

УДК: 628.336.32

А.М. Марченко, Г.Н. Пшинко, В.Я. Демченко, В.В. Гончарук

ВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД БАКТЕРИЯМИ, ОКИСЛЯЮЩИМИ ДВУХВАЛЕНТНОЕ ЖЕЛЕЗО

Институт коллоидной химии и химии воды
им. А.В. Думанского НАН Украины, г. Киев
marchenkoolm@gmail.com

Проведены эксперименты по бактериальному выщелачиванию тяжелых металлов из аэробно стабилизированного избыточного активного ила Бортнической станции аэрации г. Киева при добавлении $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ как стимулятора активности железooksисляющих бактерий. Подтвержден механизм процесса выщелачивания тяжелых металлов, заключающийся в окислении двухвалентного железа бактериями с последующим образованием $Fe(OH)_3$, сопровождающимся снижением рН осадков сточных вод, что приводит к выщелачиванию тяжелых металлов.

Ключевые слова: бактериальное выщелачивание, двухвалентное железо, осадки сточных вод, тяжелые металлы, тионовые железooksисляющие бактерии.

Введение. Исследования бактериального выщелачивания (биовыщелачивания) тяжелых металлов (ТМ) из осадков сточных вод (ОСВ) [1, 2] основываются на использовании бактерий *Acidithiobacillus ferrooxidans* и *Acidithiobacillus thiooxidans*, принимающих участие в биовыщелачивании металлов из руд [3 – 5]. Целью указанных работ является удаление ТМ из твердой фазы ОСВ для обеспечения ее безопасного использования в качестве сельскохозяйственного удобрения. Действие тионовых ацидофильных бактерий рассмотрено ранее [6]. Роль *A. ferrooxidans* в биосферном цикле железа [7 – 9], которое присутствует в ОСВ в достаточно высоких концентрациях [1, 10], позволяет предложить поиск безреагентного способа выщелачивания ТМ из ОСВ с помощью

© А.М. Марченко, Г.Н. Пшинко, В.Я. Демченко, В.В. Гончарук, 2016

этих бактерий. Действие последних заключается в окислении Fe(II) до Fe(III), а результат выщелачивания ТМ из ОСВ обусловлен замещением ТМ в адсорбционных центрах на H^+ [1, 2, 11] и растворением солевых форм ТМ при снижении рН ОСВ [1, 2]. В работе [12] используют дополнительный источник энергии – железо в виде сульфата Fe(II) или пиритной руды для интенсификации роста *A. ferrooxidans*.

Существует две точки зрения относительно механизма биовыщелачивания ТМ из ОСВ с помощью *A. ferrooxidans* с добавлением соединений Fe(II). Согласно первой точке зрения [13 – 17] он состоит в окислении бактериями серы сульфидов металлов, находящихся в осадке, до сульфатов металлов: бактерии окисляют Fe(II) до Fe(III), после чего происходит химическое восстановление Fe(III) сульфидами металлов с образованием элементарной серы [18]. Бактерии окисляют ее до серной кислоты, которая переводит ТМ в жидкую фазу ОСВ. Такой механизм биовыщелачивания ТМ основывается на представлении об окислении S^{2-} бактериями [18] и результатах определения форм металлов в ОСВ методами последовательной экстракции [19], указывающих на наличие высоких концентраций в них сульфидов металлов. Согласно второй точке зрения [11, 14, 20 – 22] наиболее существенным в биовыщелачивании ТМ из ОСВ является окисление Fe(II) до Fe(III), что приводит к повышению E_h системы, а также, из-за высоких концентраций Fe(III), переходу последнего в формы гидроксидов, что сопровождается снижением рН системы и выщелачиванием ТМ. Такой механизм биовыщелачивания ТМ основывается на образовании нерастворимых форм Fe(III), а именно: ярозита [11, 12, 20, 22], шверманнита [23] и аморфных гидроксидов [4, 11, 12, 20, 22, 24] при росте *A. ferrooxidans* на искусственных средах и в ОСВ.

Цель данной работы – изучение процесса биовыщелачивания ТМ из ОСВ при создании селективных условий для тионовых бактерий, окисляющих двухвалентное железо, на примере обработки аэробно стабилизированного избыточного активного ила (АСИ) Бортнической станции аэрации г. Киева. Для этого проводили эксперименты по биовыщелачиванию ТМ с использованием инокулята железобактерий из ОСВ с добавлением $FeSO_4 \cdot 7H_2O$; исследовали рост бактерий на твердых средах с силикагелем.

Методика эксперимента. В опытах использовали АСИ как в [6, 10]. Анализ элементов в его жидкой фазе и исследование бактерий проводили методами, описанными в [6].

Инокулят железooksисляющих бактерий получали аналогично работе [21]: создавали селективные условия для бактерий, окисляющих двухвалентное железо, добавляя к осадку 1 объем.% $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Колбы с таким осадком термостатировали при 28°C на подвесной качалке до снижения pH с 7 до 2,5. В качестве инокулята использовали АСИ, обработанный 1 объем.% сульфата Fe(II), как описано ниже.

При проведении четырех серий опытов по биовыщелачиванию ТМ из АСИ с добавлением $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (табл. 1) осадок помещали в круглые плоскодонные колбы объемом 0,5 дм³, добавляли 1 или 0,5 объем.% сульфата Fe(II) "ч.д.а." (учитывая этот реагент в инокуляте) и 10 объем./объем.% инокулята. Закрывали колбы ватно-марлевыми пробками и термостатировали при 28°C на подвесной качалке.

Таблица 1. Схемы постановки опытов по биовыщелачиванию тяжелых металлов из АСИ

Описание постановки опытов	Серия опытов				
	I*	II*	III*	IV**	Контроль*
Объем АСИ, см ³	180	225	225	200	200
Масса $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, г	1,125	2,25	2,25	2	-
Объем инокулята, см ³	20	25	25	-	-
Инокулятом является АСИ	III			-	-
Кол-во опытов	4	6	2	2	3
Кол-во повторностей каждого опыта	2	2	1	1	1

*Ежесуточно добавляли дистиллированную воду, учитывая потери воды при испарении; **колбы ежесуточно замораживали и оттаивали.

Значения pH и E_h измеряли ежесуточно. Пересевы и измерения концентраций элементов в жидкой фазе АСИ проводили по достижении pH~2,5, что наблюдалось на третьи сутки эксперимента серии II. Для двух последних опытов серии II измерения концентраций металлов в жидкой фазе проводили в течение всего процесса. В опытах серии III для замедления роста бактерий колбы с веществом помещали в холодильник, затем в морозильную камеру, а через несколько часов пробы размораживали. Процедуру "замораживание – оттаивание" проводили ежесуточно. В опытах серии IV в АСИ добавляли 1 или 0,5 объем.%

сульфата Fe(II), но не добавляли инокулят. Контролем служили пробы АСИ без внесения $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и инокулята. О процессе выщелачивания судили по изменению pH, E_h и эффективности выщелачивания, т.е. части ТМ в жидкой фазе АСИ от их общего содержания.

Результаты и их обсуждение. *Опыты по биовыщелачиванию ТМ из АСИ.* Данные опытов серии I (рис. 1, а) свидетельствуют, что 0,5 объем.% сульфата Fe(II) недостаточно для преодоления буферной емкости осадков. В опытах серии II (см. рис. 1, б) наибольшая разница в сравнении с остальными сериями состоит в снижении pH за первые сутки процесса до ~3,5, а в остальных случаях это значение pH достигается позже либо не достигается вообще. Такое снижение pH обусловлено введением инокулята, имеющего высокую кислотность, и растворением $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Далее приведены данные опытов серии II.

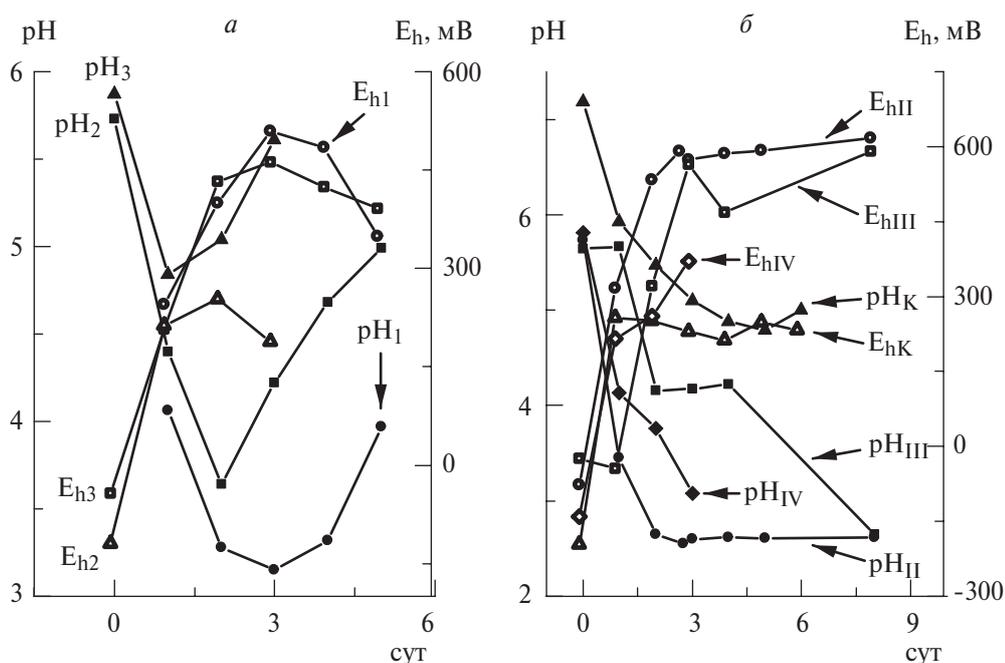


Рис. 1. Изменение pH и E_h АСИ в опытах серий I (а) и II – IV (б) по биовыщелачиванию тяжелых металлов. В индексе указан номер опыта серии (арабские цифры) или номер серии (римские цифры). Контрольные опыты указаны индексом К.

Влажность обработанного АСИ составила $98,3 \pm 0,25\%$, т.е. она уменьшилась с $98,6 \pm 0,3\%$ для исходного АСИ, а зольность увеличилась от $27,4 \pm 0,7$ до $37 \pm 1\%$. Таким образом, повышение зольности пол-

ностью обуславливает уменьшение влажности. Зола обработанного осадка приобретала бурый цвет, свидетельствующий о присутствии оксида железа (Fe_2O_3), до которого разлагается $\text{Fe}(\text{OH})_3$ при нагревании $>500^\circ\text{C}$ [25] (зольность определяли сжиганием при 600°C [26]). В опытах серии II в АСИ добавили $0,036$ моль/дм³ Fe(II); выпадение всего добавленного железа в виде $\text{Fe}(\text{OH})_3$ повысило бы содержание твердых веществ на $0,39\%$ (наблюдали повышение на $0,3 \pm 0,25\%$), а увеличение зольности достигло бы 37% , что и происходило. Поскольку концентрация общей серы в исходном АСИ достаточно низкая ($0,0031$ моль/дм³), то можно предположить, что основной механизм биовыщелачивания ТМ из ОСВ с помощью железоокисляющих бактерий заключается в окислении ими Fe(II) до Fe(III) и выпадении последнего в виде $\text{Fe}(\text{OH})_3$ с повышением кислотности ОСВ.

Для всех металлов эффективность процесса с добавлением инокулята (табл. 2) выше, чем без него. Для V, Cr, Ga, As, Pb она ниже, чем для биовыщелачивания с помощью тионовых ацидофильных бактерий с добавлением элементной серы, для Zn, Rb, Cd, Sr, Ba эффективность аналогична, а для Mn, Co, Ni, Cu, U – выше [6]. Концентрации ТМ в жидкой фазе (рис. 2, 3) существенно возрастают в первые сутки процесса, что соответствует снижению рН осадка до $\sim 3,5$.

Таблица 2. Эффективность процесса биовыщелачивания токсических компонентов (%) в опытах серий II и IV

Металл	Серия опытов		Контроль	Металл	Серия опытов		Контроль
	II	IV			II	IV	
V	1,5	0,6	0,62	As	3	2,3	14,4
Cr	2	0,2	0,27	Rb	26	25,4	22,7
Mn	–	62,2	13,9	Sr	42	34,4	16,2
Co	–	46,1	28,3	Cd	79	34,9	1,7
Ni	80	32,4	6,7	Ba	2,5	2,2	0,7
Cu	30	15,0	6,4	Pb	0,7	0,3	2,3
Zn	94	19,4	3,2	U	6	1,7	2,0

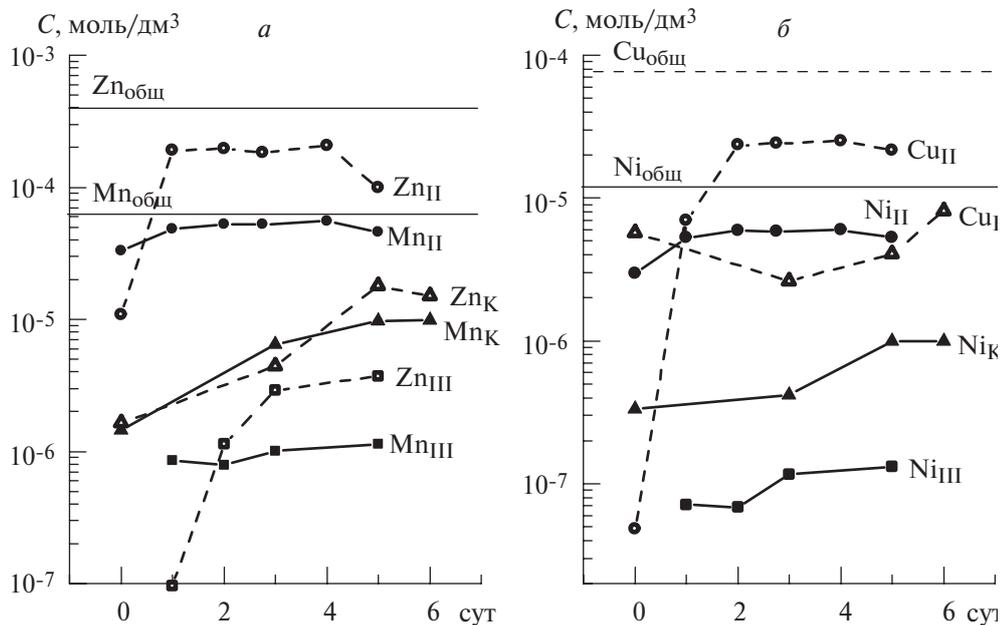


Рис. 2. Изменение концентрации цинка и марганца (а), меди и никеля (б) в жидкой фазе АСИ в опытах серий II и III по выщелачиванию тяжелых металлов. В индексе указан номер опыта в серии. Контрольные опыты обозначены индексом К.

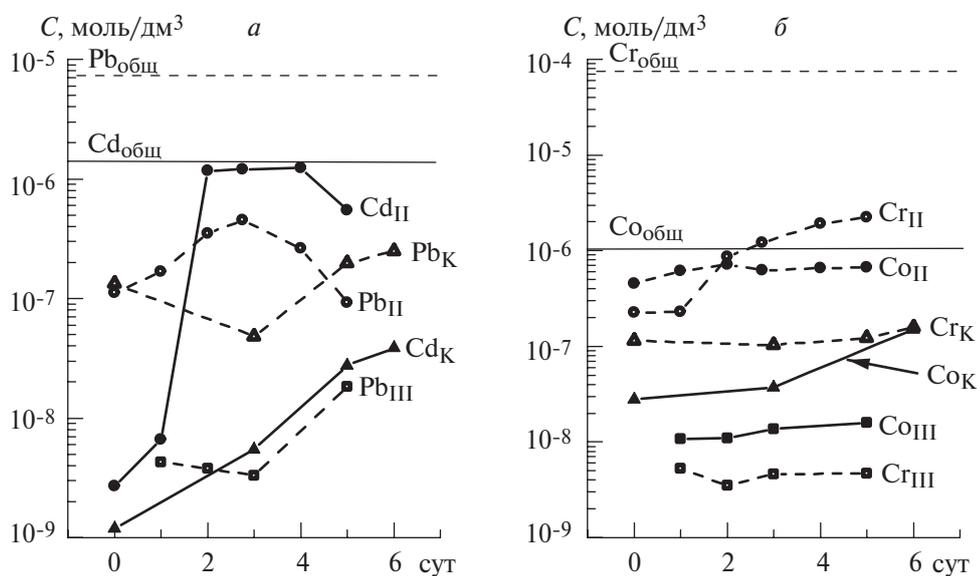


Рис. 3. Изменение концентрации свинца и кадмия (а), хрома и кобальта (б) в жидкой фазе АСИ в опытах серий II и III по биовыщелачиванию тяжелых металлов. Индексы те же, что на рис.2.

Опыты по культивированию бактерий. При посеве исходного АСИ в среду Летена ($\text{pH}_{\text{нач}} 3,5$) происходило образование гидроксидов через пять суток ($\text{pH}_{\text{кон}} 2,5$, $E_{\text{h кон}} = 580$ мВ через 12 сут). При посеве накопительной культуры на твердую среду Летена наблюдали рост исследуемых бактерий в виде оранжевых или бурых пятен, иногда выступающих над поверхностью геля и всегда присутствующих в толще среды [4]. При посеве колоний в жидкую среду Летена с добавлением 1,25 объем. % NaCl также наблюдали образование гидроксидов [27]. При посеве на твердую среду Ваксмана с тиосульфатом рост бактерий отсутствовал. При посеве колоний на среду с глюкозой рост также отсутствовал, из чего заключили, что бактерии являются хемолитоавтотрофами. При окраске по Граму были зафиксированы (1000х) грамотрицательные палочки (< 2 мкм в длину и до 1 мкм в ширину).

Выводы. Показано, что при выщелачивании тяжелых металлов из осадков сточных вод происходит бактериальное окисление двухвалентного железа с последующим образованием $\text{Fe}(\text{OH})_3$, сопровождающееся снижением pH осадков сточных вод, что приводит к выщелачиванию тяжелых металлов.

Резюме. Проведено експерименти з бактеріального вилуговування важких металів з аеробно стабілізованого надлишкового активного мулу Бортницької станції аерації м. Києва при додаванні $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ як стимулятора активності залізоокиснюючих бактерій. Підтверджено механізм процесу вилуговування металів, що полягає в окисненні двовалентного заліза бактеріями з наступним утворенням $\text{Fe}(\text{OH})_3$, що супроводжується зниженням pH осадів стічних вод і призводить до вилуговування важких металів.

A.M. Marchenko, G.N. Pshinko, V.Ja. Demchenko, V.V. Goncharuk

BIOLEACHING OF HEAVY METALS FROM SEWAGE SLUDGE BY FERROUS IRON OXIDIZING BACTERIA

Summary.

Experiments on bioleaching of heavy metals from aerobically digested secondary sludge, produced in Bortnytska sewage treatment plant (Kiev),

with addition of $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ as growth stimulant for ferrous iron oxidizing bacteria, were done. Mechanism of the bioleaching process, which consists of ferrous iron oxidation, subsequent formation of $\text{Fe}(\text{OH})_3$ with lowering of pH and consequent leaching of heavy metals, is confirmed.

Список использованной литературы

- [1] *Babel S., del Mundo Dacera D.* // Waste Manag. – 2006. – **26**. – P. 988 – 1004.
- [2] *Pathak A., Dastidar M.G., Sreekrishnan T.R.* // J. Environ. Manag.. – 2009. – **90**. – P. 2343 – 2353.
- [3] *Krebs W., Brombacher C., Bosshard P.P., Bachofen R., Brandl H.* // FEMS Microbiol. Rev. – 1997. – **20**. – P. 605 – 617.
- [4] *Leathen W.W., Kinsel N.A., Braley S.A.* // J. Bacteriol. – 1956. – **72**. – P. 700 – 704.
- [5] *The Prokaryotes:: Proteobacteria: Alpha and Beta Subclasses.* // Ch. ed. M.Dworkin: In 7 vol. – [3-d ed.]. – Springer, 2006. – Vol.5. – 919 p.
- [6] *Марченко А.М., Пишичко Г.Н., Демченко В.Я., Гончарук В.В.* // Химия и технология воды. – 2015. – **37**, №6. – P. 564 – 573.
- [7] *Ingledeew W.J.* // Biochim. et Biophys. Acta. – 1982. – **683**. – P. 89 – 117.
- [8] *Ehrlich H.L., Newman D.K.* Geomicrobiology. – [5-th ed.]. – New York: CRC Press, 2009. – 606 p.
- [9] *Lu S., Gischkat S., Reiche M., Akob D.M., Hallberg K.B., Kusel K.* // АЕМ. – 2010. – **76**, N24. – P. 8174 – 8183.
- [10] *Марченко А.М., Пишичко Г.Н., Демченко В.Я.* //Химия и технология воды. – 2015. – **37**, №4. – С. 375 – 383.
- [11] *Xiang L., Chan L.C., Wong J.W.C.* // Chemosphere. – 2000. – **41**. – P. 283 – 287.
- [12] *Wong J.W.C., Xiang L., Gu X.Y., Zhou L.X.* //Ibid. – 2004. – **55**. – P. 101 – 107.
- [13] *Tyagi R.D., Couillard D., Tran F.* // Environ. Pollut. – 1988. – **50**. – P. 295 – 316.
- [14] *Couillard D., Chartier M.* // J. Biotechnol. – 1991. – **20**. – P. 163 – 180.
- [15] *Chan L.C., Gu X.Y., Wong J.W.C.* // Adv. Environ. Res. – 2003. – **7**. – P. 603 – 607.
- [16] *Gu X.Y., Wong J.W.C.* // Chemosphere. – 2007. – **69**. – P. 311 – 318.
- [17] *Peng G., Tian G., Liu J., Bao Q., Zang L.* // Desalination. – 2011. – **271**. – P. 100 – 104.

- [18] *Адхья С., Альперт К.-А., Буккель В. и др.* Современная микробиология. Прокариоты: В 2-х т. / Под ред. Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Шлегеляю. – М.: Мир, 2009. – Т. 1. – 656 с.
- [19] *Stover R.C., Sommers L.E., Silvera D.J.* // J. Water Pollut. Control Fed. – 1976. – **48**, №9. – P. 2165 – 2175.
- [20] *Blais J.F., Tyagi R.D., Auclair J.C.* // Water Res. – 1993. – **27**, N1. – P. 111 – 120.
- [21] *Tyagi R.D., Blais J.F., Auclair J.C.* // Environ. Pollut. – 1993. – **82**. – P. 9 – 12.
- [22] *Pathak A., Dastidar M.G., Sreekrishnan T.R.* // J. Hazard. Materials. – 2009. – **171**. – P. 273 – 278.
- [23] *Liao Y., Zhou L., Bai S., Liang J., Wang S.* // Appl. Geochem.. – 2009. – **24**. – P. 1739 – 1746.
- [24] *Андреев Е.И., Козлова И.А.* Литотрофные бактерии и микробиологическая коррозия. – К.: Наук. думка, 1977. – 164 с.
- [25] *Справочник химика: В 6 т. – [3-е изд.] / Гл. ред. Б.П. Никольский.* – Л.: Химия, 1971. – Т. 2. – 1168 с.
- [26] *Терещук А. И.* Исследование и переработка осадков сточных вод. – Львов: Вища школа, 1988. – 148 с.
- [27] *Определитель бактерий Берджи: В 2-х т. / Под ред. Дж Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса.* – М.: Мир, 1997. – Т. 2. – 368 с.

Поступила в редакцию 06.08.2014 г.