

新型碳源驯化 SRB 生长特性及处理酸性矿山废水研究

肖利萍, 栾雪菲, 汪兵兵, 白际驰

(辽宁工程技术大学 建筑工程学院, 辽宁 阜新 123000)

摘要: 利用生活污水、鸡粪和锯末质量比为 80 : 7 : 3 混合物的发酵液作为碳源驯化硫酸盐还原菌(SRB),研究了在该新型碳源条件下 SRB 的生长规律、还原 SO_4^{2-} 反应动力学及对酸性矿山废水(AMD)中重金属离子和 SO_4^{2-} 的去除效果。结果表明,SRB 生长适应期在 0~1 d,对数期在 1~6 d,稳定期在 6~9 d,衰亡期在 9 d 后;SRB 对 SO_4^{2-} 有很好的去除效果,去除率可达 98.2%;且当 $F/M(\text{SO}_4^{2-}/\text{污泥浓度})$ 值 $> 7 \text{ mg/g}$ 时处于对数生长期,当 $3 \text{ mg/g} \leq F/M$ 值 $\leq 7 \text{ mg/g}$ 时处于生长稳定期,当 F/M 值 $< 3 \text{ mg/g}$ 时进入衰亡期;SRB 的最大比生长速率为 1.2 d^{-1} ;SRB 还原 SO_4^{2-} 符合经典 Monod 方程;SRB 对 AMD 中 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 SO_4^{2-} 的去除率分别达到 93%、81%、65%、93%、89%,出水 pH 值接近中性。以该新型碳源作为 SRB 的营养物质处理 AMD 可实现以废治废,为实际应用提供了理论参考。

关键词: 新型碳源; 硫酸盐还原菌; 生长特性; 反应动力学; 酸性矿山废水; 重金属离子

中图分类号: X703 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2017)09-0040-05

Growth Characteristics of SRB Domesticated with New Organic Carbon Sources and Its Application in AMD Treatment

XIAO Li-ping, LUAN Xue-fei, WANG Bing-bing, BAI Ji-chi

(College of Architecture and Engineering, Liaoning Technical University, Fuxin 123000, China)

Abstract: The fermentation liquor of mixture was used as organic carbon sources to domesticate SRB. The mixture were composed of domestic sewage, chicken feces and saw dust on the scale of 80 : 7 : 3. The growth rhythm of SRB, the reaction kinetics of sulfate reduction and the treatment effect of heavy metal ions and sulfate in acid mine drainage were studied. The results showed that SRB grew through four stages: slow period (0-1 d), logarithmic phase (1-6 d), stable period (6-9 d) and decline period (after 9 d); SRB had a good effect on removing sulfate, and the removal rate was 98.2%; when $F/M(\text{SO}_4^{2-} \text{ to sludge ratio})$ value was more than 7 mg/g, between 3 mg/g and 7 mg/g, and less than 3 mg/g, SRB lay in logarithmic phase, stable period and decline period, respectively; the maximum specific growth rate of SRB was 1.2 d^{-1} ; the sulfate reaction kinetics of SRB conformed to the Monod equation; the removal rates of Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} and SO_4^{2-} in acid mine drainage could reach up to 93%, 81%, 65%, 93% and 89%, respectively. And pH was close to neutral. Treating acid mine drainage by SRB with the new organic carbon sources can achieve the goal of using waste to treat waste.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51474122、51174267); 辽宁省百千万人才工程资助项目(2014921069)

Key words: new organic carbon sources; sulfate reducing bacteria; growth characteristics; reaction kinetics; acid mine drainage; heavy metal ion

随着矿山建设的迅速发展,排放的大量矿山废水对环境造成的污染也愈来愈严重,而矿山废水中以酸性废水存在最广、危害最大。目前国内外采用的处理方法主要有:中和法、湿地法和生物法等。生物法以其成本低、效果好而一直受到人们的青睐,其中利用自然界硫循环原理的硫酸盐还原菌(SRB)处理酸性矿山废水(AMD)受到国内外学者的广泛关注^[1~4]。然而,SRB 处理 AMD 存在缺乏高效、廉价、环保的有机碳源问题,碳源作为 SRB 生长的能源和电子供体,是影响 SRB 生长和活性的最基本因素^[5],也是影响 SRB 处理酸性矿山废水的重要经济因素。通常 SRB 能利用的能源为小分子有机物,如乙醇、乙酸等^[6]。但由于成本过高,国内外学者一直在寻找廉价有效的有机碳源^[7,8]。笔者采用生活污水、鸡粪和锯末混合物的发酵液作为碳源驯化 SRB,研究 SRB 的生长规律、还原 SO_4^{2-} 反应动力学及对 AMD 中重金属离子和 SO_4^{2-} 的去除效果,为开发 SRB 新型有机碳源和解决鸡粪、锯末堆积污染以及 AMD 处理问题提供一条新途径,实现以废治废,变废为宝。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

有机碳源为生活污水、鸡粪和锯末(质量比为 80 : 7 : 3)在 35 ℃ 条件下厌氧发酵 15 d 的发酵液。该发酵液的主要成分为乙酸、乙醇、乳酸、丙酸等小分子有机物,其 COD、 $\text{NH}_3 - \text{N}$ 和 TP 分别约为 9 000、560、100 mg/L, pH 值为 6.2。取其上清液并用纱布滤除固体悬浮物,稀释后使用。

硫酸盐还原菌(SRB)来自阜新市某污水处理厂二沉池污泥,并经过新型有机碳源驯化。

酸性矿山废水的 pH 值为 5.0, SO_4^{2-} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 分别为 2 250、150、52.5、22.5、45 mg/L。

化学药品均为分析纯;分析仪器有电子天平、原子吸收分光光度计、培养箱、723N 可见分光光度计、751G 紫外分光光度计、pH 计、高压灭菌锅等。

1.2 试验方法

1.2.1 SRB 的富集培养

将污水厂污泥在 35 ℃ 条件下厌氧发酵 15 d

后,接种到乳酸钠培养基(反复接种 3 次),挑选出长势最好的 SRB 进行富集培养。

1.2.2 SRB 的驯化

以发酵液作为碳源、无水硫酸钠和 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 作为硫源(SO_4^{2-} 浓度为 1 500 mg/L,控制 COD/ SO_4^{2-} 值为 2 : 1)配制培养基。为保证 SRB 能够快速适应新型有机碳源的生长环境,先将 SRB 接种到 50% 乳酸钠和 50% 发酵液的混合培养基中,反复接种 3 次,驯化周期为 10 d。将驯化后的 SRB 接种到 100% 发酵液中,反复接种 3 次,驯化周期为 10 d,即完成 SRB 的驯化。

1.2.3 SRB 污泥量与 OD_{340} 值的关系

从驯化好的菌悬液中均匀取 2 份体积分别为 2、4、6、8、10、12、14、16 mL 的菌悬液,一份放入 8 个 50 mL 比色管,用蒸馏水定容到 50 mL,在 340 nm 波长下测量并记录 OD_{340} 值;另一份菌悬液倒入滤纸中过滤后放入 105 ℃ 烘箱中烘干 2 h,称重得到污泥量分别为 0.013 2、0.026 4、0.039 6、0.052 8、0.066 0、0.079 2、0.092 4、0.105 6 g。将污泥干质量乘以 20 得到污泥浓度(g/L)。

1.2.4 SRB 生长特性

将驯化好的 SRB 菌悬液以 8% 的接种量接种到装有 1 000 mL 发酵液的密封锥形瓶中,此时混合液污泥浓度为 776 mg/L,控制混合液中 COD/ SO_4^{2-} 值为 2、 SO_4^{2-} 为 2 800 mg/L、 Fe^{2+} 为 50 mg/L,在 35 ℃、50 r/min 的摇床中厌氧培养。在相同时间点取样同步测定微生物的 OD_{340} 值和 SO_4^{2-} 浓度,计算出生物量、 F/M (SO_4^{2-} 浓度/污泥浓度)值和比生长速率(u)。

1.2.5 SRB 还原 SO_4^{2-} 反应动力学研究

控制其他条件如 1.2.4 节,调节 SO_4^{2-} 分别为 300、600、900、1 200、1 500、2 000、2 500、3 000、3 500 mg/L,12 h 后测定 SO_4^{2-} 浓度,并计算 SO_4^{2-} 比还原速率(v)。

1.2.6 SRB 去除重金属、 SO_4^{2-} 研究

控制 COD/ SO_4^{2-} 值为 2,将驯化好的 SRB 菌悬液以 8% 的接种量接种到装有新型发酵液与酸性矿山废水(体积比为 1 : 2)的 1 000 mL 密封锥形瓶

中,此时混合液 SO_4^{2-} 、 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 浓度分别为 1 500、100、35、15、30 mg/L,在 35 °C、50 r/min 的摇床中厌氧培养一定时间后测定 SO_4^{2-} 、重金属离子浓度和 pH 值,并计算去除率。

1.3 分析方法

通过 PHS-3C pH 计测定 pH 值;铁、锰采用火焰原子吸收分光光度法测定;铜、锌采用火焰原子吸收分光光度法测定;硫酸盐采用铬酸钡分光光度法测定。

2 结果与讨论

2.1 SRB 的生长特性

2.1.1 SRB 污泥浓度与 OD_{340} 值的关系曲线

根据前人研究成果并结合本实验室研究发现 SRB 污泥量可以间接采用测定 OD_{340} 值来确定。经拟合,污泥浓度(x)与 OD_{340} 值(y)的关系可表示为($R^2=0.9994$):

$$y = 0.3701x - 0.0088 \quad (1)$$

2.1.2 SO_4^{2-} 还原效果及 SRB 生长曲线

根据 1.2.4 节的方法进行试验,每隔 24 h 取 2 mL 混合液加蒸馏水定容到 50 mL(稀释 25 倍),以接种前发酵液为空白样,测定 OD_{340} 值,并根据式(1)确定污泥浓度,此污泥浓度乘以 25 即转化为实际混合液污泥浓度,并测定 SO_4^{2-} 浓度变化。结果见图 1。

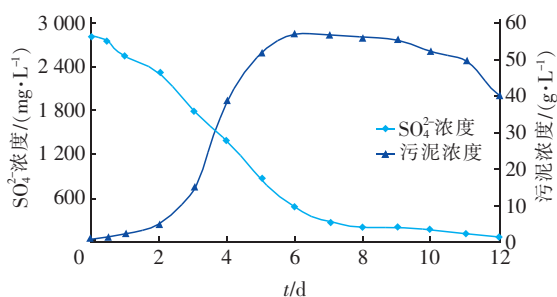


图1 SO_4^{2-} 浓度变化和 SRB 生长曲线

Fig. 1 Change of SO_4^{2-} concentration and growth curve of SRB

从图 1 可知,以新型碳源驯化的 SRB 对 SO_4^{2-} 具有良好的还原效果,其生长曲线分为适应期(0~1 d)、对数期(1~6 d)、稳定期(6~9 d)和衰亡期(9~12 d)四个阶段。在前 7 d, SO_4^{2-} 浓度迅速降低,由初始 2 800 mg/L 降到 200 mg/L,反应 12 d 后对 SO_4^{2-} 的去除率达到 98.2%,较其他学者^[2,8] 的去除效果好,去除率提高了 10% 以上。在初期 SRB 对 SO_4^{2-} 的还原效果较差,主要因为 SRB 刚接种到新

的培养基,需要时间调整 and 适应,对 SO_4^{2-} 的代谢能力差。在 1~7 d, SO_4^{2-} 还原效果显著,主要因为 SRB 分别经历了对数期和稳定期前期,生长繁殖速度快,营养需求量大,需通过代谢 SO_4^{2-} 来满足自身生长的需求。在 7~12 d,对 SO_4^{2-} 的去除较缓慢,主要因为营养物质相对不足,无法满足细菌的生长需求,且 SO_4^{2-} 浓度较低(不到 300 mg/L),对 SRB 酶的活性起到抑制,细菌进入衰亡期,导致 SRB 对 SO_4^{2-} 的还原效果降低。

2.1.3 F/M 值与 SRB 生长模式的关系

F/M 值与微生物生长的关系见图 2。可知 F/M 值决定了微生物生长模式,随着 F/M 值的变化 SRB 分别处于三个生长时期:当 F/M 值 > 7 mg/g 时,SRB 处于对数生长期;当 $3 \text{ mg/g} \leq F/M \text{ 值} \leq 7 \text{ mg/g}$ 时,SRB 处于生长稳定期;当 F/M 值 < 3 mg/g 时,SRB 处于生长衰亡期。该结果为更好地控制 SRB 的生长提供了理论依据。

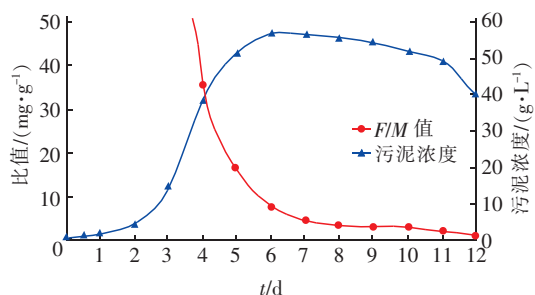


图2 F/M 值和微生物生长的关系

Fig. 2 Change of F/M value and sludge concentration with time

2.1.4 SRB 比生长速率随时间的变化规律

SRB 的比生长速率随时间的变化规律如图 3 所示。

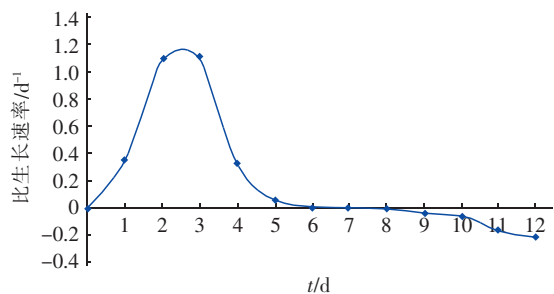


图3 比生长速率随时间的变化

Fig. 3 Specific growth rate of SRB

由图 3 可知,SRB 的比生长速率基本呈现先增

长后下降的趋势。在 0~1 d, SRB 的比生长速率低于 0.4 d^{-1} , 主要因为 SRB 正处于生长适应期, 生长繁殖速度缓慢。在 1~6 d, SRB 的比生长速率呈现先快速增长后快速减小的趋势, 主要因为在 1~3 d, SRB 完全适应了新环境, 生长繁殖速度加快, 2 d 后达到最大值为 1.2 d^{-1} ; 在 3~6 d, SRB 处于对数生长期后期, 仍呈对数生长, 比生长速率较快, 但由于微生物不断积累, 比生长速率呈现下降趋势。在 6~9 d, SRB 的比生长速率基本上为零, 主要因为此时 SRB 处于生长稳定期, 生长率和死亡率基本持平。在 9 d 以后, SRB 的比生长速率为负值, 主要因为此时 SRB 处于生长衰亡期, 死亡率大于生长率, 故出现负增长现象。

2.2 SRB 还原 SO_4^{2-} 的反应动力学

Maree 和 Strydom 对 SO_4^{2-} 生物还原动力学进行了研究, 发现当 SO_4^{2-} 和有机碳源充足时, SO_4^{2-} 还原遵循零级反应动力学, 但在 SO_4^{2-} 和有机碳源浓度受限时, 应采用 Monod 动力学方程进行描述。为了确定经新型碳源驯化的 SRB 还原 SO_4^{2-} 的速率与 SO_4^{2-} 浓度的定量关系, 进行了反应动力学研究, 结果见图 4。

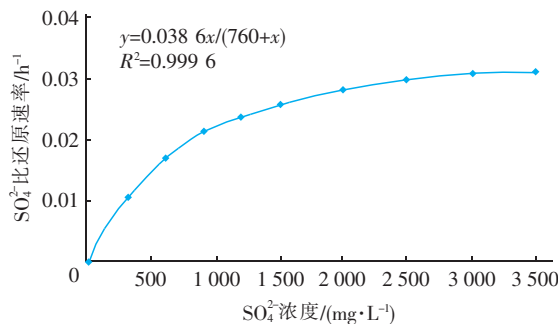


图 4 SO_4^{2-} 比还原速率随 SO_4^{2-} 浓度的变化

Fig. 4 Relationship between specific reduction speed of SO_4^{2-} and SO_4^{2-} concentration

根据拟合结果可知, 经新型碳源驯化的 SRB 还原 SO_4^{2-} 的反应符合经典 Monod 方程式^[9], SO_4^{2-} 最大比还原速率为 0.0386 h^{-1} , 饱和常数为 760 mg/L , $R^2 = 0.9996$ 。根据拟合公式可推导出 SO_4^{2-} 在低浓度和高浓度时的反应动力学方程式分别为:

$$v = 0.0386S/760 \quad (2)$$

$$v = v_{\max} = 0.0386 \quad (3)$$

可知 SRB 还原 SO_4^{2-} 在低浓度时为一级反应, 在高浓度时则呈零级反应。

2.3 SRB 对重金属、 SO_4^{2-} 的去除效果

该 SRB 对酸性矿山废水中重金属离子和 SO_4^{2-} 的去除效果见图 5。

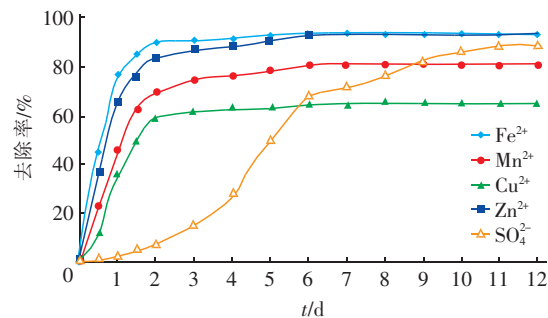


图 5 SRB 对 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 SO_4^{2-} 的去除效果

Fig. 5 Removal efficiency of Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} and SO_4^{2-} by SRB

由图 5 可知, 反应前 2 d, SO_4^{2-} 的去除率上升缓慢, 主要因为 SRB 刚接种, pH 值较低且大量的重金属离子对 SRB 的活性有一定的抑制作用, 所以 SO_4^{2-} 还原缓慢; 而 4 种重金属离子在反应初期去除率就大幅度上升, Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的去除率分别达到 90%、69%、59%、84%, 这主要是由于 SRB 细胞表面的胞外聚合物吸附及絮凝作用的结果。反应 3 d 后, 对重金属离子的去除速率减缓, 而 SRB 也适应了酸性矿山废水环境, 对 SO_4^{2-} 的去除速率加快, 同时硫酸盐还原过程中产生的 S^{2-} 与重金属离子反应生成难溶性沉淀, 提升了对重金属离子和硫酸根的去除效果。此外, SRB 在代谢过程中会产生碱度, 对 AMD 的酸度有所缓冲; 反应 6 d 时, 对 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的去除率基本稳定, 分别达到 93%、81%、65%、93%, 而 SO_4^{2-} 去除率接近 70%。

SRB 对 4 种重金属离子的去除效果存在明显差异, 去除效果排序为 $\text{Fe}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$, 因为 Cu^{2+} 的溶度积最小, 影响 CuS 沉淀的生成, 所以去除效果相对较差。反应 12 d 时, pH 值接近中性, 对 SO_4^{2-} 的去除率达到 89%, 但低于 2.1.2 节的试验结果(98.2%), 因为 AMD 中存在的酸度、重金属离子对 SRB 有一定的影响, 导致对 SO_4^{2-} 的去除效果降低。但总的来说, 经新型碳源驯化的 SRB 对 AMD 中重金属离子和 SO_4^{2-} 具有良好的去除效果。

3 结论

① 当以生活污水、鸡粪和锯末的混合发酵液

作为营养物质时,SRB的生长经历了4个时期:适应期(0~1 d)、对数期(1~6 d)、稳定期(6~9 d)及衰亡期(9 d后),且对 SO_4^{2-} 有很好的去除效果,去除率可达98.2%。

② F/M 值决定了微生物生长模式, F/M 值 $>7 \text{ mg/g}$ 时,微生物进入对数生长期; $3 \text{ mg/g} \leq F/M$ 值 $\leq 7 \text{ mg/g}$ 时,微生物进入生长稳定期; F/M 值 $<3 \text{ mg/g}$ 时,微生物进入生长衰亡期。SRB的比生长速率随着时间变化基本呈现先增长后下降的趋势,最高可达 1.2 d^{-1} 。

③ 经新型碳源驯化的SRB还原 SO_4^{2-} 的反应动力学符合Monod方程,当 SO_4^{2-} 浓度高时,SRB还原 SO_4^{2-} 呈零级反应;当 SO_4^{2-} 浓度低时,SRB还原 SO_4^{2-} 呈一级反应。

④ 经新型碳源驯化的SRB对AMD中重金属离子和 SO_4^{2-} 有良好的去除效果,对 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 SO_4^{2-} 的去除率分别达到93%、81%、65%、93%、89%,且反应后的pH值接近中性。以该新型碳源作为SRB的营养物质处理AMD可实现以废治废。

参考文献:

- [1] 任军俊,肖利萍. 硫酸盐还原菌处理废水的研究进展与展望[J]. 水资源与水工程学报,2009,20(2):52-56.
- [2] 彭艳平,余水静,赖和劲. 硫酸盐还原菌生长条件优化及驯化试验研究[J]. 江西理工大学学报,2013,34(3):6-10.
- [3] 苏冰琴,李亚新. EGSB反应器中硫酸盐还原与重金属去除[J]. 中国矿业大学学报,2008,37(2):246-249.
- [4] Utgikar V P, Harmon S M, Chaudhary N, et al. Inhibition of sulfate-reducing bacteria by sulfide formation in bioremediation of acid mine drainage [J]. Environ Toxicol, 2002,17(1):40-48.

- [5] 黎少杰,陈天华,周跃飞,等. $\text{Zn}(\text{II})$ 对生物质碳源处理酸性矿山排水中厌氧微生物活性影响[J]. 环境科学,2012,33(1):293-298.
- [6] Zhao Y G, Wang A J, Ren N Q. Effect of carbon sources on sulfidogenic bacterial communities during the start-up of acidogenic sulfate reducing bioreactors [J]. Biore-sour Technol,2010,101(9):2952-2959.
- [7] 苏宇,王进,彭书传,等. 以稻草和污泥为碳源硫酸盐还原菌处理酸性矿山排水[J]. 环境科学,2010,31(8):1858-1863.
- [8] 曹俊雅,张广积,毛在砂,等. 硫酸盐还原菌对不同碳源的利用率[J]. 中国有色金属学报,2008,18(1):96-100.
- [9] 方艳,闵小波,柴立元,等. 硫酸盐还原菌的生理特性及其在废水中的应用[J]. 工业安全与环保,2006,32(5):17-21.



作者简介:肖利萍(1970-),女,内蒙古乌兰察布人,博士,教授,主要从事水污染控制理论与技术研究。

E-mail:xxlpp11@126.com

收稿日期:2016-12-11