 2.00 左右。其余各瓶的 pH 均先升高后再下降，到浸出结束时位于 2.34~2.89 之间。浸出结果见图 6。

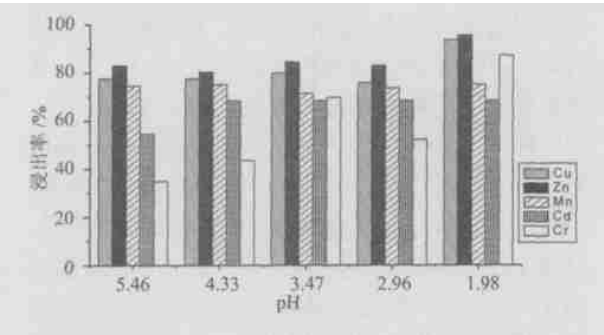


图 6 在不同起始 pH 条件下用 T. f 和 T. t 联合浸出的效果比较

Fig 6 Rates of heavy metals removed by T. f and T. t at different levels of initial pH

4 讨 论

4.1 生物浸出过程中 T. f、T. t 的行为与 pH 变化的关系

已往研究表明，嗜酸性的 T. f 具有特殊的基质摄取器官——鞭毛及较广泛的基质选择性，因而显示出较强的繁殖能力^[1]；而 T. t 因具有极端嗜酸性及相对专一的基质选择性，表现出较慢的生长速

度^[1,12]。本研究的结果印证了已往的结果: 在单独用 T. f 的浸出实验中, T. f 生长迟缓期短, 很快进入对数生长期, 迅速繁殖, 令 pH 稳定下降。当单独用 T. t 进行浸出时, 其生长迟缓期长, 利用底物的速度慢。

本研究采用的 T. t 底物为 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 在浸出初期, 它在溶液中可缓慢发生歧化反应, 生成亚硫酸钠和硫单质, 这两者都是 T. t 极易利用的还原性物质。同时, 硫代硫酸钠和亚硫酸钠的水解释放出 OH^- , 使 pH 缓慢上升。在经过一个 4~5 d 的迟缓期, T. t 才开始发挥其对硫和还原性含硫化合物的卓越的氧化能力而产生硫酸 (见反应 4), 使 pH 大幅下降。

本研究在使用 T. f 和 T. t 的混合菌株进行浸出的实验中, 添加了硫酸亚铁、单质硫和硫代硫酸钠 3 种底物。尽管 T. f 的数量占优势, 但仍需经历一个 4~5 d 的迟缓期, pH 才开始明显下降。由此可见, T. t 的增殖是溶液 pH 下降的关键性因素, 其增殖速度直接影响到浸出速率的大小。事实上, 在存在适合的还原性硫化物作为底物的条件下, T. t 对浸出起着比 T. f 更为重要的间接作用^[13]。

4.2 底物浓度对 T. f 和 T. t 浸出效果的影响

一般来说, T. f 的最适底物为 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 。当亚铁浓度越高, T. f 产酸能力越强, pH 越低, 重金属的浸出效果越好。如图 3 所示, 当底物添加量超过 0.2 g (约占污泥质量的 2%) 时, 除 Cd 外, 其他金属的浸出率均有较大的提高。但过多的 Fe^{3+} 也会抑制 T. f 的生长。当 Fe^{3+} 浓度达到一定数值时, 在空气中可部分转化为黄铵铁矾 $[\text{NH}_4\text{Fe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6]$, 它可显著抑制生物浸出的效率^[1]。目前工业上应用 T. f 进行浸出时, 亚铁浓度普遍控制在 5% 左右, 相当于里腾氏培养基中亚铁的浓度。故建议在用 T. f 进行浸出时, 亚铁的浓度不宜超过 5%。

硫代硫酸根离子是一种重金属配位体, 当其在溶液中达到一定的浓度时, 能与重金属离子如 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 等形成稳定的络合物, 使其浸出率降低。故在一定条件下用 T. t 进行浸出时, 应有一个最适的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 浓度值与之对应, 在此浓度下, 浸出效果最好。由图 4 可见, 在本研究的条件下, 当向污泥中添加约占污泥质量 2% 的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 时, 浸出效果最好。当 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 的浓度高于或低于这个值时, 浸出率均会降低。

如图 3 和图 4 所示, 由于 Cr 能与污泥中的有机物结合为较强的金属键, 2 种菌对 Cr 的浸出效

果都较差, 且底物浓度对其浸出率都没有显著影响。T. t 对 Mn 的浸出率较低, 但对 Zn 的浸出率较高。T. f 对 Cu、Mn、Zn 的浸出率均较高, 尤其是 Mn 的浸出率随底物浓度增加有显著的升高。

4.3 污泥浓度对 T. f 和 T. t 混合菌株浸出效果的影响

从经济的角度看, 生物浸出过程采用的污泥浓度越高, 就越有利于降低运行成本。然而, 污泥是一个复杂的缓冲体系, 其浓度越高, 对 pH 的缓冲性能越好, 使 pH 下降也越困难^[1]。而且, 高浓度的污泥也将释放更多的抑制因子, 使硫杆菌的生长速度减慢, 进而降低浸出率。因此在浸出过程中似乎应存在一个最佳污泥浓度值。

图 5 的结果印证了上述推论。在污泥质量浓度为 4% 时, 除 Mn 外, Cr、Cd、Cu、Zn 的浸出率均取得最大值, 故生物浸出较理想的污泥质量浓度值应在 4% 左右。

4.4 起始 pH 对 T. f 和 T. t 混合菌株浸出效果的影响

如图 6 所示, 当起始 pH 低于 2.0 时, 各金属的浸出率普遍较高。但如将起始 pH 调得太低, 需要消耗大量的酸, 亦有悖于生物浸出的目的。当起始 pH 位于 3.0~5.5 之间, 到浸出结束时, 各试样的最终 pH 均趋于 2.0~3.0 之间, Cu、Zn、Cd、Mn 的浸出率均无显著差异。不同起始 pH 条件下 Cr 的浸出率有显著差异, 当起始 pH 为 3.47 时取得除 pH 1.98 外的最大值。另外考虑到浸出系统中, 优势菌种 T. f 的最佳生长 pH 在 3.0~3.5 之间^[14], 故建议将浸出的起始 pH 控制在 3.5 左右。

参考文献:

- [1] 周顺桂, 周立祥, 黄焕忠. 生物淋滤技术在去除污泥重金属的应用[J]. 生态学报, 2002, 22(1): 125-133.
- [2] KLAUS B. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1997(20): 591-604.
- [3] HOLT J G, KRIEG N R, SNEATH P H A, et al. Bergey's manual of determinative bacteriology[M]. 8th Baltimore: The William & Wilkins Co, 1994.
- [4] SREEKRISHNAN T R, TYAGI R D. A comparative study of the cost of leaching out heavy metals from sewage sludge[J]. Process Biochemistry, 1996, 31: 31-41.
- [5] TYAGI R D, MEUNIER J, BLAIS J F. Simultaneous sewage sludge and metal leaching: effect of temperature[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1996, 46: 422-431.
- [6] 邱进申, 邱建辉, 赵新巧. 氧化亚铁硫杆菌分离复壮的研究[J]. 河北工业大学学报, 2002, 31(1): 84-87.
- [7] 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.
- [8] 张冬艳. 氧化亚铁硫杆菌 C-1 菌株的分离及特性研究[J]. 内蒙古工业大学学报, 1995, 14(1): 27-30.
- [9] 吴根, 任爱玲. 烟气脱硫细菌的筛选、培养及性能研究

- [J]. 河北科技大学学报, 2001, 22(2): 19—21.
- [10] 张在海, 邱冠周, 胡岳华, 等. 不同富集菌种的浸矿比较研究[J]. 有色矿冶, 2000, 16(4): 11—14.
- [11] 邹平, 杨家明, 周兴龙, 等. 嗜热嗜酸菌生物浸出低品位原生硫化铜矿[J]. 有色金属, 2003, 55(2): 21—24.
- [12] 张传福, 闵小波, 柴立元, 等. 氧化亚铁硫杆菌生长迟缓期的影响因素[J]. 中南工业大学学报, 1999, 30(5): 489—492.
- [13] DONATI E, CURUTCHET G, POGLIANI G, et al. Bioleaching of covellite using pure and mixed cultures of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*[J]. Process Biochemistry, 1996, 31(2): 129—134.
- [14] 刘晶, 张灼, 韩秀芳. 硫杆菌(*Thiobacillus*)的分离培养及其生长特性的研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 1996, 18(2): 118—121.

Removal of Heavy Metals Contained in Sewage Sludges Using *Thiobacillus Ferrooxidans* and *Thiobacillus Thiooxidans*

*SHEN Lei*¹, *ZHANG Tai ping*², *JIA Xiao shan*¹

(1. Department of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Department of Environmental Science and Engineering,

South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The removal of heavy metals from sewage sludges is a problem that is exigent to be solved. Bioleaching is a new method for removing heavy metals from sewage sludges. It is considered to be an effective method with low costs and without causing secondary pollution. In this study, bioleaching method was applied to leach metals such as Cu, Zn, Mn, Cr and Cd contained in sewage sludges. Firstly, *thiobacillus ferrooxidans* (T. f) and *thiobacillus thiooxidans* (T. t) were obtained from a hot spring containing sulphur after a series of cultivating, separating and purifying. Then, the leach characteristics of T. f and T. t were investigated at different levels of substrate respectively and the influences of some basic factors such as substrate concentration, sludge concentration and initial pH on removal of heavy metals during bioleaching were studied. The results show that the efficiency of removing heavy metals of T. f is better than T. t and most of the heavy metals contained in sewage sludge can be effectively removed by T. f and T. t.

Key words: bioleaching; *thiobacillus ferrooxidans* (T. f); *thiobacillus thiooxidans* (T. t); sewage sludge; heavy metals