

垃圾焚烧飞灰浓度对黑曲霉生长及重金属生物淋滤效果的影响

杨洁¹, 汪群慧^{1,2*}, 王琪³, 薛军², 田书磊³

(1. 哈尔滨工业大学环境科学与工程系, 哈尔滨 150090; 2. 北京科技大学环境工程系, 北京 100083; 3. 中国环境科学研究院, 北京 100012)

摘要: 采用黑曲霉生物淋滤飞灰中的重金属, 探讨了不同飞灰浓度对菌体生长、pH 值、产生的有机酸种类及金属溶出效果的影响, 并比较了生物淋滤处理前后飞灰的浸出毒性。结果表明, 黑曲霉在代谢生长过程中产生的有机酸使 pH 值下降, 将重金属从固相的飞灰中溶出。呈碱性并含有毒重金属的飞灰使黑曲霉的生长出现了延迟期。当飞灰质量浓度为 20 g/L 时, 菌体生长量在 192 h 达到最大值 (28.61 g/L), 淋滤结束后的最低 pH 值为 3.85, 重金属溶出效果最佳。其中, Cd 的溶出率达 93.06%, Mn、Pb 和 Zn 的溶出率均在 70% 左右, Fe、Cr 和 Cu 的溶出率分别为 22%、33% 和 47%。经生物淋滤后的飞灰中 7 种重金属浸出浓度远低于国家控制标准。

关键词: 生物淋滤; 城市生活垃圾焚烧飞灰; 黑曲霉; 重金属

中图分类号: X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)03-0825-06

Influence of Fly Ash Concentrations on the Growth of *Aspergillus niger* and the Bioleaching Efficiency of Heavy Metals

YANG Jie¹, WANG Qun-hui^{1,2}, WANG Qi³, XUE Jun², TIAN Shu-lei³

(1. Department of Environmental Science and Technology, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 2. Department of Environmental Engineering, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China; 3. Chinese Research Academy of Environmental Science, Beijing 100012, China)

Abstract: The bioleaching of municipal solid waste incinerator (MSWI) fly ash for metals extraction by *Aspergillus niger* was investigated. The influence of fly ash concentrations on the biomass concentration, the pH of suspension, the kinds of bio-produced organic acids and the metals extraction yield during the bioleaching process were studied and the leaching toxicities of fly ash before and after bioleaching were compared. The results showed that the decrease of pH was due to generated organic acids by *Aspergillus niger* during bioleaching, which resulted in the metals extraction from the fly ash. The alkaline and the heavy metals toxicities of fly ash inhibited the *Aspergillus niger* growth, which was shown as the "lag phase". When fly ash concentration was 20 g/L, the maximum biomass was 28.61 g/L (after bioleaching 192 h), and the minimum pH was 3.85 (after finished bioleaching). The bioleaching efficiency was the highest (i.e., 93.06% for Cd, around 70% for Mn, Pb and Zn, 22%, 33% and 47% for Fe, Cr and Cu, respectively). The TCLP results of the fly ash after bioleaching indicated that the leaching toxicities of the treated fly ash were far lower than the regulated levels of China.

Key words: bioleaching; MSWI fly ash; *Aspergillus niger*; heavy metal

城市生活垃圾处理主要依靠焚烧、堆肥和填埋。目前国内外处理城市生活垃圾倾向于采用焚烧法。但是生活垃圾焚烧产生的飞灰, 即在烟气净化系统 (APC) 中收集的残渣因其含有较高浸出浓度的重金属, 被《国家危险废物名录》明确列为危险废物^[1]。为防止飞灰中有毒重金属的淋溶迁移, 目前多数国家对垃圾焚烧飞灰采用熔融/玻璃化、水泥固化、化学稳定化、酸或其它溶剂洗提的方法去除重金属, 然后进行填埋^[2]。其中, 采用酸或其它溶剂洗提飞灰中的重金属具有优势, 因为飞灰中某些金属的含量很高 (如 Al 和 Zn)。Bossard 等^[3] 曾将飞灰称作“人工矿石”, 可以作为二次矿物加以利用。该方法虽能在短

时间内大量去除重金属, 但耗酸量大、处理费用高、操作不便, 易产生二次污染。因此, 如何能在较温和的条件下, 高效分离飞灰中重金属, 并实现重金属的资源化利用, 已成为该领域研究者关注和探索的热点问题。黑曲霉能在适当的培养条件下发酵产生有机酸 (如柠檬酸、葡糖酸和草酸等)^[4~8], 利用黑曲霉

收稿日期: 2007-03-20; 修订日期: 2007-05-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20577047); 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2002AA644010)

作者简介: 杨洁 (1979 ~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为固体废弃物处理处置技术与资源化。

* 通讯联系人, E-mail: wangqh59@163.com

发酵生产柠檬酸已经工业化.在此基础上建立的生物湿法冶金(biohydrometallurgy)是国内外近期兴起的新技术,利用黑曲霉生物浸矿^[9~11]也取得了一定的成果.生物浸矿不但能有效地溶出矿石中的金属,而且所需的费用低、操作方便、环境友好.由于飞灰中的某些主要成分与废弃矿石相似,因此,本研究利用黑曲霉生物淋滤飞灰中的重金属以减少飞灰的有害成分,探讨了飞灰浓度对重金属溶出效果的影响,并分析比较了生物淋滤前后菌体浓度、pH 值、产生的有机酸种类以及飞灰的浸出毒性等.

表 1 飞灰中金属含量
Table 1 Metals composition of fly ash

项目	Al	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Na	Pb	Zn
测定波长/nm	396.2	317.9	228.8	267.7	327.4	238.2	257.6	589.6	220.4	206.2
金属含量/mg·g ⁻¹	35.67	114.34	0.062 17	0.183 07	0.551 1	22.94	0.736 2	30.98	2.15	5.252

1.2 接种物的制备与纯化

黑曲霉(曲霉属 *Aspergillus*, 半知菌纲)菌种(UV448)购自黑龙江省科学院应用微生物研究所菌种保藏中心,经扩大培养后使用.菌种在斜面培养基,30℃下恒温培养 5~7 d 后,用无菌去离子水洗脱孢子.孢子悬液用血球计数器计数,孢子浓度约为 2.2×10^7 个/mL.斜面培养基(PDA 培养基)(g/L):马铃薯 300,葡萄糖 20,琼脂 20,蒸馏水 1 000 mL.

1.3 飞灰生物淋滤试验

在每个 250 mL 锥型瓶中均加入 1%(体积分数)的上述黑曲霉孢子悬浮液及 100 mL 淋滤用培养基[其成分^[3](g/L):蔗糖 100;NaNO₃ 1.5;KH₂PO₄ 0.5;MgSO₄·7H₂O 0.025;KCl 0.025;酵母粉 1.6],然后再分别加入 0(空白)、20、50 和 100 g/L 的飞灰.同时在 30℃,转速为 140 r/min 条件下恒温振荡培养.定期取样监测淋滤液 pH 值、有机酸和菌体生长量,直到 pH 值不再降低.

采用高效液相色谱(HPLC)法测定淋滤后上清液中的有机酸.分析菌体生长量时,各飞灰浓度下分别做 8 组试验,每组做 1 组平行试验.在一段时间间隔下取 1 组抽样,抽取 10 mL 淋滤液,将 7 000 r/min 条件下离心分离 10 min 后的沉淀物在 80℃烘干至恒重后称重,然后在 600℃灼烧 2~4 h 后再次称重,2 次重量之差即为菌体干重,结果取平均值.根据 ICP-OES 测得的淋滤后上清液中重金属与原始飞灰中重金属总含量的比值即为金属溶出率.

1.4 TCLP 毒性浸出试验

本研究采用美国国家环保局(U. S. EPA)制定的 TCLP(Toxicity Characteristic Leaching Procedure,

1 材料与方法

1.1 飞灰样品金属含量分析

飞灰取自浙江省某垃圾焚烧发电厂,原料为城市生活垃圾,除尘方式为布袋除尘器.飞灰样品混匀后在 105℃烘干 24 h 至恒重,研磨至 120 目.称取 0.500 0 g±0.000 1 g 灰样(干灰),参照 US-EPA SW-846 3050B 标准^[12]消解.金属含量用全谱直读电感耦合等离子发射光谱仪(ICP-OES,美国 Perkin-Elmer Optima 5300DV)测定.飞灰中主要金属含量见表 1.

SW846 method 1311)方法^[13]进行飞灰重金属浸出试验.该方法采用的浸出剂有 2 种,分别是 pH 值为 4.93 ± 0.05 (1 号)和 2.88 ± 0.05 (2 号)的醋酸溶液.称取 5 g 飞灰置于 500 mL 烧杯中,加入 96.5 mL 去离子水,盖上表面皿,磁力搅拌 5 min,冷却到室温,测定 pH 值.若 pH 小于 5,则用 1 号浸出剂;若 pH 大于 5,则需再加入 3.5 mL 的 1 mol/L 的盐酸,盖上表面皿加热到 50℃,保持 10 min,冷却后再测 pH 值.若 pH 小于 5,则用 1 号浸出剂,若 pH 仍然大于 5,则用 2 号浸出剂.根据预试验结果,第 1 次 pH 值为 9.62,第 2 次 pH 值为 6.67,因此确定本研究使用的飞灰适合采用 2 号浸出剂,即 pH 值为 2.88 ± 0.05 的醋酸溶液.将原始飞灰与浸出剂以固液比 1:20 放置于聚乙烯瓶中,在室温下以 30 r/min±2 r/min 的转速翻转式振荡 18 h±2 h,取下静置 30 min 后,用 0.6~0.8 μm 的玻璃纤维滤膜过滤,滤液即为浸出液,摇匀后经 ICP-OES 测定金属含量.

2 结果与分析

2.1 黑曲霉 UV448 的特性

黑曲霉属于半知菌纲,在 PDA 平板上的菌落形态见图 1.30℃下培养 5~7 d,菌落直径达 2.5~3 cm,由致密或中度疏松的微黄色基本菌系组成,菌落正面呈深褐色,反面呈淡黄色.菌丝大部分在培养基内,着生丰富密集的直立分生孢子梗,多数无隔膜,粗大,顶端形成膨大的顶囊;从顶囊的表面生出双层小梗,小梗生成瓶状产孢细胞产出成串分生孢子;分生孢子成熟时呈球形,偶尔稍扁(菌丝与孢子形态见图 2).无分泌物,或局限为微小液滴,无色.

黑曲霉为嗜温微生物,最适生长温度为 26 ~ 37℃,最低发育温度为 7 ~ 10℃,最高发育温度为 40 ~ 43℃.根据国内外对黑曲霉产有机酸的研究,其最

适产酸温度为 26 ~ 32℃.黑曲霉可以在很宽的 pH 范围(1.5 ~ 11)内发育,但 pH 在 3 ~ 7 比较合适.

2.2 不同飞灰浓度对菌体生长的影响

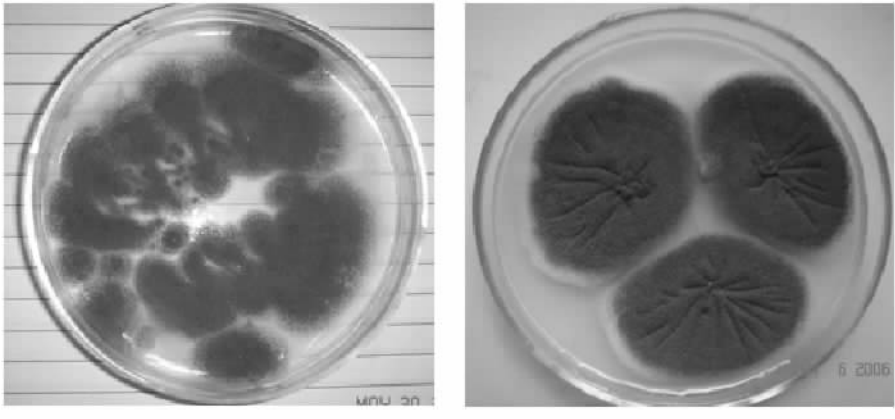


图 1 黑曲霉(UV448)菌落平板
Fig.1 Plate culture of *A. niger* (UV448)

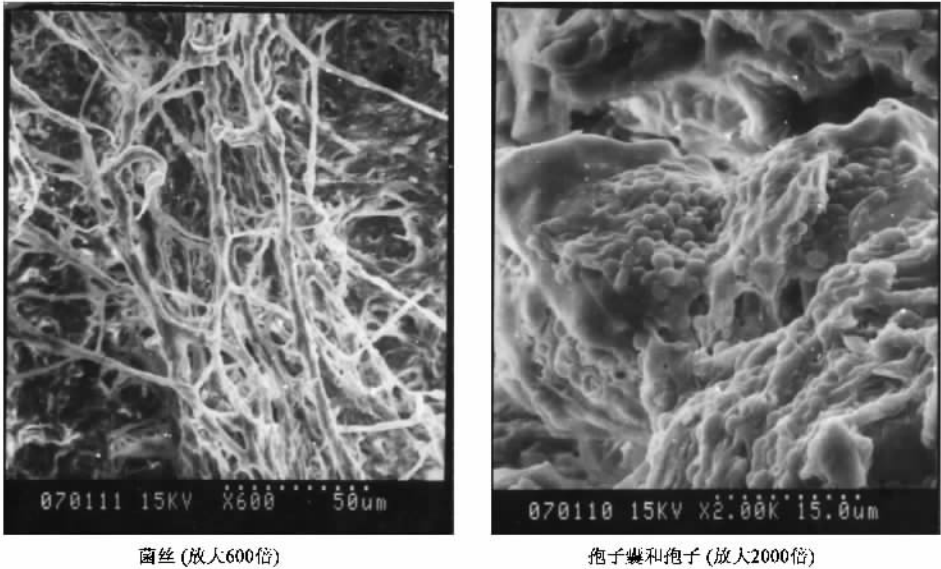


图 2 黑曲霉(UV448)形态 SEM 照片
Fig.2 SEM of *A. niger* (UV448)

图 3 为淋滤液中菌体浓度随时间变化的曲线. 由图 3 可知,在未投加飞灰的培养基中,黑曲霉培养 24 h 后,菌体就有明显生长,120 h 菌体浓度达到最大值 30.73 g/L,之后开始逐渐降低.投加 20 g/L 飞灰,黑曲霉经过 48 h 左右的“延迟期”(lag phase)后开始生长,在 192 h 达到菌体浓度最大值 28.61 g/L. 50 g/L 飞灰浓度试验中,前 100 h 未见明显的菌体生长,到了 120 h 后开始有少量的菌丝体出现.而在投加 100 g/L 飞灰的试验中,始终未见明显的菌体生长.实验结果表明:“延迟期”是生物淋滤初期黑曲霉

对飞灰的碱性和所含重金属量的适应阶段,2.3 和 2.4 的实验结果也证明了这一点.飞灰浓度越大,其“延迟期”越长.

在空白试验中,随着菌体生长,黑曲霉菌丝体会形成菌丝球.当飞灰存在时,菌丝体和飞灰之间相互作用,出现了黑曲霉菌丝球外被飞灰包裹的现象.这种现象在 20 g/L 和 50 g/L 飞灰浓度的试验中均有出现(图 4),在 100 g/L 飞灰浓度的试验中未出现,这是因为该飞灰浓度中菌体浓度太少,无法形成菌丝球.

2.3 不同飞灰浓度对 pH 值的影响

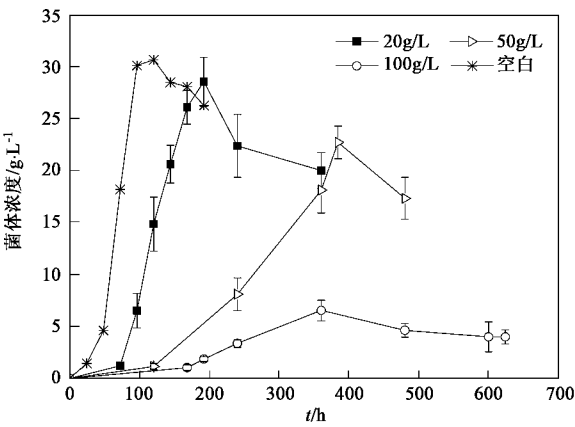


图 3 不同飞灰浓度淋滤过程中菌体浓度的变化

Fig.3 Change in biomass concentration during bioleaching at various fly ash concentrations

在不同的飞灰浓度下,淋滤液的 pH 值随时间的变化情况如图 5 所示.黑曲霉在未投加飞灰的培养基中经过 192 h 的生长,pH 值由最初的 5.89 降到了 3.04.在投加 20、50 和 100 g/L 飞灰中,各自淋滤液的 pH 值由最初的 7.93、9.24 和 9.65 下降到 3.85、4.54 和 5.21,分别经过 360、432 和 576 h.不同飞灰浓度导致了各淋滤液初始 pH 值的不同,随着飞灰浓度的增多,淋滤液初始 pH 值增大.这是由于飞灰中主要物质为金属氧化物和 SiO_2 ,投入液体培养基后使淋滤液呈碱性.菌体在飞灰存在的情况下,最初的 pH 值有一段时间保持在碱性范围内,这段时间与菌体生长的“延迟期”相对应.

2.4 不同飞灰浓度对金属溶出效果的影响

图 6 表示了飞灰浓度为 0(空白)、20、50 和 100

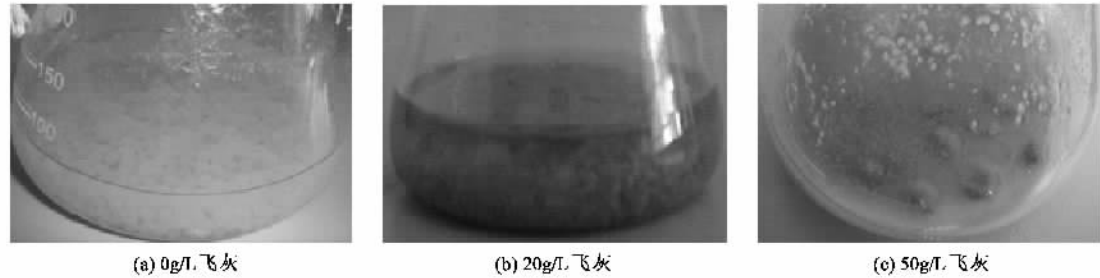


图 4 不同飞灰浓度淋滤过程中菌体与飞灰照片

Fig.4 Photos of *A. niger* with fly ash during bioleaching at various fly ash concentrations

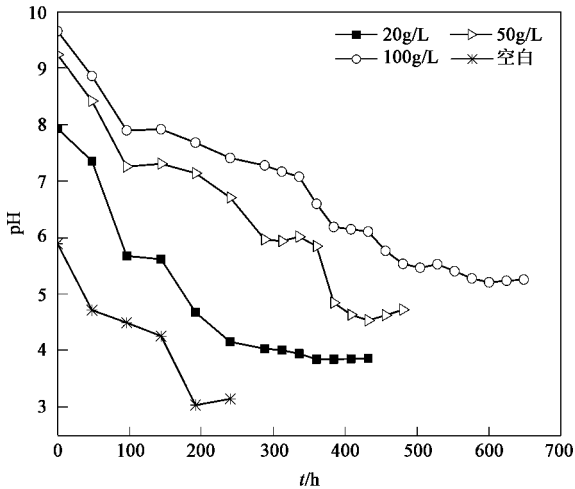


图 5 不同飞灰浓度的淋滤液 pH 值的变化

Fig.5 Change in pH during bioleaching at various fly ash concentrations

g/L 时,分别淋滤 192、360、432 和 576 h 后的金属溶出率与最终 pH 值.从总体来看,飞灰浓度越大,淋滤液的最终 pH 值相应越高,飞灰中金属溶出率就越低.当 20 g/L 的飞灰淋滤 360 h 后,pH 值达到最低

(3.85),Cd 的溶出率达 93.06%,Zn、Pb 和 Mn 的溶出率在 70% 左右,Fe、Cr 和 Cu 的溶出率分别为 22%、33% 和 47%.此条件下金属溶出率大小依次为: $\text{Cd} > \text{Zn} \approx \text{Pb} > \text{Mn} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{Fe}$.在 50 g/L 飞灰淋滤实验中,飞灰量加大,各金属溶出率均明显降低,其中溶出率最高的金属为 Cd(11.5%),其它 6 种金属溶出率在 10% 以下,金属溶出率大小依次为: $\text{Cd} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Mn} > \text{Pb} \approx \text{Cr} > \text{Fe}$.当飞灰浓度为 100 g/L 时,金属溶出率都很小,除 Cd(7.5%)以外,其余金属的溶出率都低于 5%.这是由于在该飞灰浓度下,飞灰的碱性和其中的重金属对黑曲霉菌体的生长产生了很强的抑制与毒害作用(如菌体浓度和淋滤液 pH 值的变化图所示),飞灰中无菌体参与淋滤过程,金属主要是依靠培养基从飞灰中自然浸出.

2.5 不同飞灰浓度对菌体产出有机酸种类的影响

飞灰中重金属的溶出率除了与 pH 有关外,可能也与黑曲霉利用碳源产生的有机酸种类有关,为此本研究用高效液相色谱分析了不同飞灰浓度淋滤液中的有机酸.由于色谱柱的原因,3 种有机酸(柠

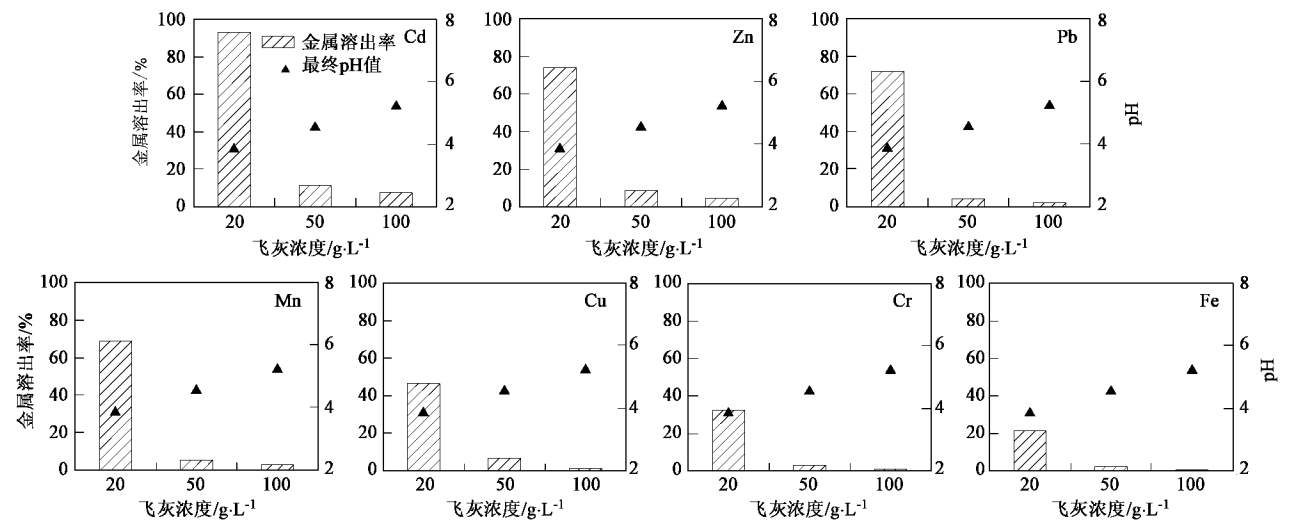


图 6 不同飞灰浓度下金属溶出效果与淋滤液最终 pH 值

Fig.6 Metals extraction and the final pH of the bioleaching suspension at various fly ash concentrations

柠檬酸、草酸和葡萄糖酸)的保留时间比较接近,因此暂且只能进行定性分析,其结果如表 2 所示.

表 2 不同飞灰浓度淋滤液中检出的有机酸种类

Table 2 Detected organic acids in the bioleaching suspension at various fly ash concentrations		
飞灰浓度/g·L ⁻¹	检出有机酸	淋滤液 pH 值
0	柠檬酸	3.04
20	柠檬酸、草酸	3.85
50	草酸、葡萄糖酸	4.54
100	未检出	5.21

由表 2 和图 5 可知,在 20 g/L 飞灰淋滤过程中,淋滤液 pH 值最低为 3.85,而大部分时间 pH 值是处于 4~5 之间,发酵产生柠檬酸和草酸.类似情况也出现在 50 g/L 飞灰淋滤过程中,但是在该淋滤液中未检出柠檬酸,该现象与淋滤过程中 pH 值始终高于 4 而导致黑曲霉菌体在新陈代谢过程中产生有机酸的积累途经改变有关^[7,9].黑曲霉在含有 100 g/L 飞灰的底物中生长不明显,淋滤液中未检出以上 3 种有机酸.

表 2 的实验结果与国内外文献报道的基本一致.虽然生物淋滤的作用机理尚无完善的理论体系来解释,但国内外学者基本认同了在生物淋滤过程中主要存在以下作用:酸解作用(acidolysis)、氧化还原作用(redoxolysis)、复合作用(complexolysis)和生物积累作用(bioaccumulation),其中以酸解作用为主^[14].黑曲霉能通过有氧发酵利用碳源产生有机酸,如:柠檬酸、草酸和葡萄糖酸等,其产生有机酸的种

类根据碳源和培养条件(如糖源、氮源种类、金属离子、溶解氧浓度、温度以及 pH 值等)而改变^[5~7,10~11,14].

当发酵体系的 pH 值在 2 左右时易产生柠檬酸,草酸也被认为是柠檬酸发酵生产中的主要杂质酸^[4,6,8,14].而 pH 值高于 5 时,黑曲霉代谢途经会发生改变,导致菌体累积草酸或者葡萄糖酸.

2.6 生物淋滤过程对飞灰重金属浸出毒性的影响

将 20 g/L 飞灰生物淋滤后的残渣(含菌体、飞灰与淋滤液的固液混合物)在 7 000 r/min 转速下离心 10 min,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,所得滤渣经去离子水反复洗涤 3~5 次后,置于 600℃ 马弗炉内灼烧 2~4h,将菌体灰化后即得生物淋滤后的飞灰.再依照 1.4 所述方法对生物淋滤前后飞灰分别进行 TCLP 试验.

生物淋滤前后飞灰的 TCLP 试验结果表明(表 3),原始飞灰中 Cd、Pb 和 Zn 的浸出毒性均超出了国

表 3 生物淋滤前后飞灰的 TCLP 结果对比¹⁾/mg·L⁻¹

Table 3 TCLP results of fly ash before and after bioleaching/mg·L ⁻¹							
项目	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
生物淋滤前的原灰	2.233	0.19	2.37	nd	1.43	3.10	56.02
生物淋滤后的飞灰	0.066	0.08	0.36	nd	0.16	0.28	5.12
危险废物鉴别标准 ^[15]	0.3	10	50	ns	ns	3	50
危险废物填埋污染控制标准 ^[16]	0.5	12	75	ns	ns	5	75

1)nd 表示未检出; ns 表示未列出

家危险废物鉴别标准,特别是 Cd 的浸出毒性超出标准 7 倍多.经过生物淋滤处理后,飞灰中的 Cd 大量

溶出(93.06%),从而使浸出浓度从 2.23 mg/L降到了 0.066 mg/L;同时,Zn 和 Pb 的溶出也导致其浸出浓度远低于国家危险废物鉴别标准和危险废物填埋污染控制标准.

3 结论

(1) 利用黑曲霉对垃圾焚烧飞灰进行生物淋滤,能有效的溶出飞灰中的重金属.黑曲霉在代谢生长过程中产出有机酸使 pH 值下降,将重金属从固相溶出.呈碱性并含有毒重金属的飞灰使黑曲霉的生长出现了延迟期,飞灰浓度越大,延迟期越长.

(2) 随着飞灰浓度的增大,淋滤液的最终 pH 值相应升高,重金属毒性随之增加,对黑曲霉生长的抑制作用也增强,从而导致重金属溶出率明显降低.当飞灰浓度为 20 g/L时,菌体浓度达到最大值(28.61 g/L),pH 值达到最低(3.85),金属溶出效果最佳.其中,Cd 的溶出率达 93.06%,Mn、Pb 和 Zn 的溶出率在 70%左右,Fe、Cr 和 Cu 的溶出率分别为 22%、33%和 47%.

(3) 经过生物淋滤处理后飞灰的 TCLP 毒性浸出结果表明,7 种重金属浸出浓度远低于国家危险废物鉴别标准和危险废物填埋污染控制标准,其中 Cd、Zn 和 Pb 的脱毒效果尤为明显.

(4) 飞灰浓度影响黑曲霉生长环境的 pH 值,从而改变黑曲霉代谢途经,导致菌体累积不同种类的有机酸.黑曲霉在不同生物淋滤条件中的代谢机理有待进一步研究.

参考文献:

[1] 张瑞娜,赵由才,许实. 生活垃圾焚烧飞灰的处理处置方法 [J]. 苏州科技学院学报(工程技术版),2003,16(1):22-29.

[2] 黄本生,刘清才,王里奥. 垃圾焚烧飞灰综合利用研究进展 [J]. 环境污染治理技术与设备,2003,4(9):12-15.

[3] Bosshard P P, Bachofen R, Brandl H. Metal Leaching of Fly Ash from Municipal Waste Incineration by *Aspergillus niger* [J]. Environ Sci Technol, 1996, 30(10): 3066-3070.

[4] Karaffa L, Kubicek C P. *Aspergillus niger* citric acid accumulation: do we understand this well working black box? [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2003, 61(3): 189-196.

[5] Kim J W, Barrington S, Sheppard J, *et al.* Nutrient optimization for the production of citric acid by *Aspergillus niger* NRRL 567 grown on peat moss enriched with glucose [J]. Process Biochem, 41(6): 1253-1260.

[6] Ruijter G J G, Van de Vondervoort P J I, Visser J. Oxalic acid production by *Aspergillus niger* an oxalate-non-producing mutant produces citric acid at pH 5 and in the presence of manganese [J]. Microbiology, 1999, 145(9): 2569-2576.

[7] Singh O V, Jain R K, Singh R P. Gluconic acid production under varying fermentation conditions by *Aspergillus niger* [J]. J Chem Technol Biotechnol, 2003, 78(2-3): 208-212.

[8] Znad H, Markoš J, Baleš V. Production of gluconic acid from glucose by *Aspergillus niger* growth and non-growth conditions [J]. Process Biochem, 2004, 39(11): 1341-1345.

[9] Mulligan C N, Kamali M, Gibbs B F. Bioleaching of heavy metals from a low-grade mining ore using *Aspergillus niger* [J]. J Hazard Mater, 2004, 110(1-3): 77-84.

[10] Mulligan C N, Cloutier R G. Bioleaching of copper mining residues by *Aspergillus niger* [J]. Water Sci Technol, 2000, 41(12): 255-262.

[11] Castro I M, Fietto J L R, Vieira R X, *et al.* Bioleaching of zinc and nickel from silicates using *Aspergillus niger* cultures [J]. Hydrometallurgy, 2000, 57(1): 39-49.

[12] USEPA-SW846 3050B, Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils[S].

[13] USEPA-SW846 Method 1311, Toxicity Characteristic Leaching Procedure[S].

[14] Wu H Y, Ting Y P. Metal extraction from municipal solid waste (MSW) incinerator fly ash-Chemical leaching and fungal bioleaching [J]. Enzyme Microb Technol, 2006, 38(6): 839-847.

[15] GB 5085.3-1996,危险废物鉴别标准 浸出毒性鉴别[S].

[16] GB 18598-2001,危险废物填埋污染控制标准[S].