

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

以硫氧化菌淋溶二仁溪底泥重金屬之研究(II): 溫度之影響

Bioleaching of heavy metals from contaminated
sediments of the Ell-Ren river using sulfur-oxidizing
bacteria: effects of temperature

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 89 - 2313 - B - 041 - 013 -

執行期間：89年08月01日至90年07月31日

計畫主持人：余光昌

執行單位：嘉南藥理科技大學環境工程衛生系

中華民國九十年九月二十五日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

以硫氧化菌淋溶二仁溪底泥重金屬之研究(II): 溫度之影響

Bioleaching of heavy metals from contaminated sediments of the Ell-Ren river using sulfur-oxidizing bacteria: effects of temperature

計畫編號：NSC 89-2313-B-041-013

執行期限：89年8月1日至90年7月31日

主持人：余光昌 嘉南藥理科技大學環境工程衛生系

共同主持人：何先聰 嘉南藥理科技大學工業安全衛生系

共同主持人：陳淑芬 嘉南藥理科技大學保健營養系

一、中文摘要

二仁溪下游河段為台灣南部地區污染最嚴重之河段之一，其底泥中更富含歷年來累積而成之高濃度重金屬。過去幾年，本研究群已針對二仁溪各河段底泥各層深度中重金屬之鍵結形態及含量分佈進行研究，並以化學萃取方式 - 酸化及螯合劑萃取法來探討底泥中重金屬釋出之可能性。本研究主要探討溫度的變化對由二仁溪底泥所馴養出之原生硫氧化菌，在進行底泥中重金屬生物淋溶效果之影響。結果顯示，在中溫條件(37)下，底泥溶液 pH 值下降得比在低溫條件(25)及高溫條件(55)之下多。此外，由高溫條件與不植種條件下之生物淋溶 pH 值下降效果幾乎相近時，可發現在 55 之下，硫氧化菌應無法適應生存。因此，由此結果應可說明，二仁溪底泥所馴養出之原生硫氧化菌應為中溫菌。此外，由重金屬生物淋溶之效果可發現，Pb 及 Co 的溶出效果比其他重金屬(Ni, Zn, Cr 及 Cu)差。在溫度變化的影響上，可看出中溫時重金屬的溶出效果最好，室溫時溶出效果稍差，而高溫時之溶出效果則明顯較差。在重金屬鍵結型態之變化上，也可看出，在淋溶前後重金屬與底泥之鍵結有部份移轉之現象(transformation)，大多移轉至與錳氧化物化物鍵結。

關鍵詞：重金屬、底泥、生物淋溶、硫氧化菌、溫度效應、逐步萃取法

Abstract

Lower section of the Ell-Ren river, locates in area of Tainan, has been heavily polluted with heavy metals. The spatial distribution of heavy metal binding forms in the sediments of the Ell-Ren river as well as their remobility were explored by our group in past. In addition, chemical extraction method, including acidifying and chelating methods, had been used to remobilize heavy metals from the Ell-Ren river sediments by our group. High cost of dosage was the obstacle in the practical applicability of chemical extraction methods. Therefore, the aim of this study wish to remobilize heavy metals from dredged sediments of the Ell-Ren river by using bio-leaching method within the following three years. The bioleaching method proceed with indigenous sulfur

oxidizing bacteria originated from the Ell-Ren river sediments to oxidize the reduced sulfur or added sulfur to form sulfuric acid. Then, the increasing acid enables the remobilization of heavy metal from the sediments. The study of this year is to realize the effects of temperature on the remobilization of heavy metals from the sediments. Experimental conditions of temperature were controlled at 25 , 37 and 55 . Results indicates that the indigenous sulfur-oxidizing bacteria in sediment seemed to have high oxidizing capacity at 37 than at other temperature to transfer sulfide to sulfate and release protons to decrease the pH of sediment solution. The order of pH decreasing affect by incubating temperature is as follows: 37 > 25 > 55 . It can be noted that the indigenous sulfur-oxidizing bacteria in sediment might be killed at the high-temperature environment (55) and showed nearly the same efficiency of the pH decreasing as in inoculum non-added test. Therefore, it can be concluded that the indigenous sulfur-oxidizing bacteria in sediments of the Ell-Ren river might be the meso-thermophilic bacteria. It also can be found that the remobilization effects of Pb and Co were remarkably less than those of other heavy metals. And, the remobilization of heavy metals from varying binding fractions under 37 were found more than that under 25 and 55 . In addition, transformation phenomena of a portion of heavy metals could be found among the binding fractions, mainly transferred to Mn-oxides fraction from other binding fractions after bioleaching processes.

Keywords: Heavy Metal, Sediment, Bioleaching, Sulfur Oxidizing Bacteria, Temperature Effect, Sequential Extraction Procedure

二、緣由與目的

在以往之研究中[1, 2, 3, 4, 5, 6], 生物淋溶的方法最早係發現在酸礦排水中，為一種自然發生之現象，其他地方也可發現此現象，如土壤酸化或污水管之冠

狀腐蝕皆導因於此。但生物淋溶也有正面之作用，例如從礦物質中溶出金屬，從硫礦中回收金屬以及工業廢棄物或廢水廢棄污泥中去除重金屬等。

生物淋溶之原理可由下列反應式來說明：

direct mechanism



leaching bacteria :

Thiobacillus(T.) ferrooxidans

T. thiooxidans

T. prosperus

T. cuprinus

Leptospirillum ferrooxidans

藉此機制來溶出重金屬，需時較長。

indirect mechanism



(2)式及(3)式反應係循環反應，持續地溶出重金屬。此二反應中係加入 FeSO_4 做為基質，在 pH 值酸性(溶礦：pH 2.3；溶污泥：pH 4.0)下，以鐵氧化菌進行生物淋溶作用。而(4)式則加入硫粉做為基質，以硫氧化菌進行生物淋溶，且無需調整 pH 值。

硫氧化菌在應用上除了 pH 值無需調整而節省費用外，尚有其他優點，包括：縮短反應時間(由 8-30 天左右降至 40 小時以下)；淋溶效果較佳；費用節省；操作上較容易；可在室溫下(20~30 °C)操作等等。

影響底泥或污泥進行生物淋溶之因素很多，包括下列各項：

1. 底泥(或污泥)特性

2. 底泥(或污泥)之起始 pH 值
3. 生物接種百分率
4. 反應停留時間
5. 基質添加率
6. 操作溫度
7. 底泥(或污泥)中 AVS 含量高低
8. 底泥(或污泥)中重金屬種類及其鍵結型態分佈
9. 營養質(N, P)之添加情形
10. 底泥(或污泥)氧化還原狀態

大部份之生物淋溶方法用在環保方面之研究，多著重於在廢水或生活污水(sewage)處理後，所產生之污泥的重金屬脫除處理，以便有利於後續掩埋之處置。

而關於河川底泥利用生物淋溶方法來除去重金屬之研究較為缺乏，僅有 Seidel H. 等(1997)，利用德國萊比錫當地馴養之硫氧化菌來進行研究。其結果發現，剛疏浚起來之厭氧性底泥，生物淋溶效果不佳，若將其久置一段時間，形成的好氧狀態，就可以有較高之效率。因此，以生物淋溶法脫除河川污染底泥重金屬之研究，急待加強，以便提出更好之菌種及最佳之操作條件。以生物淋溶方法處理工業廢水或生活污水污泥時，一般 Cd、Cu、Zn 溶出效率較高，Ni 次之，對 Pb 及 Cr 溶出效率最差。因此，河川底泥中 Pb、Cr 溶出效率能否提高，也是本研究之重點。

本研究之目的，乃欲以對污水廠廢棄污泥淋溶效果較好之硫氧化菌在不同溫度之下針對二仁溪下游河段之底泥進行生物溶出重金屬試驗。硫氧化菌將由二仁溪底泥中馴養出當地原生菌種。而生物淋溶試驗將同時探討溫度對重金屬(Cu, Zn, Co, Ni, Cr, Pb)自底泥溶出之效率以及對底泥中各鍵結態重金屬含量溶出之影響。

三、研究方法

本研究方法可分為下列各項：

1. 底泥樣品的採集

本研究將在二仁溪下游污染河段以 Ekman-Birge 採泥器採取泥樣，取 0~10cm 泥樣混合均勻，以供生物淋溶試驗用。混合泥樣將以冰盒冷藏攜回實驗室，先測其含水率，假密度後，一部分底泥在手套箱內缺氧風乾。風乾後先將

硬塊搗碎，再以 2mm 細篩去除粗顆粒 (dp> 2mm)，混合均勻後放入乾燥器中等待測定其物化特性，而其他混合泥樣則供硫氧化菌馴養及生物淋溶試驗用。

2. 底泥顆粒之物化特性分析

(1) 分析顆粒中之鍵結相成分 (如 Mn-oxides 及 Fe₂O₃ 等) 之含量。

(2) 以 Walkley-Black method 測定顆粒中有機物含量。

(3) 以 approximate gravimetric method 測定顆粒中碳酸鹽含量。

3. 硫氧化菌之馴養

取 8.0g 二仁溪底泥(濕重)放入 250mL 培養基中進行硫氧化菌之馴養。每一試程結束後，取上澄液 5 mL，放入含 250mL 培養基及 8.0g 二仁溪底泥(濕重)之錐形瓶中繼續馴養(subculturing)。培養基之組成為：

Na₂S₂O₃ · 5H₂O 10g/L; NH₄Cl 1g/L
KH₂PO₄ 1g/L; MgCl₂ · H₂O 0.5g/L

4. 生物淋溶試驗

生物淋溶試驗之進行，係每一試程取 8.0g 二仁溪底泥(濕重)，放入錐形瓶中，再加入控制量之基質及 5mL 之已馴養菌種，然後再以純水稀釋至 250mL。接著，將錐形瓶放入恆溫培養箱中，在控制之不同溫度(25 °C ; 37 °C ; 55 °C) 下及 120 rev/min 攪動速度下培養，每 2 至 3 日取出 5mL 樣品，經 10000g，10min 之離心後，上澄液則供 pH、氧化還原電位(ORP)、硫酸鹽含量及重金屬(Cu, Zn, Co, Pb, Cr 及 Ni) 含量之分析，以觀察其變化。殘餘泥樣則分析重金屬各鍵結型態之分佈。

5. 以逐步萃取法(SEP)分析

底泥中重金屬各鍵結型態之分佈以 Tessier 之方法[7]分析。五種鍵結型態，包括 exchangeable, bound to carbonates, bound to Mn-oxides, bound to Fe-oxides, bound to organic matters 之含量總合稱為重金屬總可萃取量(Total Extractable Heavy Metals, TEHM)。

四、結果與討論

1. 底泥之特性分析

二仁溪底泥中重金屬總可萃取量如

Table 1 所示，Zn 含量最高達 1241.5 mg/kg，Cu 含量次之達 1087.9mg/kg，Co 含量較少僅 5.7mg/kg。

底泥中各鍵結相之化學組成重量比如 Table 2 所示，含水率為 44.6%，碳酸鹽含量較高達 10.35%，鐵氧化物及有機物含量次之，分別為 2.52 及 2.92%。錳氧化物含量較少僅 0.12%。

底泥中重金屬各鍵結型態之分佈如 Table 3 所示，Ni 主要與鐵氧化物及碳酸鹽鍵結，分別佔其 TEHM 之 40.9 及 30.8%；Zn 主要與鐵氧化物鍵結(佔其 TEHM 之 61.2%)，其次為與有機物鍵結(佔其 TEHM 之 37.1%)；Co 與鐵氧化物、碳酸鹽及有機物之鍵結量相近，分別佔其 TEHM 之 33.4、28.6 及 34.4%；Cu 絕大多數與有機物鍵結(佔其 TEHM 之 97.7%)；Pb 與碳酸鹽、鐵氧化物及有機物之鍵結量也很相近，分別佔其 TEHM 之 32.4、36.5 及 29.2%；而 Cr 則主要與鐵氧化物鍵結(佔其 TEHM 之 71.6%)。

2. 溫度變化對 pH、ORP 及硫酸鹽變化之影響

溫度變化對 pH、ORP 及硫酸鹽變化之影響的結果如 Figs 1-3 所示。結果顯示，在中溫條件(37 °C) 下，底泥溶液 pH 值下降得比在低溫條件(25 °C) 及高溫條件(55 °C) 之下多。此外，我們也發現在高溫且有植種之條件與在室溫而又不植種之條件下之生物淋溶 pH 值下降效果幾乎相近時，可判斷在 55 °C 之下，硫氧化菌應無法適應高溫以生存。此外，由此結果應可說明，二仁溪底泥所馴養出之原生硫氧化菌應為中溫菌。另兩個硫氧化菌生物淋溶效果的指標，氧化還原電位(ORP)及硫酸鹽含量，也是在中溫條件(37 °C) 下最高。當淋溶 7 天後，37 °C 這一組即逐漸拉大與其他兩組之差距。最後，37 °C 這一組的 ORP 為 +600mV 左右，硫酸鹽含量為 18000mg/L 左右。由此可顯示，在中溫條件(37 °C) 下，還原性硫被氧化為硫酸鹽之反應最為激烈且快速，因而促進 pH 值下降及重金屬的溶出。

3. 溫度變化對淋溶前後各種重金屬鍵結

型態變化之影響

溫度變化對淋溶前後各種重金屬鍵結型態變化影響之結果如 Fig. 4 所示。結果顯示, Pb 及 Co 的溶出效果比其他重金屬 (Ni, Zn, Cr 及 Cu) 差。在溫度變化的影響上, 由 Fig. 4 可看出中溫時重金屬的溶出效果最好, 室溫時溶出效果稍差, 而高溫時之溶出效果則明顯較差。在重金屬鍵結型態之變化上, 由 Fig. 4 也可看出, 在淋溶前後重金屬與底泥之鍵結有部份移轉之現象(transformation)。Pb 在淋溶前, 主要與碳酸鹽、鐵氧化物及有機物鍵結, 但淋溶後, 則主要與錳氧化物化物鍵結, 尤其在高溫時因溶出量少, 殘餘鍵結量特別高(約 135mg/kg 乾泥)。這種現象也明顯出現在 Cu 的鍵結型態變化上。Cu 在淋溶前, 主要與有機物鍵結(約 1000 mg/kg 乾泥), 淋溶後與有機物鍵結量明顯降低(高溫之下剩為 300 mg/kg 乾泥左右; 中溫剩為 5 mg/kg 乾泥左右; 室溫剩為 13 mg/kg 乾泥左右)。但是, 淋溶後與錳氧化物化物鍵結量卻明顯增加, 特別是高溫條件下(約 200 mg/kg 乾泥)。Zn 在高溫條件下, 淋溶後也有明顯移轉現象發生。由淋溶前與鐵氧化物及有機物大量鍵結, 部份移轉至淋溶後與錳氧化物化物鍵結。此外, Ni, Co 及 Cr 也有淋溶後部份移轉至與錳氧化物化物鍵結之現象發生。

五、參考文獻

- Seidel H., Ondrusch Ka. J., Morgenstern P. and Stottmeister U., 1997, Bioremediation of Heavy Metals from Contaminated Aquatic Sediments Using Indigenous Sulfur-Oxidizing Bacteria: A Feasibility Study, International Conference on Contaminated Sediments, preprints, Vol. I, pp. 420-427.
- Tyagi R. D., Blais J. F., Auclair J. C. and Meunier N., 1993, Bacterial leaching of Toxic Metals from Municipal Sludge: Influence of Sludge Characteristics, *Wat. Env. Res.*, Vol. 65, No. 3, pp. 196-204.
- Blais J. F., Tyagi R. D., Auclair J.C. and Lavoie M. C., 1992, Indicator Bacteria Reduction in Sewage Sludge by a Metal Bioremediation Process, *Wat. Res.*, Vol. 26, No. 4, pp. 487-495.
- Couillard D. and Chartier M., 1991, Removal of Metals from Aerobic Sludges by Biological Solubilization in Batch Reactors, *J. Biotechnology*, Vol. 20, pp. 163-180.
- Blais J. F., Tyagi R. D., Auclair J. C., 1992, Bioremediation of Metals from Sewage Sludge by Sulfur-Oxidizing Bacteria, *J. Envir. Engrg.*, Vol. 118, No.5, pp. 690-707.
- Blais J. F., Tyagi R. D., Auclair J. C. and Huang C.P., 1992, Comparison of Acid and Microbial Leaching for metal Removal from Municipal Sludge, *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 26, No.1-2 pp. 197-206.
- Tessier A., Rapin F. and Carignan R. (1985) Trace metals in oxic lake sediments: possible adsorption onto iron oxyhydroxides.

Geochim. Cosmochim. Acta, Vol. 47, pp. 1091-1098.

Table 1 Total extractable heavy metals (TEHM) in the sediments.

Ni (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Co (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Cr (mg/kg)
198.7	1241.5	5.7	1087.9	373.6	336.8

Table 2. Characteristics of the sediments.

Water content (%)	Carbonates (% as CaCO ₃)	Fe-oxides (% as Fe ₂ O ₃)	Mn-oxides (% as MnO ₂)	Organic matters (%)
44.6	10.35	2.52	0.12	2.92

Table 3. Binding fractions of heavy metals in raw sediment

Metal	Exchange-able (%)	Bound to Carbonates (%)	Bound to Mn-oxides (%)	Bound to Fe-oxides (%)	Bound to organics (%)
Ni	6.1	30.8	5.9	40.9	16.3
Zn	0.0	0.3	1.4	61.2	37.1
Co	2.1	28.6	1.5	33.4	34.4
Cu	0.8	1.1	0.0	0.4	97.7
Pb	0.9	32.4	0.9	36.5	29.2
Cr	0.0	9.6	0.3	71.6	18.4

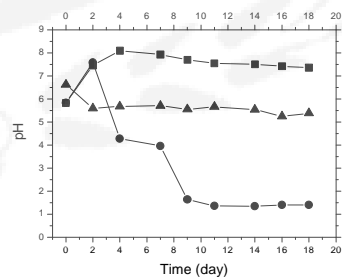


Fig. 1 Temperature effects on the bioleaching.

(:37 ; :25 ; :55)

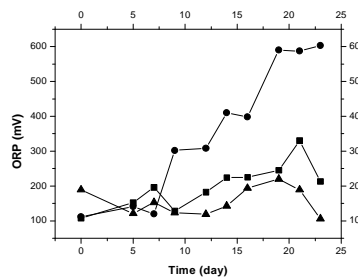


Fig. 2 ORP variation in the bioleaching.

(:37 ; :25 ; :55)

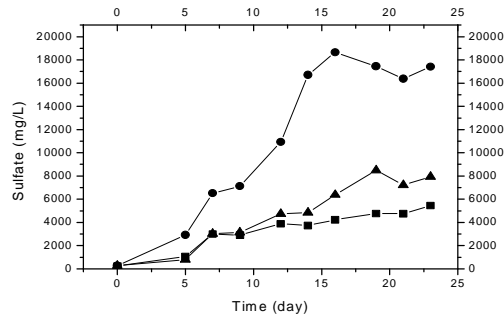


Fig. 3 Sulfates variations in the bioleaching.
 (:37 ; :25 ; :55)

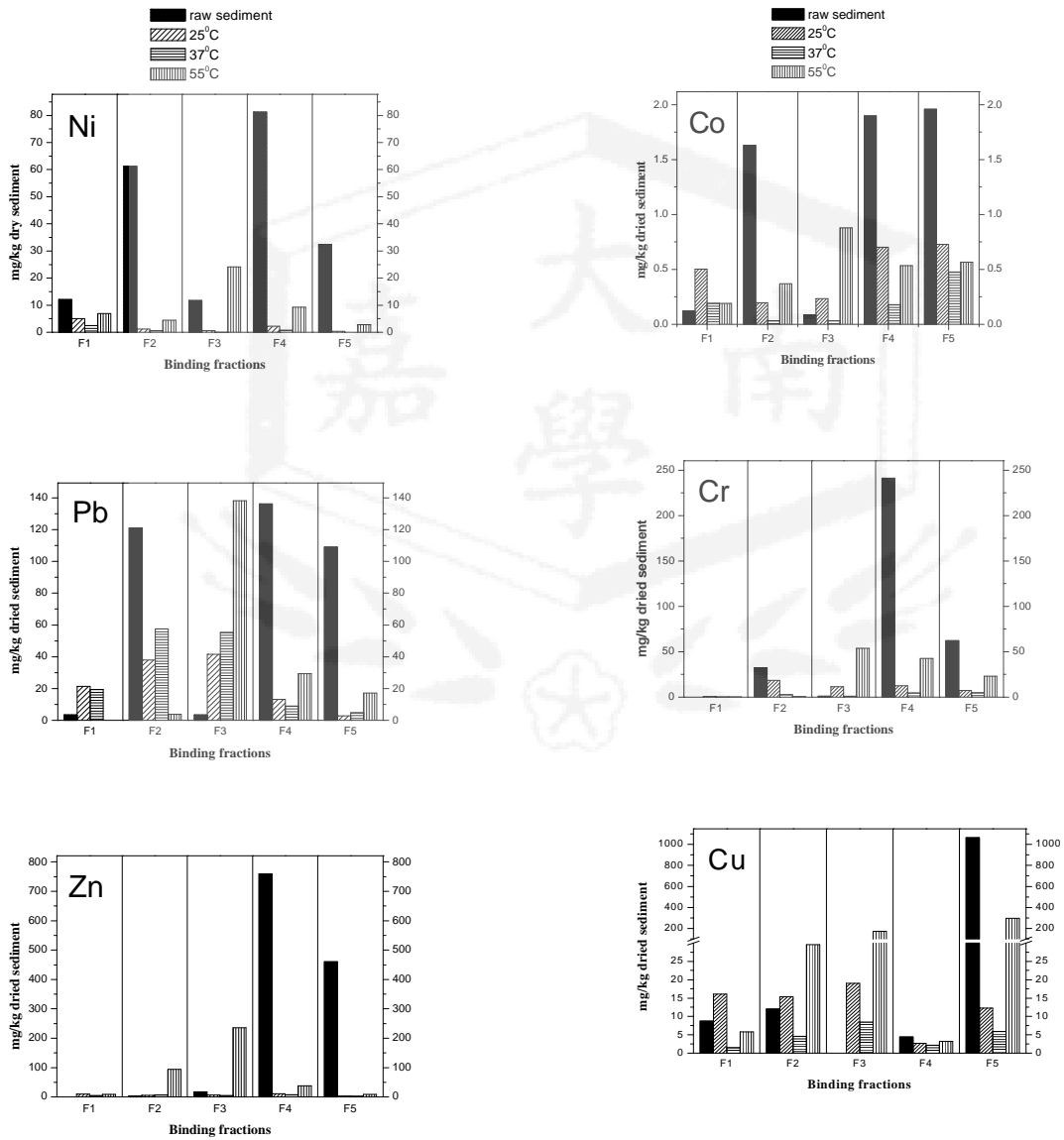


Fig. 4 Binding fractions of heavy metals before and after bioleaching processes controlled at varying temperature. (F1: exchangeable; F2: bound to carbonates; F3: bound to Mn-oxides; F4: bound to Fe-oxides; F5: bound to organics)