

生物淋滤技术在去除污泥中重金属的应用

周顺桂¹, 周立祥^{1*}, 黄焕忠²

(1. 南京农业大学资源与环境学院, 南京 210095; 2. 香港浸会大学生物系, 香港)

摘要:利用微生物方法去除污泥中重金属(生物淋滤法)具有成本低、去除效率高、脱毒后污泥脱水性能好等优点, 近年来在国际上备受关注。生物淋滤法采用的主要细菌为氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*)和氧化硫硫杆菌(*Thiobacillus thiooxidans*), 在其作用下, 污泥中以难溶性金属硫化物被氧化成金属硫酸盐而溶出, 通过固液分离即可达到去除重金属的目的。污泥的生物淋滤效果受温度、O₂ 和 CO₂ 浓度、起始 pH、污泥种类与浓度、底物种类与浓度、抑制因子、Fe³⁺ 浓度等的影响。较为详细地介绍了生物淋滤法的作用机理及高效去除污泥中重金属的操作程序, 并对其在环境污染治理方面的应用前景作了分析。

关键词:生物淋滤法; 污泥; 重金属; 去除

Removal of Heavy Metals From Sewage Sludge by Bioleaching

ZHOU Shun-Gui¹, ZHOU Li-Xiang¹, WONG Woo-Chung² (1. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Department of Biology, Hong Kong Baptist University, Hong Kong, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(1): 125~133

Abstract: Land application is becoming the more appropriate option for the final disposal of sewage sludge from wastewater treatment plants. However, the presence of heavy metals such as zinc, copper, chromium, cadmium and lead at levels higher than the recommended levels is always one of the major obstacles to its general use. Reduction of heavy metals in sewage sludge through source control is relatively expensive and impractical. Therefore, removal of heavy metals prior to land application has led to the development of chemical methods, such as EDTA extraction and acid solubilization, and bioleaching (also called biological solubilization). Chemical solubilization of heavy metals from sewage sludge has never been applied because of high cost, operational difficulties and large consumption of chemical agents. Bioleaching appears to be more practical and economically viable alternative for sludge decontamination and management. Under optimum bioleaching conditions, Zn, Cd, Ni and Cu can be almost completely removed, whereas the removal efficiency of Pb and Cr is lower. The major microorganisms responsible for bioleaching are a variety of acidophilic and chemoautolithotrophic bacteria such as *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*, which can be isolated from sewage sludge. Other bacteria such as *Leptospirillum ferrooxidans* or heterotrophic acidophiles can also be involved. Their biological characteristics are briefly described while the pattern of bio-oxidation of Fe²⁺ by *T. ferrooxidans* is discussed in detail in this review.

The solubilization mechanism of bioleaching can be direct and indirect. In the direct mechanism, metal sulfides can be oxidized into sulfates by these acidophilic bacteria. In the indirect mechanism, Fe³⁺ generated from the oxidation of Fe²⁺ by *T. ferrooxidans* or other iron-oxidizer reacts in a purely chemical way with metal sulfides to produce Fe²⁺ again. This Fe²⁺ can be oxidized by *T. ferrooxidans* repeatedly in a cyclic

基金项目: 国家自然科学基金(20177016)和江苏省自然科学基金(BK2001072)资助项目

收稿日期: 2000-12-07; 修订日期: 2001-05-18

* 通信联系人 (lxzhou@njau.edu.cn)

作者简介: 周立祥, 男, 湖南人, 博士。主要从事环境污染化学研究。

process. Sulfur produced in this process will then be oxidized into sulfuric acid by these bacteria, which caused the decrease in pH. Bioleaching is a simple and inexpensive process consisting of preacidification of sludge to pH 4.0 or 4.5 (preacidification is not required according to some authors), addition of low-cost substrate such as metallurgical grade $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, or elemental sulfur, and recirculation of the partially leached sludge as inoculum. Nutrient amendmen including nitrogen, phosphate and other nutrients is inessential due to the presence of sufficient nutrients in sewage sludge. After aerobic incubation for a few days or weeks, the leached sludge can be dewatered using centrifuge or other solid-liquid separation methods. The leached sludge can be neutralized with lime, while precious metals can be recovered from the solution phase.

The process efficiency is dependent on several factors including temperature, oxygen and carbon dioxide concentration, initial pH, the types and concentration of substrates, the types and solids concentration of sewage sludge, inhibitory factors, and ferric iron, etc. Among these factors, temperature, oxygen and carbon dioxide concentration, initial pH, and the types and concentration of substrates, are key parameters for optimizing the bacteria growth. Different sewage sludges (primary, activated sludge and anaerobically digested sludge), when subjected to different treatment conditions, show different metal removal efficiency. In operational design, inhibitory factors such as heavy metal ions, anions and dissolved organic matter must be eliminated or diminished before recirculation of the partially leached sludge as inoculum. Besides, keeping a high ferric iron is in favor of the indirect attack on the metals sulfides.

Bioleaching has several advantages as compared to chemical methods, which can be enumerated as follows: reducing acid consumption by more than 80%, increasing the specific resistance coefficient to filtration significantly, easier dewatering of the leached sludge without the addition of polymeric flocculation agents, and lower leaching loss of the fertilizer value of sewage sludge after bioleaching. Promising results have been obtained from Canadian researchers through incorporating the bioleaching process in the sludge digestion process i.e., the simultaneous sewage sludge digestion and metal leaching process. In this review paper the problems associated with the scaling up of the bioleaching process for heavy metal removal from sewage sludge will also be discussed.

Key words: bioleaching; sewage sludge; heavy metals; removal

文章编号:1000-0933(2002)01-0125-09 中图分类号:X171,X703.1 文献标识码:A

污水污泥是指污水处理厂在净化污水过程中产生的沉淀物,它虽然含有大量的有机质及氮、磷等植物养分,但也富集了污水中 50%至 80%的重金属。据报道,我国多数城市污泥中重金属含量可达数百至数千 mg/kg ^[1]。目前,污泥的处置方式主要有填埋、焚烧、投海和土地利用等。基于处置费用和废物资源化角度考虑,污泥农业利用被认为是最具吸引力的、可持续的污泥处置方法^[2]。然而,污泥中较多重金属始终是污泥安全农用的限制因子^[3]。因此,降低或去除污泥中的重金属显得非常重要和迫切。利用无机酸或有机络合剂如 H_2SO_4 、 HNO_3 、 HCl 、EDTA 等处理污泥以溶解和浸提重金属的化学浸提法,虽能在短时间内大幅度去除重金属,但耗酸量大、处理费用高、操作不便,使其难以付诸于工程实际。而起源于微生物湿法冶金的生物淋滤法(Bioleaching)因耗酸极少、运行成本低、重金属去除效率高、实用性强等具有许多化学浸提法不可替代的优点而越来越受到关注^[4]。

生物淋滤法是指利用自然界中一些微生物的直接作用或其代谢产物的间接作用,产生氧化、还原、络合、吸附或溶解作用,将固相中某些不溶性成分(如重金属、硫及其它金属)分离浸提出来的一种技术。它应用于难浸提矿石或贫矿中金属的溶出与回收又称微生物湿法冶金(Biohydrometallurgy)。20 世纪 50 年代美国就开始利用生物淋滤法浸出铜矿,20 世纪 60 年代加拿大浸出铀矿,以及 20 世纪 80 年代对难处理的金矿细菌氧化预处理的工业应用相继成功^[5]。目前全世界,通过该法开采的铜、铀、金分别占总量 15%~

30%、10%~15%、20%^[6]。它的研究和应用正扩展到环境污染治理等领域,例如,污水污泥或者其焚烧灰分中重金属去除^[4,7-8];重金属污染土壤、河流底泥的生物修复^[9];工业废弃物如粉煤灰中重金属脱毒与钛、铝、钼等贵金属的回收^[6];煤和石油中硫的脱除^[10,11]等。

1 生物淋滤法采用的主要细菌及其生物学特性

早在1670年,在西班牙的Rio Tinto矿山,人们就已知道从矿山浸出水中沉淀回收铜^[12]。然而,直到近300a以后,人们才知道在自然界的酸性矿水或污泥中普遍存在一群嗜酸性的无机化能自养菌^[5]。

目前,可用来进行生物淋滤的细菌有硫杆菌属(*Thiobacillus*)、铁氧化钩端螺旋菌(*Leptospirillum ferrooxidans*)、硫化杆菌属(*Sulfobacillus*)、酸菌属(*Acidianus*)、嗜酸菌属(*Acidiphilium*)以及其它与硫杆菌联合生长的兼性嗜酸异养菌。其中,应用最广泛的是氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*),其次是氧化硫硫杆菌(*Thiobacillus thiooxidans*)和铁氧化钩端螺旋菌(*Leptospirillum ferrooxidans*),它们的主要生物学特

表1 生物淋滤法采用的主要细菌及其生物学特性 征见表1^[12~15]。

Table 1 Major bacteria for bioleaching and their biological characteristics			
	氧化亚铁 硫杆菌 <i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	氧化硫硫 杆菌 <i>Thiobacillus thiooxidans</i>	铁氧化钩 端螺旋菌 <i>Leptospirillum ferrooxidans</i>
细菌形状与大小 Shape and dissension of the bacteria	杆状 (0.5×1.0μ) Rod-shaped	杆状 (0.5×1.0μ) Rod-shaped	螺旋状 vibrioid- shaped
运动性 Movable	+	+	+
鞭毛 Flagellum	单极鞭毛 Monopolar flagella	极鞭毛 Polar flagella	鞭毛 Flagella
革兰氏染色 Gram staining	—	—	ND
最适温度 Optimum temperature(℃)	30~35	28~30	25~35
最适 pH Optimum pH	2~3	1.5~2.0	1.5~2.0
专性好氧 (G+C)mol%	是 yes 55~57	是 yes 50~53	是 yes 50~57
Obligate aerophil			
碳源(是否以CO ₂ 的作为唯一碳源) C source(CO ₂ as a sole C source?)	是 yes	是 yes	是 yes
氮源 N source	*		
NH ₄ ⁺ -N	+	+	ND
NO ₃ ⁻ -N	±	—	ND
能量 Energy			
元素硫	+	+	—
Elemental sulfur			
亚铁	+	—	+
Ferrous iron			
硫代硫酸钠	+	+	—
Na ₂ S ₂ O ₃			

* 表示能固定空气中的氮气^[16],ND表示没有数据

氧化亚铁硫杆菌是中温、好氧、嗜酸、专性无机化能自养菌,其生物膜(Biomembrane)由外膜、肽聚糖、周质区和内膜构成^[17~19](图1)。周质区存在铁氧化酶(Iron oxidase),从外界培养液跨膜运输到周质区的Fe²⁺离子在铁氧化酶催化下失去一个电子,这个电子经过铜蛋白、细胞色素C(Cyto. c)、色素氧化酶(Cyto. a1)最终传递给分子氧,并伴随H⁺和能量的吸收,这一能量使细胞内ADP(二磷酸腺苷)和Pi(无机磷)结合成ATP(三磷酸腺苷)使细菌得以生长繁殖^[19]。氧化亚铁硫杆菌中的铁大部分以高铁状态与脂多糖结合^[20]。

另外,在酸性矿水或污泥中广泛存在的氧化硫硫杆菌也是中温、好氧、嗜酸、专性无机化能自养菌,但它只能通过氧化元素硫、硫代硫酸钠等还原性硫而获得能量^[8]。

Markosyan等首次报道在同样的酸性矿水中还存在另一种依靠亚铁的生物氧化以获得能量的无机化能自养菌-铁氧化钩端螺旋菌(*Leptospirillum ferrooxidans*)^[15]。Helle和Onken发现在硫杆菌溶液中添加铁氧化钩端螺旋菌(*L. ferrooxidans*)可显著提高生物淋滤的速率^[21]。Rawling等认为在大规模的连续搅拌池式反应器(CSTR)中,铁氧化钩端螺旋菌(*L. ferrooxidans*)数量超过氧化亚铁硫杆菌(*T. ferrooxidans*)的主要原因是它可适应更高的氧化还原电位、温度以及对亚铁具有更高的亲合力。Eh超过690mV时,该菌对亚铁的生物氧化活性就高于氧化亚铁硫杆菌,因而在生物淋滤中的应用越来越受到重视^[22]。

这些嗜酸菌的另一个特性是能耐高浓度的重金属离子的毒性,如Zn 120g/L、Ni 72g/L、Co 30g/L、Cu 55g/L以及160g/L的亚铁,但对有机物有一定的敏感性^[23]。

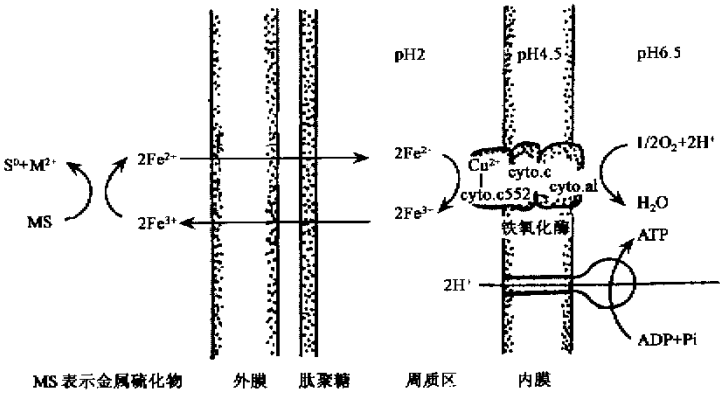


图1 氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*)对 Fe^{2+} 的生物氧化模式以及氧化硫化物的间接机理^[17~19]
Fig. 1 The pattern of bio-oxidation of Fe^{2+} by *Thiobacillus ferrooxidans* and indirect mechanism of oxidizing sulfide

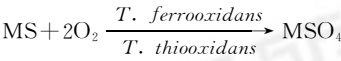
2 生物淋滤法去除污泥中重金属的机理、方法与效果

2.1 生物淋滤重金属的机理

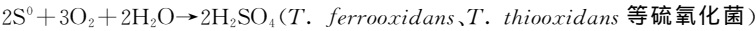
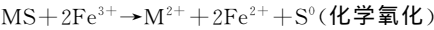
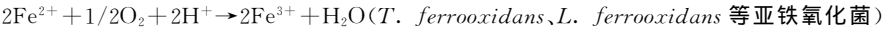
厌氧消化污泥是国内外污泥消化的主要形式,厌氧消化污泥中重金属 70%以难溶性的硫化物(Cr 主要以 $\text{Cr}(\text{OH})_3$ 形式)形式存在^[24],在氧化亚铁硫杆菌等细菌的作用下,金属硫化物变成可溶性的金属硫酸盐,通过固液分离可达到去除污泥中重金属的目的。

一般认为氧化亚铁硫杆菌的溶出污泥中重金属有两种作用机理^[25,26]:

(1)直接机理 细菌通过其分泌的胞外多聚物直接吸附在污泥中金属硫化物(MS)表面,通过细胞内特有的氧化酶系统直接氧化金属硫化物,生成可溶性的硫酸盐。



(2)间接机理 主要是利用氧化亚铁硫杆菌的代谢产物——硫酸高铁,与金属硫化物起氧化-还原作用。硫酸高铁被还原成硫酸亚铁并生成元素硫,金属以硫酸盐形式溶解出来,而亚铁又被细菌氧化成高铁,元素硫被细菌氧化生成硫酸,构成一个氧化-还原的循环系统。通过生物淋滤,污泥 pH 下降到 2.0 左右,这又大大促进了污泥中重金属的溶解,其反应如下:



2.2 生物淋滤法去除污泥中重金属的程序与去除效率

为获得较高的重金属去除效果与缩短滞留时间,在实际应用或连续运行的工艺设计中,开始时常采用以下 5 个步骤^[27,28]:(1)污泥(含固率 2%~10%)预酸化至 pH4.0 左右(近来有报道无须预酸也可获得成功^[29]);(2)添加能量物,如 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (5~20g/L 污泥)、元素硫(5~10g/L 污泥);(3)回流污泥以添加接种物(回流率在 10%~20%, V/V),搅拌并在好气条件下培养数天至数周;(4)脱毒污泥压滤脱水;(5)脱水污泥经石灰中和后施入土地。一般来说,在连续运行的反应池中 Cu、Zn、Ni、Cd、Co、Mn 的去除率达 80% 以上,但 Pb、Cr 的去除率较低(见表 2)。在实际工程中,气浮式反应池必须要有曝气装置,以提供好氧条件。

2.3 生物淋滤法去除污泥重金属的优越性与可行性

生物淋滤法有效地去除污泥中重金属,而且还具有以下优越性:①与无机酸溶解法相比,耗酸量可节约 80%^[28];②厌氧消化污泥压滤脱水时,一般每吨干污泥需添加 5 kg 聚凝剂,而经生物淋滤的污泥

表 2 污泥生物淋滤中重金属的去除效率

Table 1 Removal efficiencies of heavy metals from sewage sludge by bioleaching

底物 Substrate	污泥起 始 pH Initial pH	滞留时间 (d) Retention time	反应器 种类 Reactor type	回流率或 接种量(%) Recirculation rate(V/V)	去除率(%) Removal efficiency					参考文献 References
					Cu	Zn	Cr	Pb	Ni	
FeSO ₄ ·7H ₂ O	4.0	10	序批式 Batch	5	39~94	66~98	0~32	0~31	37~98	[26]
硫粉 Sulfur	7.0	5	序批式 Batch	5	69~92	88~97	19~41	10~54	77~88	[8]
硫粉 Sulfur	7.0	16	内圈式 Internal loop	15	61~99	83~96	34~46	17~44	57~84	[7]
FeSO ₄ ·7H ₂ O	4.0	0.75	CSTR	20	92	94	ND	ND	67	[27]

* CSTR 表示连续搅拌池式反应器 Continuous Stirred Tank Reactor, ND 表示没有数据

脱水性能比厌气消化污泥强 38 倍,因此脱水时不需要添加聚凝剂,这可大大节省污泥脱水成本^[30];③污泥经生物淋滤处理,可有效去除污泥中重金属,其矿质养分 N、P 等的损失又很小,污泥的肥料价值不受太大影响^[30];④Benmoussa 等探讨了污水污泥消化与同步生物淋滤(SSDML)的可行性,发现由于污泥的生物淋滤过程中硫酸的产生,pH 可很快降到并维持在 pH2.0~2.5 的范围内。这不仅可有效地去除污泥中重金属,而且对病原体、挥发性悬浮固体的降低效果与好气消化过程相近或更好,这样污泥中重金属的去除与消化可以一次完成,从而降低对能源的大量需求与运行费用^[7]。

Couillard 等曾对加拿大的一个污水处理厂(日处理污水 388 000m³)的污泥处置方式进行了详细的经济分析,结果发现,污泥经生物淋滤处理后土地利用的费用均低于其他所有处置方法,因此在经济上是完全可行的^[28]。

3 影响生物淋滤过程中重金属去除效率的因素

3.1 温度

温度对重金属去除效率的影响,主要是通过影响细菌的生长与增殖,进而影响到淋滤过程中污泥的酸化速率来达到的^[31]。Tyagi 等比较了硫杆菌不同温度对污泥的酸化的影响,发现在 7、14、21、28、35℃下污泥 pH 降到 2.0 需要的时间分别为 336、240、192、120、120 h,而当 42℃时 pH 根本不能降到 2.0^[32]。

根据适宜温度的不同,生物淋滤法采用的细菌主要分为以下几类^[9]:

- (1) 中温性菌如 氧化亚铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*)、氧化硫硫杆菌(*T. thiooxidans*)、器官硫杆菌(*T. organoparus*)、嗜酸硫杆菌(*T. acidophilus*)、温浴硫杆菌(*T. tepidarius*)与铁氧化钩端螺旋菌(*Leptospirillum ferrooxidans*)。
- (2) 中等嗜高温菌如:热氧化硫化杆菌(*Sulfobacillus thermosulfidooxidans*)。
- (3) 嗜高温古细菌如:嗜酸热硫化叶菌(*Sulfolobus acidocaldrius*)、硫磺矿硫化叶菌(*Sulfolobus solfataricus*)、布氏酸菌(*Acidianus brierleyi*)。

其中硫杆菌和铁氧化钩端螺旋菌的最适温度为 30℃左右,生物淋滤过程中温度不应超过 40℃;热氧化硫化杆菌的最适温度为 45~55℃;嗜酸热硫化叶菌、硫磺矿硫化叶菌、布氏酸菌的最适温度为 70℃左右,温度不应超过 80℃。实际上,在大规模的应用中,室外温度往往有可能低于 10℃,因此要注意将温度控制在细菌生长下限之上。

3.2 氧气浓度

由于生物淋滤过程中起主要作用的细菌都是专性好氧的无机化能自养菌,氧气的供应量与细菌的生长繁殖息息相关。在最适的 pH 条件下,氧化亚铁硫杆菌催化的亚铁生物氧化速率是化学氧化的 10⁵~10⁶ 倍,最大耗氧量为 2000μl/(mg 细胞 N·h)^[23,33]。而 30℃下,水中的 O₂ 饱和浓度仅为 7.5mg/L,在温度更高的酸性条件下 O₂ 溶解度还要下降。因此必须采取措施保证在淋滤过程中有足够的氧气供应。在气浮

式反应器(ALR)中一般通过从底部鼓入空气(一般每升污泥每分钟通入 1L 空气)来增加 O_2 与 CO_2 供应量,在连续搅拌池式反应器(CSTR)中一般采用高速搅拌来增加空气与液相的接触,也可从底部鼓入空气(一般每升污泥每分钟通入 0.5L 空气),但这些措施都需消耗大量的能源^[4]。在大规模应用过程中氧气的供应状况是制约污泥中重金属去除效率的最重要的因子之一。

3.3 二氧化碳浓度

无机化能自养菌通过 Calvin-Benson 循环来同化 CO_2 ^[34]。Holuigue 等研究了 CO_2 对氧化亚铁硫杆菌(*T. ferrooxidans*)生长速率的影响,发现在 0.1% 浓度的 CO_2 下,*T. ferrooxidans* 生长速率是 0.03% 的 2 倍。他们同时研究了不同浓度 CO_2 对核酮糖-1,5-二磷酸羧化加氧酶活性的影响,发现该酶在 CO_2 浓度为 0.35% 时(相当于溶液中 5.0mg/L 的 CO_2 浓度)比活性最大^[35]。Torma 等研究 0.03%~7.92% 范围内 CO_2 浓度对 ZnS 的浸出率的影响,发现空气中 CO_2 为 0.23% 时,ZnS 的浸出率达最大值,但是甚至 CO_2 浓度高达 7.9% 也无抑制作用^[13]。Nagpal 等证明生物淋滤过程中细菌利用的 CO_2 与 O_2 的摩尔比在 20:1 左右,这就要求在空气中补充约 1.0% 的 CO_2 ^[36],然而这些结果都是在微生物湿法冶金得到的。迄今为止,还没有研究者报道在污泥生物淋滤的通气过程中需要额外补充 CO_2 ,这可能是由于污泥有机质在淋滤过程中降解产生的 CO_2 能够提高的溶液中 CO_2 浓度之故。

3.4 起始 pH 值

大多数研究者都将污泥的起始 pH 值调到 4.0~4.5,这大约需要 72g 浓硫酸/kg 干污泥^[28]。Jain 等发现污泥中至少存在两类嗜酸程度不同的硫杆菌,它们的最适宜 pH 分别为 7.0 和 4.0,因此只要存在合适的底物。弱嗜酸性的硫杆菌会首先增殖,将 pH 降到一定程度,强嗜酸性的硫杆菌即逐渐增殖,pH 进一步下降^[34]。Sreekrishnan 等通过向污泥中添加 0.5% 的还原性硫粉在 28℃ 下振荡培养,以此驯化污泥作为接种物,然后向 7.0、6.0、5.0、4.0、3.0 等不同起始 pH 的待淋滤污泥(含固率为 22.8g/L)添加 5% 的接种物,28℃ 下振荡培养,发现,不同起始 pH 的处理并不影响重金属去除效率,起始 pH 为 7.0、6.0 的处理达到最大产酸速率的时间为 96h,只比 5.0、4.0、3.0 的处理晚 24h^[37]。最近 Wong^[29]等利用 20g/L 的 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 作底物,利用驯化的内源亚铁氧化菌淋滤未预酸化的污泥,16d 后污泥中 Cu、Zn、Cd 去除率分别为 63.7%~74.1%、79.4%~88.2%、50.2%~78.4%,与预酸化到 pH4.0 的污泥无明显差异。表明,只要添加适量的底物(如还原性硫粉、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$),不采取预酸化措施也可达到几乎相同的重金属去除效率。

3.5 污泥的种类与浓度

由于不同类型污泥(一沉污泥、活性污泥、消化污泥)中重金属存在状态不同,污泥的种类和特性会影响生物淋滤效率。而且,污泥的不同消化方式也对重金属去除率有影响。Tyagi^[26]等从不同的污水处理厂采集了 19 种各种类型的污泥(厌氧消化、好氧消化),利用驯化的内源亚铁氧化菌进行生物淋滤试验,10d 后发现厌氧消化污泥中铜去除率高于好气消化污泥,分别为 63%~75%与 39%~65%。

从经济的角度看,生物淋滤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,浓度越高,对 pH 的缓冲性能越好,因而淋滤过程 pH 下降也越困难。而且,高浓度的污泥也意味着生物淋滤过程中将释放更多的抑制因子(如重金属离子和有机物)。Steekrsknan 等利用污泥内源硫细菌,对含固率 7~70g/L 的污泥进行生物淋滤过程,发现污泥 pH 下降速率随浓度增加而降低,Cr、Cd、Pb 的去除效率降低,但 Cu 和 Zn 几乎不受影响^[37]。由于污泥中 N、P、Mg、K 的含量足够细菌的生长和增殖,因此在污泥淋滤过程不必添加 N、P、Mg、K 等养分^[38]。

3.6 底物种类与浓度

细菌对不同底物(亚铁或还原态硫)进行生物氧化获得能量时,其世代时间是不同的,如氧化亚铁硫杆菌以 Fe^{2+} 为底物时,世代时间为 6.5~15h,以硫为底物时,世代时间则长达 10~25h,而且需要一个很长的适应期^[23]。因此,以 Fe^{2+} 为底物比还原态硫更有利于氧化亚铁硫杆菌的增殖。然而与氧化还原态硫产生硫酸相比,氧化亚铁硫杆菌氧化 Fe^{2+} 成 Fe^{3+} 过程是耗酸的,整个生物淋滤过程的 pH 下降依赖于 Fe^{3+} 的水解及中间产物硫酸,因而以 Fe^{2+} 为底物的产酸效果不如以还原态硫为底物的。因此,许多研究者报道元素硫比 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 更有效^[7,8,30]。

另外,不同的底物对氧化亚铁硫杆菌分泌胞外多聚物(EPS)也有显著的影响。Gehrke 等在以黄铁矿、元素硫、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (可溶)为底物进行生物淋滤时,发现氧化亚铁硫杆菌分泌的 EPS 的数量分别为 $2760\mu\text{g}/10^{10}$ 、 $1155\mu\text{g}/10^{10}$ 、 $215\mu\text{g}/10^{10}$ 细胞,并且 EPS 的组成成分与性质也有所不同。底物的存在状态对 EPS 的分泌影响极大,不溶性底物可刺激 EPS 的分泌。他们同时证实了 EPS 对于生物淋滤的重要性, EPS 在细菌与硫颗粒、硫化物或不溶性的固体亚铁盐直接接触中起桥梁作用(缺乏 EPS 的氧化亚铁硫杆菌不能附着在这些固体颗粒表面),而两者的直接接触是细菌发挥生物淋滤作用的前提^[39]。

Tyagi 等研究了 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 添加物对重金属去除效率的影响,发现向污泥中添加 $20\text{g}/\text{L}$ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、Zn 的浸出速率比未加的可提高 2 倍、Cu 可提高 1.9 倍,当 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 超过 $20\text{g}/\text{L}$ 时,浸出速率即不再增加^[40]。近期研究也发现,在污泥生物淋滤添加 $20\text{g}/\text{L}$ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 作为底物,淋滤 8 d 后 Cu、Zn 的去除率为 93% 和 85%, 是对照的 6 倍和 3.2 倍^[41]。另外,不同底物的配合使用对重金属去除效率的也有显著影响。通过加富培养从污泥分离到的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 添加物,将之接种(10%V/V)到辐射灭菌污泥中,并且添加 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (30g/L 污泥)和元素硫(0.5g/L 污泥)作为底物,发现与单一底物($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 或元素硫)相比,两者配合时 Cu、Cr 的去除率显著提高(未发表)。

3.7 抑制因子

(1)重金属阳离子 以 Ag^+ 和 Hg (一价或二价)的毒害最强, $0.1 \sim 1\text{mg}/\text{kg}$ Ag^+ 几乎完全抑制了细菌的生长,也抑制氧化亚铁硫杆菌对亚铁的生物氧化,这种抑制作用比 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 强 5000~200,000 倍。重金属阳离子的毒害主要在于使蛋白质变性,Roy Mahapatra 等报道 EDTA 可缓解重金属阳离子毒害^[42]。

(2)阴离子 以硫氰酸盐的抑制作用最强, $5\text{mg}/\text{kg}$ 几乎完全抑制了细菌的生长与氧化亚铁硫杆菌对亚铁的生物氧化,而 $50\text{mg}/\text{kg}$ 的 MoO_4^- 也可达到相同的抑制程度。另外,价态也影响抑制作用的大小,如砷酸盐达到 $40\text{g}/\text{kg}$ 就开始抑制细菌生长,而亚砷酸盐只需 $5\text{g}/\text{kg}$,氯化物、硝酸盐的浓度分别超过 $6\text{g}/\text{L}$ 、 $3\text{g}/\text{L}$ 时,能减慢氧化亚铁硫杆菌对亚铁的生物氧化。

(3)水溶性有机物,特别是小分子有机酸对无机化能菌有毒害作用 Flournier 等发现氧化亚铁硫杆菌在高温灭菌的污泥(高温灭菌有利于小分子有机物生成)中几乎不能氧化 Fe^{2+} 与酸化污泥,而添加从氧化塘分离到的深色红酵母(*Rhodotorula rubra*)可显著提高污泥酸化速率,因而也显著提高重金属的去除效率。而在氧化亚铁硫杆菌的双层琼脂培养中添加嗜酸梳杆菌(*T. acidophilus*)或 *R. rubra* 可将氧化亚铁硫杆菌的平板效率提高 1~3 倍^[43]。Harrison 等从美国宾夕法尼亚州某煤矿的酸性废水中分离出隐藏嗜酸菌(*Acidiphilum cryptum*),这些与无机化能菌生活在一起的异养菌可能是普遍存在的,它们虽既不能氧化亚铁,也不能氧化硫,但能利用无机化能菌分泌的有机物,消除其抑制作用,从而给自养生物创造良好的生存条件^[43,44]。

另外细菌代谢产物与可溶性盐分总量也对细菌的生长有一定影响。值得注意的是,这些抑制因子可能常常会起协同作用,也许某一个因子并未达到抑制浓度,但联合起来就会达到毒害的水平^[9]。

目前消除这些抑制因子的方法有:(1)筛选对重金属等抑制因子耐受性更强的菌株或利用基因工程技术构建抗重金属的基因工程菌。(2)滤出液回流之前进行预处理,具体方法有石灰调理法、离子交换法、电沉积法、反渗透技术或这些方法的联合运用^[9]。

3.8 Fe^{3+} 浓度

$\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 在 25℃ 偶联时, $E_h = 0.771\text{V} + 0.0591 \lg([\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}])\text{V}$,即使在 Fe^{3+} 浓度是 Fe^{2+} 的百万分之一的溶液中,其 E_h 仍高于 +0.4V,能氧化大多数金属硫化物^[23]。在存在 $0.1 \sim 10\text{mg}/\text{L}$ 的 Fe^{3+} 下,重金属的浸出速率增加两倍多。 Fe^{3+} 能有效地加速重金属的浸出是普遍接受的事实^[32],然而 Fe^{3+} 的硫酸盐在较低的 pH 条件下易发生水解,生成浅黄色的黄铁矾沉淀($\text{M}_2\text{Fe}_6(\text{SO}_4)_4(\text{OH})_{12}$ ($\text{M} = \text{K}^+, \text{Na}^+, \text{NH}_4^+$ 等)。黄铁矾生成的适宜条件为 pH2.0;存在 SO_4^{2-} 及 K^+ 、 Na^+ 或 NH_4^+ 等离子,这种条件污泥生物淋滤过程中正好能满足。黄铁矾可显著抑制生物淋滤效率,原因可能是:①它阻碍了微生物或 Fe^{3+} 与金属硫化物的直接接触;②在生物体系中 Fe^{3+} 的损失;③与体系中其它重金属离子的共沉淀,降低了重金属的去除率。

4 生物淋滤法在环境污染治理方面的应用前景

生物淋滤法耗酸少,运行成本低、实用性强,是经济有效、具有潜力的重金属去除方法,它具有化学浸提法(酸或有机络合剂)不可替代的优越性。然而,生物淋滤法采用的主要细菌如硫杆菌增殖慢、生物淋滤滞留时间长是限制其大规模应用的主要障碍。而且,许多研究者采用的细菌是金属矿山酸性废水分离而来或商品化的菌株,驯化其适应污泥的环境并加富培养往往需要较长的时间(10~30d),并且效果不太稳定。因此,直接从污泥分离并加富培养大量适合淋滤用的细菌,并使淋滤过程高效、持续地运行是亟待解决的关键问题。另外,脱毒污泥的后续处置,特别是如何使其作为一种新型的、高附加值的资源在土地利用中发挥更大的效益,尚有待探索。最近的研究表明,通过加富培养与驯化污泥中内源的氧化亚铁硫杆菌,并导入外源无机铁(如工业废渣 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$),对重金属污染的污泥进行生物淋滤,能有效地去除重金属,污泥脱水后可制成含铁量高达 6%~8% 的生物有机态铁肥,可作为石灰性土壤缺铁失绿的矫治剂。

然而,由于生物淋滤法在去除污泥重金属方面的应用与研究历史较短,许多问题还需要进一步探索。例如,应用对象和范围的扩展,包括生物淋滤过程的代谢产物 Fe^{3+} 及硫酸的利用,如利用 Fe^{3+} 氧化性对金属材料生物微加工,以及利用其过程的产酸能力来处理燃煤电厂高 pH 的冲灰水等;如何缩短生物淋滤过程的周期;如何提高微生物对重金属的抗性;生物淋滤的工艺、生物反应器设计与放大等都需深入研究。

参考文献

- [1] Xu Y (徐颖). Sludge composting as fertilizer and its environmental impact. *Rural Eco-environment* (in Chinese)(农村生态环境), 1993, (3): 32~35.
- [2] Zhou L X (周立祥), Hu A T (胡霍堂), Ge N F (戈乃玢), et al. Study on utilization of municipal sewage sludge in farmland and forest land. *Acta Ecologica Sinica* (in Chinese)(生态学报), 1999, 19(2): 185~193.
- [3] Cai Q Y (蔡全英), Mo C H (莫测辉), Wu Q T (吴启堂), et al. Chemical method and its prospect for heavy metal removal from municipal sludge. *Soil and Environmental Sciences*(in Chinese)(土壤与环境), 1999, 8(4): 309~313.
- [4] Couillard D, Mercier G. Optimum residence time in (CSTR or Airlift reactor) for bacterial leaching of metals from anaerobic sewage sludge—bioreactor comparison. *Wat. Res.*, 1991, 25: 221.
- [5] Torma A E. Biotechnology applied to mining of metals. *Biotechnol. Adv.*, 1983, 1: 73~80.
- [6] Bromebacher C, Bachofen R, Brandle H. Biohydrometallurgical processing of solids: a patent review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1997, 48: 577~587.
- [7] Benmoussa H, Tyagi R D, Campbell P G C. Simultaneous sewage sludge and metal leaching using an internal loop reactor. *Water Research*, 1997, 31: 2638~2654.
- [8] Blais J F, Tyagi R D, Auclair J C. Bioleaching of metal from sewage sludge: microorganisms and growth kinetics. *Wat. Res.*, 1993, 27: 101~110.
- [9] United States Patent 5779762
- [10] Myerson A S, Klime P C. Continuous bacterial coal desulfurization employing *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnol. Bioeng.*, 1984, 24: 92~99.
- [11] Hallber K B, Dopson M, Lindstrom E B. Reduced sulfur compound oxidation by *Thiobacillus caldus*. *J. Bacteriol.*, 1996, 178: 6~11.
- [12] Colmer A R, Temple K T, Kinkle M E. An iron-oxidizing bacterium from the acid mine drainage of some bituminous coal mines. *J. Bacteriol.*, 1950, 59: 317~328.
- [13] Torma A E, Walden C C, Duncan, D W, et al. The effect CO_2 and particle surface area on the microbiological leaching of a zinc sulfide concentrate. *Biotechnol. Bioeng.*, 1972, 14: 777~786.
- [14] Markosyan G E. A new iron-oxidizing bacterium *Leptospirillum ferrooxidans*. *Biol. Zh. Arm.*, 1972, 25: 26.
- [15] Sand W, Rohde K, Sobotke B, et al. Evaluation of *Leptospirillum ferrooxidans* for leaching. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1992, 58: 85~92.
- [16] Mackintosh M E. Nitrogen fixation by *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Gen. Bacteriol.*, 1978, 105: 215~218.
- [17] Ingledw J W. *Thiobacillus ferrooxidans*: The bioenergetics of an acidophilic chemolithroph. *Biochem. et Biophysica Acta*, 1982, 68: 89~117.
- [18] Silverman M P, Lundgrne D G. Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Bacteriol.*, 1959, 77: 642~647.
- [19] Zhang D Y (张德远), Li Y Q (李雅芹), Sun Y K (孙以凯). Feasibility study on biological precessing technology of metal materials. *Science in China (Series C)*, 1997, 27(5): 410~414.
- [20] Lizama H M, Suzuki L. Synergistic competitive inhibition of ferrous iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*.

- by increasing concentration of ferric iron and cells. *Appl. Environ Microbiol.*, 1989, **55**(5):2588~2591.
- [21] Helle U, Onken O. Iron and mineral oxidation by acidophilic bacteria; affinities for and attachment to pyrite. In: Norris P R & Kelly D P ed. *Biohydrometallurgy, Proceedings of International Symposium*, Kew; Science and Technology Letters. 1988. 65~75.
- [22] Rawling D E, Tributsch H, Hansford, G S. Reasons why *Leptospirillum*-like species rather than *Thiobacillus ferrooxidans* are the dominant iron-oxidizing bacteria in many commercial process for the biooxidation of pyrite and related ores. *Microbiology*, 1999, **145**:5~13.
- [23] Torma A E. *Thiobacillus ferrooxidans* applied into biohydrometallurgy, *Applied Microbiology* (in Chinese) (应用微生物学), 1977, (5):25~40.
- [24] Angelidis M. Chemistry of metals in anaerobically treated sludge. *Water Res.*, 1989, **23**(1):2~33.
- [25] Bosecker K. Bioleaching: metal solubilization by microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1997, **20**:591~604.
- [26] Tyagi R D, Tran F T. Bacterial leaching of metal from digested sewage sludge by indigenous iron-oxidizing. *Environ. Pollut.*, 1993, **82**:9~12.
- [27] Couillard D, Mercier G. Bacterial leaching of heavy metals from sewage sludge-bioreactor comprison. *Environ. Pollut.*, 1992, **66**:237~253.
- [28] Couillard D, Mercier G. An economic evaluation of biological removal of heavy metals from wastewater sludge. *Water Environment Research*, 1994, **66**:32~39.
- [29] Wong J W C, Xiang L, Chan L C. pH requirement for the bioleaching of heavy metals from anaerobically digested sewage sludge *Environ. Pollut.*, 2001, **4**.
- [30] Couillard D, Mercier G. Procédé de solubilisation biologique des métaux dans les boues anaérobies d'éuration: filtrabilité, neutralisation et teneurs en N et P des boues traitées. *Can. J. chem. Eng.*, 1991(b), **69**:779.
- [31] Tyagi R D, Meunier J, Blais J F. Simultaneous sewage sludge and metal leaching: effect of temperature. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1996, **46**:422~431.
- [32] Tyagi R D, Sreekrishnan T R, Blais J F, *et al.* Kinetics of heavy metal bioleaching from sewage sludge; temperature effects. *Wat. Res.*, 1994, **28**:2367~2375.
- [33] Liu M S. The effects of ferrous iron, dissolved oxygen, and inert solids concentration on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Can. J. Chem. Eng.*, 1988, **66**:445~451.
- [34] Jain D K, Tyagi R D. Bacterial leaching of heavy metal from anaerobic sewage sludge by sulfur-oxidizing bacteria. *Enzym. Microb. Technol.*, 1992, **14**:376~383.
- [35] Holugue L, Herrera L, Phillips O M, *et al.* CO₂ fixation by mineral-leaching bacteria ;characteristics of the ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 1987, **9**:497~505.
- [36] Nagpal S, Dahlsrom D. Effect of carbon dioxide concentration on the bioleaching of a pyrite-arenopyrite ore concentrate. *Biotechnol. Bioeng.*, 1993, **41**:459~464.
- [37] Sreekrishnan J N, Tyagi R D, Blais J F, *et al.* Kinetics of heavy metal bioleaching from sewage sludge;Effect of process parameters. *Wat. Res.*, 1993, **27**:1641~1651.
- [38] Tyagi R D, Couillard, D, Grenier, Y. Effect of medium composition on the bacterial leaching of the digested sludge. . *Environ. Pollut.*, 1991, **71**:57~67.
- [39] Gehrke T, Telegdi J, Thieery D, *et al.* Importance of extracellular polymeric substances from *Thiobacillus ferrooxidans* for bioleaching. *Appl. Environ Microbiol.*, 1998, **64**:2743~2747.
- [40] Tyagi R D, Tran F T. Bacterial leaching of metal from digested sewage sludge in continuous system. *Environ. Technol. Lett.*, 1991, **12**:303~312.
- [41] Zhou L X(周立祥), Wang G M(王良梅). Bioleaching of heavy metals from sewage sludge. *Acta Scientiae Circumstantiae*(in Chinese) (环境科学学报), 2001, **21**(4):502~504.
- [42] Roy Mahapartra S S, Mishra K. Inhibition of iron oxidation in *Thiobacillus ferrooxidans* by toxic metals and its alleviation by EDTA. *Current Microbiology*, 1984, **11**:1~6.
- [43] Flournier D, Lemieux R, Couillard D. Essential interaction between *Thiobacillus ferrooxidans* and heterotrophic microorganisms during a wastewater sludge bioleaching process. *Environ. Pollu.*, 1998, **101**:303~309.
- [44] Harrisson A P, Jr. The acidophilic thiobacilli and other acidophilic bacteria that share their habitat. *Ann. Rev. Microbiol.*, 1984, **38**:265~292.