

嗜酸氧化亚铁硫杆菌浸取 印刷线路板中铜的多点添加策略

梁国斌, 刘维平, 唐江宏

(江苏理工学院 化学与环境工程学院, 江苏 常州 213001)

摘要: 考察了嗜酸氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*)对废弃印刷电路板(PCBs)中铜回收的影响。由于 PCBs 添加时间和浓度显著影响菌体生长及铜浸取率,因而通过多点添加 PCBs 的策略促进铜浸取并减少对细胞生长的抑制。结果表明,PCBs 添加量为 18 g/L(4 g/L 于 48 h, 6 g/L 于 96 h 和 8 g/L 于 144 h)时,经过 240 h 培养,铜浸取率达 80%,说明该策略有效和可行。

关键词: 铜浸取; 印刷电路板; 嗜酸氧化亚铁硫杆菌; 多点添加; 氧化还原势

中图分类号: Q939.97 **文献标志码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-476X.2013.05.004

Multiple point's addition strategy of leaching copper from wastes printed circuit boards with *Acidithiobacillus ferrooxidans*

LIANG Guo-bin, LIU Wei-ping, TANG Jiang-hong

(College of Chemistry and Environmental Engineering, Jiangsu University of Technology, Changzhou 213001, China)

Abstract: The effect of *Acidithiobacillus ferrooxidans* on copper recovery in wastes printed circuit boards (PCBs) was investigated. PCBs addition times and amounts adversely inhibited bacterial growth and thus lowered copper leaching capacity, therefore multiple point's addition strategy could improve leaching copper and reduce inhibition of cell growth. The results showed that when multiple PCBs additions 18 g/L (4 g/L at 48 h, 6 g/L at 96 h and 8 g/L at 144 h) were developed, copper extraction reached 80% after 240 h cultivation. The suggesting strategy of copper leaching from waste PCBs was feasible and effective.

Key words: leaching copper; printed circuit boards (PCBs); *Acidithiobacillus ferrooxidans*; multiple point's addition; redox potential

0 引言

随着科技进步和市场需求增加,电子产品更新换代的周期越来越短且生产量持续增大,由此产生的电子垃圾增长速度高达每年 22%^[1]。据统计我国家电的保有量超过 10 亿台^[2],而且国际上大量的电子垃圾正流入我国^[3]。作为电子产品主要部件的印

刷电路板(PCBs)中,除了含有塑料和难熔氧化物以外,还有大量金属,其含量高达 30% 左右^[4-5]。因此,对 PCBs 进行处理不仅是环境问题也是资源再生利用的前沿研究热点^[6]。目前传统的处理方法有火法回收、湿法回收和机械回收^[7-9],但都存在着不可避免的二次污染问题,难以达到无害化处理效果,且不能回收全部有价值金属^[10]。

收稿日期: 2013 - 09 - 03

基金项目: 江苏省高校自然科学基金项目(10KJB610002)

作者简介: 梁国斌(1975—),男,陕西省安康市人,江苏理工学院副教授,博士,主要研究方向为环境生物技术。

微生物浸取 PCBs 中的金属,工艺简单、操作方便、成本低,具有明显的环境友好性^[11],其关键技术已在生物冶金等领域有成熟的产业化应用^[12]。嗜酸氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*)是最常用于淋滤 PCBs 中金属的菌株^[13-14]。研究表明,PCBs 中金属浸出率与菌株生长状况密切相关^[15],PCBs 添加过程中会对菌株产生伤害作用^[16]。因而,优化 PCBs 添加方式对提高金属浸出率也至关重要。为此,本文拟系统考察 PCBs 添加时间和添加方式对菌体生长和铜浸取的影响,通过优化 PCBs 添加方式提高铜浸出率,以期为生物淋滤 PCBs 产业化提供理论依据和实践参考。

1 实验

1.1 主要试剂与仪器

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KCl , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 均为分析纯,国药集团上海化学试剂有限公司产;琼脂,分析纯,上海中科昆虫生物技术开发有限公司产;浓硫酸,磷酸,分析纯,天津市东丽区天大学试剂厂产;乙醇,分析纯,开封开化有限公司试剂厂产;考马斯亮蓝 G-250,超纯,牛血清白蛋白,生物试剂,Amresco 产。

AL204 型电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司产;YM-50L 型不锈钢立式电热蒸汽消毒器,上海三申医疗器械有限公司产;Phs-3C 型 pH 计,上海精密科学仪器有限公司产;HYG-II A 回转式恒温摇瓶柜,上海欣蕊自动化设备有限公司产;SPX-150B 生化培养箱,上海跃进医疗器械厂产;420-BS 型电热恒温培养箱,上海博泰实验设备有限公司产;XSP-8CA 型光学显微镜,上海光学五厂产;LG10-2.4A 型高速离心机,北京医用离心机厂产;HS-840-U 洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司产;CARY-50 型紫外分光光度计,American Varian Pty Ltd 产。

1.2 实验菌株

以常州市江边污水厂污泥为菌株来源,以二价铁(Fe^{2+})为能源物质,通过筛选分离获得嗜酸氧化亚铁硫杆菌,将其命名为(*A. ferrooxidans*-JSTU-02)。

1.3 培养基

嗜酸氧化亚铁硫杆菌(*A. ferrooxidans*-JSTU-02)采用 9K 培养基进行培养^[15]。

液体培养基组成: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为 3.0 g/L, K_2HPO_4 为 0.5 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 为 0.5 g/L, KCl

为 0.1 g/L, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 为 0.01 g/L, 调节 $\text{pH} = 1.5$, $121\text{ }^\circ\text{C}$ 灭菌 15 min, 冷却后加入经紫外灭菌 30 min 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (45 g/L)。

固体培养基:在上述液体培养基中加入质量体积百分比为 3% 的琼脂粉。

1.4 实验方法

1.4.1 PCBs 的来源和预处理 PCBs 从常州某电子产品店获得,运到实验室前没有经过物理或化学分离,PCBs 被压碎并且用研磨机研磨成 100 ~ 200 μm 筛度级的超细粉。

1.4.2 菌种的筛选分离及培养 将污泥分别接种到液体培养基上进行富集培养。待培养基变浑浊后,用梯度稀释法在相应固体培养基上进行涂布培养,并反复划线培养,直至相差显微镜下观察到菌体形态一致。由细菌的形态、生理生化特性以及基于 16S rRNA 基因序列同源性构建的系统发育树比较结果,鉴定该细菌为 *A. ferrooxidans*。

分批培养和种子培养时培养基组分相同,种子在旋转摇床中于 180 r/min 和 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下培养至对数期(菌体浓度 $\approx 1 \times 10^7$ 细胞/mL 时) $8\ 000$ r/min 离心 15 min,去上清液,细胞用酸性蒸馏水洗涤 2 次后于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中保存,备用。

1.4.3 耐金属菌株驯化 配制含 40 mmol/L, 80 mmol/L, 120 mmol/L, 160 mmol/L, 200 mmol/L Cu^{2+} 的 9K 培养基。首先将种子培养液按 10% (v/v) 接种至含 40 mmol/L Cu^{2+} 的 9K 培养基中培养至对数期,然后依次进行继代培养,直至转接到含 200 mmol/L Cu^{2+} 的新鲜培养基并培养至对数期,得到的湿菌体放冰箱保存,备用。驯化时培养温度 $30\text{ }^\circ\text{C}$, 摇床转速 200 r/min, 初始 $\text{pH} = 1.5$ 。

1.4.4 铜浸取实验 所有铜浸取实验在 250 mL 摇瓶中进行,其中含 50 mL 培养基,培养温度 $30\text{ }^\circ\text{C}$, 转速 200 r/min, 时间 240 h, 接种量 10 mL (*A. ferrooxidans* 浓度为 1.0×10^7 菌群单位/mL)。

对照实验:调节新鲜 9K 培养基(无菌)初始 $\text{pH} = 1.5$, 并加入不同浓度 PCBs (4 g/L, 6 g/L, 8 g/L, 10 g/L 和 12 g/L), 培养 240 h 后,测定溶液中铜含量。

PCBs 单点添加实验:将不同浓度 PCBs (4 g/L, 6 g/L, 8 g/L, 10 g/L 和 12 g/L) 在不同培养时间里 (0 h, 48 h, 96 h, 144 h 和 192 h) 一次性加入培养基中,培养 240 h 后,测定培养液中铜含量。

PCBs 多点添加实验:基于 PCBs 单点添加基础

上,进一步考察 PCBs 不同组合下多点添加对细胞生长和铜浸取率的影响。

1.4.5 菌体量的测定 将含有氧化亚铁硫杆菌的 50 mL 培养液在 8 000 r/min 离心 8 min,去上清液,称重记录质量,放入研钵,倒入液氮研磨至粉末状使菌体破碎,取出研磨后的菌体,加水定容至 50 mL,离心,取上清液。采用考马斯亮蓝法测定上清液中的蛋白质含量^[17]。由于蛋白质含菌体量的 10%,因此菌体量(g/L)用下式计算:菌体量 = 蛋白质质量/10%。

1.4.6 PCBs 中金属成分及培养液中铜测定 PCBs 中金属成分及含量测定:2.0 g PCBs 超细粉溶解于 100 mL 王水中,待溶液温度降至室温时,调整体积到 100 mL,原子分光光度法测定金属含量。

培养液中铜浓度测定:取 5 mL 浸取液,滤纸过滤以除去固体颗粒,8 000 r/min 离心 15 min 除去菌细胞,收集上层清液用作铜浓度测定。

2 结果与分析

2.1 PCBs 中金属成分与含量分析

本研究所选用 PCBs 中金属成分与含量测定结果主要是铜(14.6%),锌(5.6%),铅(3.1%),镍(2.4%),铝(1.4%)和铁(1.2%),及少量的贵金属(如金和银),以上金属占 PCBs 组成约 28%,其余主要是聚合物和陶瓷。可见,PCBs 中主要金属为铜,因而本文主要研究 *A. ferrooxidans* 浸取 PCBs 中的铜。

2.2 单点添加 PCBs 对细菌生长和铜浸取率的影响

单点添加 PCBs 时,*A. ferrooxidans* 菌体细胞生物量和铜淋滤效果见表 1。由表 1 可见,PCBs 添加量越高,对细胞生长的抑制越严重,进而导致铜浸取率越低。这说明 PCBs 粉末对细胞具有一定毒性,PCBs 添加量过高,会伤害细胞正常代谢而抑制细胞生长,不利于铜的浸取。同时,PCBs 添加时间也明显影响铜的浸取。*A. ferrooxidans* 培养初期(<48 h),菌体处于对数快速生长阶段,菌体浓度相对较低,此时加入 PCBs 会明显影响细胞生长;随着培养时间延长,菌体浓度增加达到静止期,PCBs 对细胞伤害下降,铜的浸取率则相应增加;培养后期(192 h)加入 PCBs,菌体活力下降及淋滤时间相对较短,导致铜浸取率也较低。总的来说,培养 48 h 添加 4 g/L PCBs,96 h 添加 6 g/L PCBs 及 144 h 添加 8 g/L

PCBs,细胞生长所受抑制程度较小,铜浸取率则较高。此外,对照实验表明,在无菌酸性 9K 培养基中加入不同浓度 PCBs 粉末,经过 240 h 淋滤后铜浸取效率很低。这说明铜淋滤率主要取决于微生物生长状况,与低酸化学法浸取关系不大。

表 1 单点添加 PCBs 对菌体生长和铜浸取率的影响

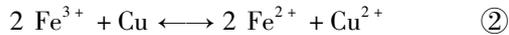
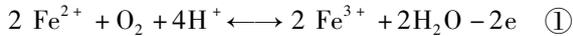
| PCBs / (g · L ⁻¹) | 添加时间 /h | 蛋白质浓度 / (mg · L ⁻¹) | 铜浸取率 /% |
|-------------------------------|---------|---------------------------------|-----------|
| 4 | 0(对照) | 0 | 15 ± 0.1 |
| | 0 | 39 ± 0.3 | 80 ± 0.2 |
| | 48 | 48 ± 0.2 | 87 ± 0.2 |
| | 96 | 55 ± 0.4 | 91 ± 0.2 |
| | 144 | 60 ± 0.4 | 94 ± 0.3 |
| | 192 | 62 ± 0.5 | 88 ± 0.2 |
| 6 | 0(对照) | 0 | 13 ± 0.1 |
| | 0 | 36 ± 0.2 | 78 ± 0.1 |
| | 48 | 45 ± 0.3 | 84 ± 0.2 |
| | 96 | 53 ± 0.3 | 87 ± 0.2 |
| | 144 | 58 ± 0.3 | 92 ± 0.3 |
| | 192 | 60 ± 0.4 | 84 ± 0.2 |
| 8 | 0(对照) | 0 | 10 ± 0.1 |
| | 0 | 32 ± 0.1 | 76 ± 0.1 |
| | 48 | 40 ± 0.2 | 82 ± 0.2 |
| | 96 | 47 ± 0.3 | 84 ± 0.2 |
| | 144 | 54 ± 0.3 | 89 ± 0.3 |
| | 192 | 59 ± 0.5 | 83 ± 0.2 |
| 10 | 0(对照) | 0 | 8.6 ± 0.1 |
| | 0 | 30 ± 0.1 | 70 ± 0.1 |
| | 48 | 37 ± 0.1 | 77 ± 0.1 |
| | 96 | 44 ± 0.2 | 80 ± 0.2 |
| | 144 | 51 ± 0.3 | 84 ± 0.2 |
| | 192 | 57 ± 0.4 | 77 ± 0.1 |
| 12 | 0(对照) | 0 | 7.4 ± 0.1 |
| | 0 | 27 ± 0.1 | 66 ± 0.1 |
| | 48 | 35 ± 0.1 | 72 ± 0.1 |
| | 96 | 41 ± 0.1 | 75 ± 0.2 |
| | 144 | 49 ± 0.2 | 79 ± 0.3 |
| | 192 | 56 ± 0.3 | 70 ± 0.1 |

2.3 多点添加 PCBs 对细菌生长和铜浸取率的影响

在单点添加基础上,考察多点添加 PCBs 对细胞生长和铜浸取的影响,结果见表 2。由表 2 可见,与 2 点添加相比,尽管 3 点添加(48 h 添加 4 g/L PCBs,96 h 添加 6 g/L PCBs 和 144 h 添加 8 g/L PCBs)的铜浸取率略有降低,但其 PCBs 添加量明显增加。因而,综合考虑 PCBs 添加量和铜浸取率,选

取3点添加方式效果更佳。

研究表明, *A. ferrooxidans* 主要通过间接方式生物浸取电子废弃物中的金属。首先, 菌体中 Fe^{2+} 被氧化为 Fe^{3+} 的过程中会释放电子, *A. ferrooxidans* 利用这些电子产生的能量进行生长代谢; Fe^{3+} 氧化 PCBs 中的金属 Cu 为 Cu^{2+} , 同时 Fe^{3+} 被还原为 Fe^{2+} , 又进一步促进细胞生长, 反应如下:



采用菌体生长前期添加低浓度 PCBs 和生长后期添加高浓度 PCBs 的多点添加方式, 一方面, 菌体生长所受抑制程度最小, 同时 Fe^{3+} 连续氧化 PCBs 中的金属 Cu 为可溶性 Cu^{2+} , 这样形成一个循环, 既保证了菌体生长, 也保证了 PCBs 中铜的浸取率。

表2 多点添加 PCBs 对菌体生长和铜浸取率的影响

| 试验号 | PCBs ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) | | | 蛋白质浓度 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) | 铜浸取率 / % |
|-----|---|------|-------|---|--------------|
| | 48 h | 96 h | 144 h | | |
| 1 | 4 | 6 | 0 | 45 ± 0.2 | 83 ± 0.2 |
| 2 | 4 | 0 | 8 | 46 ± 0.2 | 85 ± 0.3 |
| 3 | 0 | 6 | 8 | 50 ± 0.2 | 84 ± 0.3 |
| 4 | 4 | 6 | 8 | 43 ± 0.2 | 80 ± 0.2 |

2.4 *A. ferrooxidans* 浸取 PCBs 时淋滤液 pH 值和氧化还原电势动态变化

由于 *A. ferrooxidans* 需要在强酸环境下生长代谢, 同时 PCBs 粉末中的铜浸取前须在强酸环境下将其溶解; 此外, 细菌浸取 PCBs 中铜的能力与淋滤液中氧化还原势密切相关, 因而本研究在多点 PCBs 添加基础上, 进一步测定淋滤过程中培养液 pH 值和氧化还原势的动态变化情况, 结果如图 1, 图 2 所示。由图 1 可见, 培养液初始 $\text{pH} = 1.5$, 当 48 h, 96 h 和 144 h 加入 PCBs 时, 淋滤液 pH 值相应增大, 之后随着淋滤进行, pH 呈下降趋势, 表明 PCBs 中含有碱性成分而直接导致淋滤液 pH 升高。由图 2 可知, PCBs 加入之前 ($< 48 \text{ h}$), 由于 Fe^{2+} 不断被氧化为 Fe^{3+} , 期间菌体也快速增长, 进一步使 Fe^{3+} 生成速度加快, $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 比增加, 培养液氧化还原电势不断上升。然而, 当 48 h, 96 h 和 144 h 加入 PCBs 后, Fe^{3+} 被快速用于氧化 PCBs 中的金属铜, 使得 Fe^{3+} 浓度下降, Fe^{2+} 浓度上升, $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 比下降, 导致淋滤液氧化还原势降低。由于 Fe^{2+} 会进一步氧化形成 Fe^{3+} , 淋滤后期 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 比维持相对恒定水平, 确保了菌体生长和 PCBs 中铜的浸取。

总之, 对于 *A. ferrooxidans* 生物法浸取 PCBs 中铜而言, 随着 PCBs 添加和淋滤进行, 淋滤液的 pH 值相应上升, 进而影响菌体生长和 PCBs 粉末溶解, 同时氧化还原电势下降也会造成铜浸取能力下降。有研究表明, 生物浸取 PCBs 中铜的另一种常用菌嗜酸氧化硫硫杆菌 (*Acidithiobacillus thiooxidans*) 以单质硫为能源物质进行生长代谢, 同时将其氧化为硫酸 (H_2SO_4), 使培养液的 pH 始终维持在较低水平。因而未来重点将考察 *A. thiooxidans* 和 *A. ferrooxidans* 混合培养来提高 PCBs 中铜的浸取率。

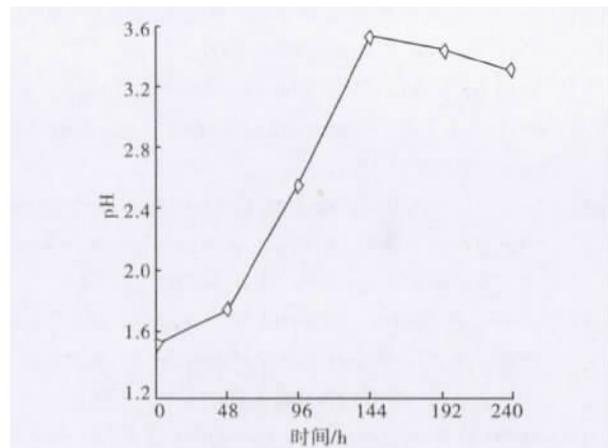


图1 *A. ferrooxidans* 浸取 PCBs 时淋滤液 pH 值变化

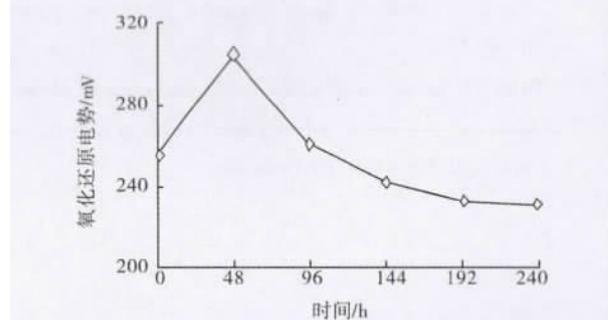


图2 *A. ferrooxidans* 浸取 PCBs 时淋滤液氧化还原电势动态变化

3 结论

本文考察了 *A. ferrooxidans* 生物法浸取 PCBs 中铜时, PCBs 添加方式对菌体生长和铜浸取率的影响。结果表明, PCBs 添加时间和添加量均明显影响菌体生长和铜的浸取, 培养初期和后期不适宜进行 PCBs 中铜浸取。采用培养前期添加低浓度和对数期添加高浓度 PCBs 的多点添加策略, 添加量 18 g/L

(4 g/L于48 h, 6 g/L于96 h和8 g/L于144 h),可减少对菌体生长抑制同时又促进铜的浸取.此外,PCBs添加会导致培养液pH升高和氧化还原电势下降.通过混合菌培养可能是解决问题的一个主要途径.

参考文献:

- [1] Ni H G, Zeng E. Law enforcement and global collaboration are the keys to containing e-waste tsunami in China [J]. *Environmental Science Technology* 2009, 43:3991.
- [2] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴(2009) [M]. 北京: 中国统计出版社, 2009.
- [3] Windmer R, Krapf D S, Khetriwal M. Global perspectives on e-waste [J]. *Environmental Impact Assessment Review* 2005(25):436.
- [4] Lee J C, Song H T, Yoo J M. Present status of the recycling of waste electrical and electronic equipment in Korea [J]. *Resource Conservation Recycle* 2007, 50:380.
- [5] Ludwig C, Hellweg S, Stucki S. Municipal Solid Waste Management: Strategies and Technologies for Sustainable Solutions [M]. Berlin: Springer, 2003:320-322.
- [6] Robinson B H. E-waste: an assessment of global production and environmental impacts [J]. *Science Total Environment* 2009, 408:183.
- [7] Shuey S A, Taylor P. Review of pyrometallurgical pre-treatment of electronic scrap [J]. *Mining Engineering*, 2005(4):67.
- [8] Menad N, Björkman B, Allain E G. Combustion of plastics contained in electric and electronic scrap [J]. *Resource Conservation Recycle*, 1998, 24:65.
- [9] Veit H M, Pereira C C, Bernardes A M. Using mechanical processing in recycling printed wiring boards [J]. *JOM*, 2002, 54:45.
- [10] Tsydenova O, Bengtsson M. Chemical hazards associated with treatment of waste electrical and electronic equipment [J]. *Waste Manage* 2011, 31:45.
- [11] Cui J R, Zhang L F. Metallurgical recovery of metals from electronic waste: a review [J]. *J Hazard Mater* 2008, 158:228.
- [12] Zhou H B, Zeng W M, Yang Z F, et al. Bioleaching of chalcopyrite concentrate by a moderately thermophilic culture in a stirred tank reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100:515.
- [13] Kim D J, Ralph D E, Ahn J G, et al. Bioleaching of metals from spent lithium ion secondary batteries using *Acidithiobacillus ferrooxidans* [J]. *Waste Manage* 2008, 28:333.
- [14] 赵伟, 陈晨, 王玉光, 等. *Acidithiobacillus thiooxidans* 浸出印刷线路板中金属的研究 [J]. *西南大学学报: 自然科学版* 2010, 32(11):158.
- [15] Wang J W, Bai J F, Xu J Q, et al. Bioleaching of metals from printed wire boards by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* and their mixture [J]. *Journal of Hazardous Materials* 2009, 172:1100.
- [16] Sadia I, Munir A A, Shahida B N, et al. Bioleaching of metals from electronic scrap by moderately thermophilic acidophilic bacteria [J]. *Hydrometallurgy* 2007, 88:180.
- [17] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72:248.